

UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**Aportaciones al tratamiento de diarreas crónicas
inespecíficas en el perro: Estudio del perfil
farmacocinético de infliximab, tilosina y
transferencia de microbiota fecal**

**D. Ignacio Martínez Robles
2022**



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Aportaciones al tratamiento de diarreas crónicas inespecíficas en el perro: Estudio del perfil farmacocinético de infliximab, tilosina y transferencia de microbiota fecal.



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

D. Emilio Fernández Varón, Catedrático de Universidad del Departamento de Farmacología de la Universidad de Granada, AUTORIZA:

La presentación de las Tesis Doctoral titulada: "**Comparación de dos métodos para la cuantificación de acilcarnitinas mediante espectrometría de masas en tándem en muestras de sangre impregnadas en papel para el diagnóstico de los defectos de la β -oxidación mitocondrial de los ácidos grasos**", realizada por D. José María Egea Mellado, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia a 8 de mayo de 2022



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

D. IGNACIO AYALA DE LA PEÑA, Catedrático de Universidad, Doctor del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad de Murcia, AUTORIZA:

La presentación de las Tesis Doctoral titulada: "Aportaciones al tratamiento de diarreas crónicas inespecíficas en el perro: Estudio del perfil farmacocinético de infliximab, tilosina y transferencia de microbiota fecal", realizada por D. Ignacio Martínez Robles, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia a 10 de marzo de 2022

Fdo: Ignacio Ayala de la Peña

1.- INTRODUCCIÓN	5
1.1. Objetivos	10
2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
2.1.- Aplicaciones clínica de TMF	13
2.1.1.- Infección por <i>Clostridium difficile</i>	13
2.1.2.- Enfermedad intestinal inflamatoria	14
2.1.3.- Trastornos funcionales gastrointestinales	14
2.1.4.- Trastornos no gastrointestinales	16
2.1.5.- Posibles efectos secundarios del TMF	16
2.2.- Uso de la tilosina	18
2.2.1.- Tilosina	18
2.2.1.1.- Características físico-químicas	21
2.2.1.2.- Mecanismo de acción	22
2.2.1.3.- Espectro antibacteriano	23
2.2.1.4.- Resistencias bacterianas	25
2.2.1.5.- Indicaciones	26
2.2.1.6.- Posología y vías de administración	29
2.2.1.7.- Toxicidad y efectos adversos	31
2.2.1.8.- Interacciones medicamentosas	34
2.2.1.9.- Contraindicaciones	34
2.2.1.10.- Características farmacocinéticas	34
2.2.1.11.- Parámetros farmacocinéticos	38
2.3.- Uso del Infliximab	41
2.3.1.- Infliximab	43
2.3.1.1.- Estructura química	44
2.3.1.2.- Mecanismo de acción	49
2.3.1.3.- Indicaciones	50
2.3.1.4.- Posología y vía de administración	52
2.3.1.5.- Toxicidad y efectos adversos	54
2.3.1.6.- Contraindicaciones	55
2.3.1.7.- Interacciones	55
2.3.1.8.- Características farmacocinéticas	56
3.- MATERIALES Y MÉTODOS	59
	61

Índice

3.1.- Trasplante fecal	61
3.1.1.- Diseño experimental	66
3.1.2.- Selección de heces para el trasplante de microbiota fecal	66
3.1.3.- Protocolo transferencia de heces	67
3.2.- Estudio farmacocinético de tilosina e infliximab	67
3.2.1.- Animales	68
3.2.2.- Protocolo experimental con la tilosina	69
3.2.3.- Protocolo experimental con infliximab	70
3.2.4.- Técnicas analíticas con la tilosina	71
3.2.4.1.- Preparación de la muestra	71
3.2.4.2.- Cuantificación cromatográfica	71
3.2.4.3.- Validación de la técnica	73
3.2.5.- Técnicas analíticas con el infliximab	74
3.2.6.- Análisis farmacocinético	75
3.2.7.- Análisis clínicos	75
3.2.8.- Métodos estadísticos	77
3.2.9.- Material fungible	77
3.2.10.- Productos y reactivos	78
3.2.11.- Aparataje	79
3.2.12.- Software informático	79
3.3.- Medicamentos	81
4.-RESULTADOS	83
4.1.- Trasplante fecal	84
4.1.1.- Índice CIBDAI	85
4.1.2.- Índice de Wltham	86
4.1.3.- Peso	87
4.1.4.- Frecuencia de deposiciones	88
4.1.5.- Consistencia de las heces	89
4.1.6.- Apetito y salud	90
4.1.7.- Estado de las heces utilizadas para la realización del TMF	91
4.1.8.- Número de trasplantes realizados	94
4.2.- Tilosina	94
4.2.1.- Administración intravenosa	94
4.2.1.1.- Evolución de las concentraciones plasmáticas de tilosina	101
4.2.1.2.- Concentraciones en el compartimento periférico	102
4.2.1.3.- Evolución de las cantidades de tilosina en el organismo	105

4.2.2.- Administración oral de tilosina	111
4.3.- Infiximab	111
4.3.1.- Administración intravenosa de infiximab: Concentraciones plasmáticas	118
4.3.2.- Comparación de los ajustes compartimental y no compartimental	118
4.3.2.1.- Parámetros farmacocinéticos de infiximab	119
4.3.2.2.- Evolución de las concentraciones teóricas de infiximab	121
4.3.2.- Ajuste monocompartimental	121
4.3.2.1.- Concentraciones plasmáticas de infiximab	123
4.3.2.2.- Evolución de las cantidades de infiximab en el organismo	127
4.3.3.- Tolerancia de los perros al infiximab	137
5.- DISCUSIÓN	101
5.1.- Trasplante fecal	142
5.2.- Tilosina	142
5.2.1.- Administración intravenosa	142
5.2.1.1.- Modelo farmacocinético	143
5.2.1.2.- Constantes híbridas	143
5.2.1.3.- Microconstantes	145
5.2.1.4.- Semivida	145
5.2.1.5.- Tiempo medio de residencia	146
5.2.1.6.- Aclaramiento plasmático	146
5.2.1.7.- Volúmenes de distribución	147
5.2.2.- Administración oral de tilosina	147
5.2.2.1.- Modelo farmacocinético	148
5.2.3.- Parámetros farmacocinéticos	148
5.2.3.1.- Semivida	149
5.2.3.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	149
5.2.3.3.- Constante de absorción y semivida de absorción	150
5.2.3.4.- Biodisponibilidad	
5.2.3.5.- Tiempo medio de residencia y tiempo medio de residencia de absorción	150
5.2.4. Comparación de los parámetros farmacocinéticos de tilosina tras su administración intravenosa y oral	151
5.3.- Infiximab	154
5.3.1.- Administración intravenosa de infiximab: concentraciones plasmáticas	154
5.3.1.1.- Modelo farmacocinético	154
5.3.1.2.- Constante de eliminación y semivida	154
5.3.1.3.- Tiempo medio de residencia	155

Índice

5.3.1.4.- Aclaramiento plasmático	155
5.3.1.5.- Volúmenes de distribución	155
5.3.2.- Comparación de los ajustes compartimental y no compartimental	156
5.3.3.- Tolerancia d ellos perros al infliximab	157
5.- CONCLUSIONES	
6.- RESUMEN	160
7.- SUMMARY	163
8.- BIBLIOGRAFÍA	167
9.- ABREVIATURAS	171
	222

1. INTRODUCCIÓN

Introducción

Introducción

Los procesos diarreicos que afectan al perro, tanto agudos como crónicos, pueden conducir a estados graves y potencialmente mortales y pueden tener muchas causas, incluyendo agentes infecciosos, tales como bacterias, parásitos y virus, aparte de etiología metabólica, neoplásica, por causas físicas, etc. (Pinto *et al.*, 2012). Independientemente de la etiología, la detección temprana y el manejo de la enfermedad son importantes para disminuir las tasas de mortalidad, que pueden ser muy elevadas, especialmente en animales jóvenes (Spibey *et al.*, 2008).

El tracto gastrointestinal de los perros es colonizado por una inmensa población de microorganismos, denominado microbiota, que se compone de bacterias, arqueas, hongos, virus y protozoos (Suchodolski, 2016). La microbiota intestinal beneficia al anfitrión, de modo que actúa como una barrera de defensa contra enteropatógenos, además regula el sistema inmunológico, participa en la digestión de fibra, proporcionando soporte nutricional para los enterocitos y estimula la motilidad gastrointestinal (Karst, 2016; Sunvold *et al.*, 1995).

La disparidad en la etiología, la enorme inter-variabilidad en el curso de los distintos cuadros clínicos y la multitud de factores distintos que influyen en los procesos diarreicos en el perro hace que también las posibilidades terapéuticas sean amplias y diferentes entre sí (antibióticos, dieta, etc), además de ser un campo de investigación en pleno desarrollo actualmente.

Como en otros ámbitos de la medicina veterinaria, la transferencia de nuevas técnicas y tratamientos procedentes del ámbito de la medicina humana en las enfermedades del tracto gastrointestinal no tienen una aplicación y transferencia directa, sino que tienen que ser evaluadas de una forma rigurosa y siguiendo una metodología adecuada. Entre los tratamientos más utilizados en medicina humana para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal se encuentran la utilización de medicamentos inmunosupresores y antibióticos desde hace años. Sin embargo, más recientemente se ha incorporado con bastante éxito la utilización de anticuerpos monoclonales (infliximab, adalimumab) y el trasplante de microbiota fecal (TMF).

En el caso del TMF, debido a que las alteraciones de la microbiota se han asociado con diversas enfermedades gastrointestinales, se han desarrollado medidas para restaurar u optimizar dicha microbiota. Probióticos y prebióticos se han utilizado con éxito limitado y actualmente se está prestando mucha atención al TMF sobre la que nos vamos a centrar

Introducción

en este trabajo, de modo que suspensiones fecales de un donante sano se administran a un individuo enfermo, con el fin de restaurar la microbiota dañada.

En el caso de la utilización de antibióticos, la tilosina y el metronidazol están entre los antibióticos más utilizados en perros afectados de diarrea, y si bien son antibióticos con bastantes años de utilización en el mercado, aunque existen estudios en otras especies como son las aves (Abu-Basha Ehab et al, 2012); (Ji, L.W. *et al.*, 2013), los estudios farmacocinéticos de este antibiótico en el perro son muy escasos y antiguos (Van Kruiningen, 1978), por lo que es preciso tener datos fiables del perfil farmacocinético de la tilosina en el perro.

Por último, aunque la etiopatogenia de la enfermedad intestinal inflamatoria crónica (EII) no se conoce con exactitud actualmente. Según diversos estudios, la hipersensibilidad del tejido linfático intestinal a los antígenos intestinales contribuye de forma importante en la enfermedad, siendo uno de los factores responsables de la inflamación del tracto intestinal como resultado de la activación de linfocitos T auxiliares, linfocitos B y la producción de citocinas proinflamatorias (Mancho *et al.*, 2010; Jergens y Simpsons, 2012). Así, se han ido desarrollando terapias biológicas nuevas y más específicas que han demostrado ser más efectivas que otras terapias en uso (Travassos y Cheifetz, 2005). Dentro de estas nuevas terapias se incluyen los anticuerpos monoclonales, y dentro de los mismos el primero y que ha supuesto un importante avance en el tratamiento de la EII en humanos es el infliximab. Por tanto, existe la posibilidad de que este anticuerpo monoclonal sea también efectivo en perros en determinadas situaciones. Sin embargo, no existen hasta la fecha estudios farmacocinéticos de este fármaco en perros, y es necesario establecer el perfil cinético del mismo para garantizar un buen régimen de dosificación en caso de ser susceptible de utilización en esta especie.

En este estudio se pretende evaluar tres estrategias terapéuticas para la diarrea crónica o aguda intermitente en la especie canina desde distintos enfoques terapéuticos. En primer lugar, la evaluación de los efectos del TMF en una población de perros enfermos diagnosticados de enteropatía crónica – enfermedad intestinal inflamatoria crónica (EII), estudiando la respuesta clínica a dicha intervención terapéutica. En segundo lugar, el estudio farmacocinético en perros sanos de tilosina administrada por vía intravenosa y oral como antibiótico de amplia utilización en estas patologías y, finalmente, el estudio farmacocinético de un anticuerpo monoclonal (infliximab) vía intravenosa en perros sanos

Introducción

para establecer su perfil cinético y establecer el mejor régimen de dosificación y monitorización clínica.

Palabras Claves: tilosina, infliximab, farmacocinética, perros, transplante microbiota fecal

1.1. OBJETIVOS.

Objetivo Principal.

- ✓ Evaluar tres estrategias terapéuticas para la diarrea crónica o aguda intermitente en la especie canina desde distintos enfoques terapéuticos.

Objetivos secundarios.

- ✓ Protocolizar la obtención y administración del TMF en el perro, valorando si resulta válida la congelación del material a trasplantar, así como probar la administración mediante enema, la cantidad adecuada a transfundir, el uso o no de sedación y el empleo de agentes como la loperamida, que es un opioide, que puedan ayudar a la retención fecal de mayor duración en el animal.
- ✓ Comprobar la eficacia de la transferencia de microbiota en perros con diarreas inespecíficas crónicas/recurrentes. Valorar el efecto del TMF sobre la sintomatología clínica en perros afectados de enteropatías crónicas (más de 3 semanas) usando para ello índices objetivos como el CIBDAI (índice canino de enfermedad inflamatoria intestinal crónica) y el índice fecal Waltham, pero también teniendo en cuenta la opinión (subjetiva) del efecto del TMF sobre el animal a partir de la valoración personal del propietario.
- ✓ Estudiar las características farmacocinéticas de la tilosina, administrada por vía intravenosa y oral, con el fin de establecer un protocolo de administración seguro, con dosis adecuadas en el perro.
- ✓ Estudiar las características farmacocinéticas del infliximab, administrado en infusión intravenosa, y evaluar su toxicidad y seguridad de este medicamento con el fin de establecer un protocolo de administración seguro, y dosis adecuadas en el perro para un posible uso posterior en la EII canina.

2. REVISIÓN

Revisión bibliográfica

2.1. APLICACIONES CLÍNICAS DE TMF.

2.1.1. Infección por *Clostridium difficile*.

C. difficile fue identificado por primera vez en 1978 como la causa de la colitis pseudomembranosa en el hombre (Bartlett *et al.*, 1978). El primer ensayo controlado aleatorio de TMF se realizó para 43 pacientes con recurrente infección por *Clostridium difficile* (CDI), comparando el TMF administrado a través de tubo nasoduodenal después de 4 a 5 días de vancomicina oral, con 14 días de administración de vancomicina sola y con 14 días de vancomicina más lavado intestinal. Los síntomas se resolvieron dentro de los 3 meses en el 81% de los pacientes que recibieron TMF, en el 31% de los que recibieron vancomicina sola, y en el 23% de los pacientes que recibieron vancomicina más lavado intestinal. El estudio se terminó antes de tiempo porque TMF era más de dos veces más eficaz en la resolución de los síntomas que los antibióticos solos (Van Nood *et al.*, 2013).

La primera revisión sistemática publicada en 2011 incluyó 317 pacientes con CDI recurrente tratados con TMF en 27 casos e informes. Los síntomas se resolvieron en 92% de los pacientes, el 89% después de un solo tratamiento, y 5% después del retratamiento debido a un fallo o recaída (Gough *et al.*, 2011). Una reciente revisión sistemática publicada en 2015 incluyó dos ECA, 28 estudios de series de casos, y cinco informes de casos. Los resultados mostraron que el TMF tuvo éxito en el 85% de CDI recurrente y 55% del CDI refractario (Drekonja *et al.*, 2015).

Estudios recientes demostraron que el TMF usando un inóculo congelado procedente de donantes voluntarios de salud cuidadosamente seleccionados es eficaz para el tratamiento de CDI recurrente (Youngster *et al.*, 2014a); (Hamilton *et al.*, 2012). Los resultados de este enfoque fueron similares a los de TMF con heces frescas, lo que sugiere que la preparación de los trasplantes congelados puede simplificar los aspectos prácticos del TMF sin pérdida de eficacia. Un estudio más reciente de viabilidad utiliza cápsulas fecales congeladas, preparadas a partir de donantes sano preseleccionadas para el tratamiento de 20 pacientes con CDI recurrente. Los resultados mostraron una tasa de 90% en total de resolución clínica de diarrea después de uno o dos de tratamientos (Youngster *et al.*, 2014b).

Se sospecha que *Clostridium perfringens* es un enteropatógeno en perros, sin embargo, en un estudio se demostró que la presencia de la enterotoxina de *C. perfringens* y disbiosis fecal se asocia con enfermedad gastrointestinal, sin embargo, la presencia de *C. perfringens* no es indicativa de enfermedad gastrointestinal en todos los casos de diarrea (Minamoto *et al.*, 2014).

2.1.2. Enfermedad intestinal inflamatoria

El uso de TMF para tratar EII se informó por primera vez en 1989, de hecho, uno de los autores experimentó por sí mismo colitis ulcerosa gravemente activa (UC), refractaria a aminosalicilatos y corticosteroides (Bennet y Brinkman, 1989). Se realizó el trasplante de heces a partir de un donante sano por enema de retención. Los síntomas desaparecieron durante los 6 meses posteriores de realizar TMF, y la inflamación activa no se detectó en muestras de biopsia de seguimiento del colon.

Otro caso de TMF por enema mostró mejoras clínicas significativas en varias condiciones gastrointestinales incluyendo estreñimiento, síndrome de intestino irritable (SII), UC, y la enfermedad de Crohn (CD) (Borody *et al.*, 1989).

La primera revisión sistemática fue publicada en 2012 e incluyó 41 pacientes con EII (27 UC, 12 CD, y dos no clasificados) tratados con TMF a través de enema, colonoscopia, o tubo nasoyeyunal. Entre todos los pacientes, 15 recibieron TMF para el tratamiento de CDI combinado y 26 pacientes recibieron TMF para el tratamiento de la EII. La mayoría de los pacientes de EII experimentaron una reducción de los síntomas (19/25), el cese de medicación para EII (13/17), y la remisión endoscópica e histológica de la enfermedad (15/24) (Anderson, Edney y Whelan, 2012).

Se ha informado de que la enfermedad de Crohn (CD) es menos probable que responda al TMF en comparación con la colitis ulcerosa (UC). Aunque algunas series de casos han demostrado resultados exitosos después de una sola infusión, se requieren múltiples ciclos de tratamiento en la mayoría de los pacientes con CD. (Borody *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013; Gordon y Harbord, 2014).

2.1.3. Trastornos funcionales gastrointestinales

En contraste con la EII, el papel de la microbiota en el desarrollo de síndrome de intestino irritable (SII) sólo ha sido considerado recientemente, pero los resultados en fase inicial han sido alentadores (Choi y Cho, 2016). La justificación de las intervenciones de la microbiota dirigida para el tratamiento del SII parece más débil que en la EII, pero está emergiendo. Aunque las alteraciones en la inmunidad, la motilidad, y el eje cerebro-intestino se ha visto que están involucrados en la patogénesis de la enfermedad, el papel de la microbiota intestinal está aumentando, y numerosos estudios han demostrado diferencias significativas entre la flora intestinal de un paciente normal y la flora intestinal de un paciente con trastornos gastrointestinales funcionales (Shanahan y Quigley, 2014).

Un estudio reciente describe el análisis molecular de las muestras de heces de 62 pacientes con SII y 46 controles sanos y confirmó una diferencia estadísticamente significativa en la composición de la microbiota intestinal (Rajilić–Stojanović *et al.*, 2011). Los pacientes con SII tuvieron una disminución significativa en el número de bacteroidetes, *Bifidobacterium* y *Faecalibacterium spp.* y un aumento significativo de *Firmicutes* (Rajilić–Stojanović *et al.*, 2011). Esta alteración de la microbiota intestinal en pacientes con SII se ha relacionado con una disfunción inmune y una alteración de la función neurológica, como el aumento de la ansiedad y la disminución del umbral del dolor, lo que sugiere que la restauración de la homeostasis intestinal normal a través del TMF puede resultar en la mejoría de los síntomas (Pinn *et al.*, 2014a).

Pinn *et al.*, 2014, informaron de la eficacia del TMF para el tratamiento del SII. Trataron a 13 pacientes (nueve con SII con diarrea, tres con SII con estreñimiento, y uno con SII con un patrón intestinal mixto) y los observaron durante un promedio de 11 meses. La resolución o mejora de los síntomas se informó en 70%, incluyendo dolor abdominal (72%), la frecuencia de defecación (69%), dispepsia (67%), hinchazón (50%), y flato (42%).

En lo que se refiere a veterinaria, hemos podido comprobar que hay mucha menos información publicada pero sí que existen algunos precedentes donde se ha estudiado la posibilidad del tratamiento TMF para la resolución de enfermedades gastrointestinales. En perros y gatos, el TMF puede tener el potencial para mejorar la salud de cualquier enfermedad asociada con una alteración o disbiosis de la ecología microbiana intestinal, tales como la inflamación GI aguda y crónica, diarrea idiopática, así como la EII (Chaitman *et al.*, 2016).

Burton *et al.*, 2016, realizaron un estudio sobre cachorros en entornos de investigación que al postdestete desarrollaban enfermedades gastrointestinales, posiblemente debido a una microbiota intestinal inmadura e inestable, que es permisible para patógenos oportunistas. El objetivo del estudio fue comprobar si a través de un TMF conseguían disminuir la incidencia de esta diarrea postdestete. De este modo un grupo de animales fue sometido a TMF durante 5 días postdestete mientras que otro grupo fue sometido a un falso tratamiento. No se observó diarrea durante el estudio en ninguno de los dos grupos, lo que hizo complicado poder realizar una comparación entre el grupo control y el grupo de animales tratados. Sin embargo, el análisis del gen 16S rRNA reveló variabilidad microbiana a lo largo del tiempo en ambos grupos, de modo que estos datos proporcionaron información fundamental y novedosa sobre el proceso dinámico de maduración de la microbiota fecal de los cachorros después del destete.

En un estudio realizado por Pereira *et al.*, 2018, se emplearon 66 cachorros con parvovirus que se dividieron al azar en dos grupos de 33 animales. Uno de los grupos fue tratado mediante el tratamiento convencional mientras que el otro grupo, además del tratamiento convencional, recibió TMF. Entre los supervivientes, aquellos animales que habían recibido el TMF se asociaron con una resolución más rápida de la diarrea y un menor tiempo de hospitalización en relación a los animales que habían recibido únicamente el tratamiento estándar.

2.1.4. Trastornos no gastrointestinales.

El TMF también se puede utilizar para tratar enfermedades en las que no hay desórdenes gastrointestinales, pero en las que se perturba la microbiota intestinal. Hay informes preliminares sobre el uso de la terapia del TMF en una amplia gama de trastornos incluyendo la enfermedad de Parkinson, fibromialgia, síndrome de fatiga crónica, distonía mioclónica, la esclerosis múltiple, la obesidad, resistencia a la insulina, el síndrome metabólico y en la niñez autismo regresivo (Choi y Cho, 2016).

2.1.5. Posibles efectos secundarios del TMF.

Es posible que como consecuencia de la utilización de enemas fecales aparezcan ciertos efectos secundarios, que por lo general son bien tolerados, autolimitantes y

Revisión bibliográfica

tolerables. Un ejemplo de ello podría ser la aparición de flatulencia, diarrea, constipación, vómitos o fiebre transitoria (Kunde *et al.*, 2013).

2.2. DEL USO DE TILOSINA.

Los procesos diarreicos crónicos o intermitentes inespecíficos en el perro son frecuentes y en ocasiones vienen siendo tratados mediante el uso de antibióticos (diarrea que responde a antibióticos o ARD) por vía oral, como la tilosina (diarrea con respuesta a tilosina o TRD) y el metronidazol y más recientemente se ha sugerido el uso de la transferencia de microbiota obtenida de heces de perros sanos (Transplante Microbiota Fecal, TMF) para su manejo clínico, en base a diversos estudios en Medicina humana.

Las diarreas crónicas que responden a antibióticos (ARD) han sido tratadas con éxito con diferentes antibióticos como las tetraciclinas, el metronidazol, la amoxicilina/clavulánico y la tilosina, pero según Hall (2011) los antibióticos de elección deberían ser oxitetraciclina, metronidazol o tilosina. La cual cada vez se está usando más con este propósito.

El tratamiento con tilosina está siendo cada vez más utilizado dada su respuesta. Según Kilpinen *et al.* (2016) el tratamiento con tilosina a 25 mg/kg/PO/7 días sería efectivo en la mayoría de los casos, pudiendo reducir la dosis a 5-15 mg/kg/PO/SID en caso de recurrencia. Considerando la dosis menor como seguramente la más adecuada, reconociendo que la dosis no está bien establecida. Dado el problema de resistencia bacteriana a los antibióticos creemos que es de suma importancia establecer la dosis mínima efectiva que evite la formación de resistencias.

Kilpinen *et al.* (2014) realizaron un estudio en perros con diagnóstico de TRD, a los que se les había administrado tilosina 25 mg/kg cada 24 horas durante siete días, si había recaída; los perros fueron separados en dos grupos que recibieron tilosina por oral en dosis de 5 mg/kg o 15 mg/kg una vez al día (7 días). Concluyen que la dosis más baja podría ser la adecuada. Sin embargo, dado el gran problema de las resistencias bacterianas a los antibióticos, la dosificación debe hacerse con bases farmacocinéticas y farmacodinámicas a fin de evitar la aparición de resistencias. Los estudios farmacocinéticos son el primer punto a desarrollar para una correcta posología y, por tanto, para evitar la subdosificación favorecedora de resistencias. Aunque existen estudios en otras especies como son las aves (Abu-Basha Ehab *et al.*, 2012); (Ji, L.W. *et al.*, 2013), los estudios farmacocinéticos de este antibiótico en el perro muy son escasos y muy antiguos (Van Kruiningen, 1978), por lo que es preciso tener datos fiables del perfil farmacocinético de la tilosina en el perro.

2.2.1. Tilosina.

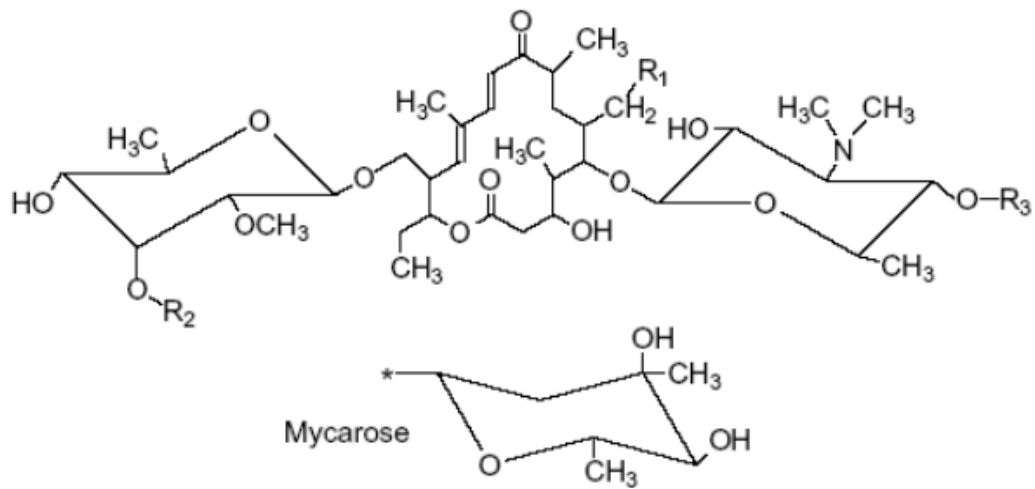
Los macrólidos son un grupo de antibióticos que se caracterizan por:

- Actuar a nivel de las subunidades 50 S ribosómicas de las bacterias impidiendo así la síntesis proteica en las mismas.
- Estructura con un anillo lactónico macrocíclico al que se encuentran unidos diversos desoxiazúcares.

Se clasifican, comúnmente, atendiendo al número de átomos de carbono que posee el anillo lactona: 14, 15 o 16 (Mensa *et al.*, 2003).

Los macrólidos están considerados como antibióticos de máxima prioridad en la 5ª revisión de la Lista de la OMS de Antimicrobianos de Importancia Crítica para la Medicina Humana (Lista OMS de AIC 5º rev, 2017).

Dentro de este grupo se incluye la tilosina como un compuesto de uso exclusivo en medicina veterinaria (Trolldenier, 1980), cuyo anillo lactónico está constituido por 16 átomos de carbono (Brisson-Noel *et al.*, 1988). Es un producto natural obtenido en 1959 por McGuire *et al.*, de un filtrado de una cepa de *Streptomyces fradiae* aislada de tierra procedente de Tailandia. Está constituida por cuatro componentes o factores (Figura 1), el factor A o tilosina A, que constituye más del 80% de la mezcla y otros tres factores, en proporción variable (Roberts *et al.*, 2009), el factor B o desmicosina, el factor C o macrosina y el factor D o relomicina (Hamill *et al.*, 1961; McGuire *et al.*, 1961; Whaley *et al.*, 1963; Hamill y Stark, 1964; EMEA, 2000). El factor A (Figura 2) presenta la mayor potencia (EMEA, 2000), y el resto de factores contribuyen a la potencia de la tilosina, que es superior a 900 UI/mg (European Pharmacopoeia, 2004).



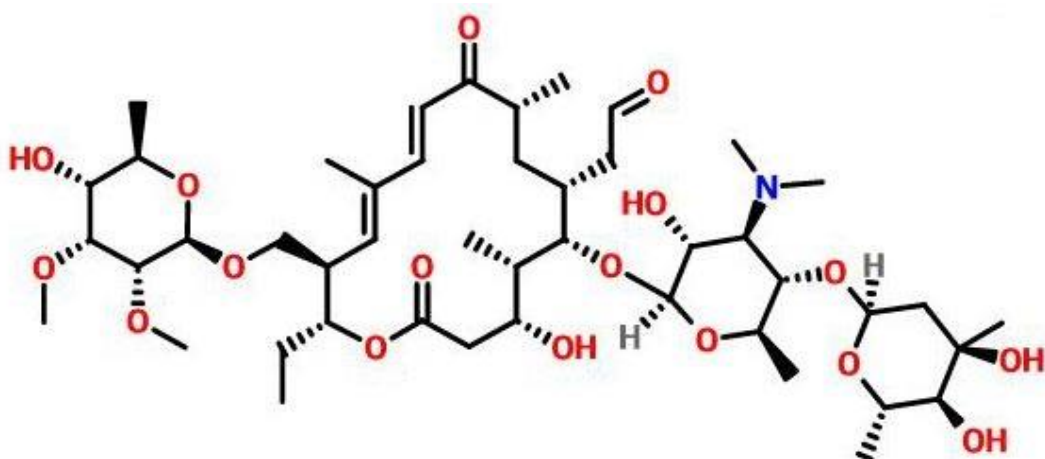
	Tylosin A	Tylosin B	Tylosin C	Tylosin D
R ₁	-CHO	-CHO	-CHO	-CH ₂ OH
R ₂	-CH ₃	-CH ₃	-H	-CH ₃
R ₃	-Mycarose	-H	-Mycarose	-Mycarose

FIGURA 1. Estructura de la Tilosina con sus 4 componentes: Factor A o tilosina A, Factor B, Factor C y Factor D.

En cuanto a la actividad antimicrobiana relativa de los 4 factores, según Teeter y Meyerhoff (2003), es de 1.0 para el factor A, 0.83 para el factor B, 0.75 para el factor C y de 0.35 para el factor D.

Tomado de Kolz *et al.*, 2005.

FAO 2008



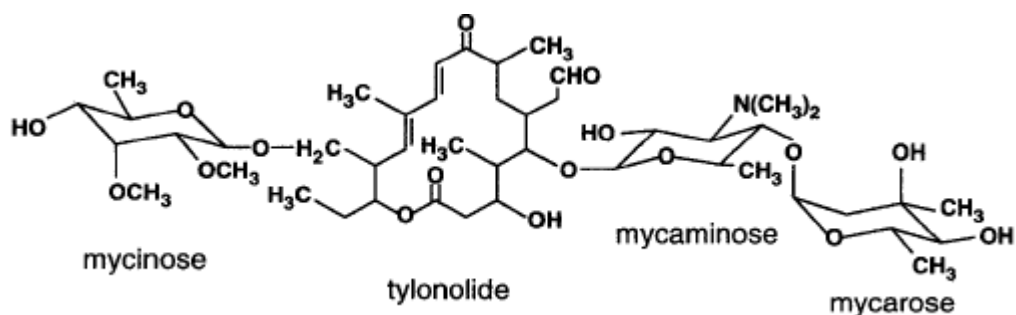


FIGURA 2. Estructura química de la tilosina o factor A. Tomado de Cundliffe *et al.*, 2001.

2.2.1.1. Características físico-químicas.

La tilosina es una sustancia básica, cuya fórmula química es $C_{46}H_{77}NO_{17}$ y con un peso molecular de 916,1. Se presenta como polvo cristalino de color blanco o ligeramente amarillento. Es poco soluble en agua (5mg/mL a 25°C) y soluble en la mayoría de los solventes orgánicos (alcohol, ésteres, cetonas benceno, éter, cloroformo e hidrocarburos clorados). Sus soluciones son estables a temperatura ambiente y a un pH de 4 a 9, siendo más estables a pH 7. Por debajo de pH 4, se descompone liberando desmicosina (tilosina o factor B), como resultado de una hidrólisis ácida, en primer lugar y más tarde se produce la liberación de micarosa y micaminosa. Por encima de pH 7, se forma aldol-tilosina (TAD) junto con productos de degradación polar no identificados (Paesen *et al.*, 1995abc; McFarland *et al.*, 1997; The Merck Index, 2001; Lewicki, 2006; FAO, 2008).

En forma pulverulenta, a temperatura ambiente y al resguardo de la luz, la tilosina es estable durante 2 años (Mejía, 2008; Fengchen Group: ficha comercial Tylosin Phosphate Powder API CAS 1405-53-4).

La exposición de las soluciones de tilosina a la luz produce por fotodegradación, isotilosina A (isoTA) (Paesen *et al.*, 1995c). El pKa de la tilosina es de 7,73 y su coeficiente octanol/agua (log P) es de 1,63.

La molécula presenta un máximo de absorción de la luz ultravioleta (UVmax) a los 282 nm y un coeficiente de extinción ($E_{1cm}^{1\%}$) de 245 a 282 nm y un punto de fusión entre 128 y 132°C.

Forma sales hidrosolubles, con el fosfato, el tartrato, el gluconato, el lactato y el clorhidrato. Es frecuente el uso del fosfato y del tartrato de tilosina.

El fostato de tilosina (Figura 3A) tiene como fórmula química $C_{46}H_{77}NO_{17} \cdot PO_3H_3$. Tiene un peso molecular de 1014.0953 y se presenta como un polvo blanco o casi blanco. Su número de registro CAS 1405-53-4.

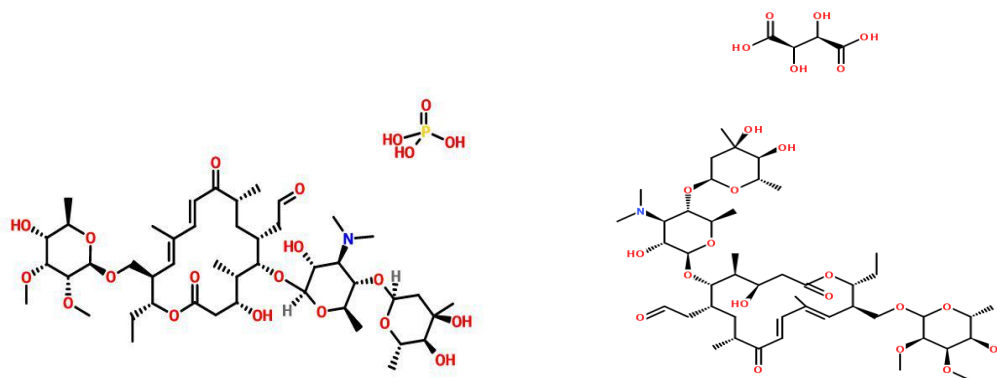


FIGURA 3. Fosfato (A) y tartrato (B) de tilosina.

Tilosina tartrato (Figura 3B): su fórmula química es $C_{46}H_{77}NO_{17} \cdot C_4H_6O_6$. Presenta un peso molecular de 1066,19 y se presenta como un polvo blanco o casi blanco/amarillento y con número de registro CAS 1405-54-5. Su solubilidad en agua es de 50mg/mL. El tartrato de tilosina disuelto en agua de calidad MilliQ a pH entre 5,7 y 6,7 es estable durante al menos un mes. A pH 9,2 se produce degradación del 10% de la tilosina en las primeras 200 horas (Kolz *et al.*, 2005).

2.2.1.2. Mecanismo de acción.

La tilosina ejerce su acción en el interior de las bacterias, donde accede mediante difusión pasiva. El mecanismo de la tilosina es el propio de todos los antibióticos macrólidos y de los fenicoles y lincosamidas (Douthwaite, S. 2001; Douthwaite y Champney, 2001). Por un lado, se fija a la subunidad ribosomal 50S a nivel del 23S ARNs (sitio P) y, por otro, favorece la disociación del peptidil-ARNt durante la translocación. De esta manera bloquea la elongación de la cadena polipeptídica y la actividad de las enzimas que actúan en la translocación de la cadena proteica y, por tanto, la síntesis de proteínas. Este mecanismo le otorga una actividad bacteriostática, aunque a dosis elevadas puede ser bactericida. Dicha actividad es tiempo dependiente (Adams, 2003). También inhibe la asociación de las subunidades ribosomales mayores provocando una disminución de la actividad ribosómica al disminuir su número.

La tilosina, como otros macrólidos de 16 anillos (carbomicina, espiramicina y tilosina) es capaz de inhibir la peptidil transferasa (Poulsen *et al.*, 2000). La actividad antibacteriana de tilosina y desmicosina es casi idéntica (Iveković *et al.*, 2003).

La acción de la tilosina, y de otros macrólidos, está condicionada por el pH del medio. Así, cuando está comprendido entre 7'8 y 8, el efecto es significativamente mayor (Fernández-Varón, 2016).

2.2.1.3. Espectro antibacteriano.

La tilosina tiene un amplio espectro de actividad, que incluye bacterias Gram-positivas, varias Gram-negativas, bacterias anaerobias (Gram-positivas tienen mayor susceptibilidad que las Gram-negativas), además de microorganismos como micoplasmas, espiroquetas, clamidias y rickettsias (Prescott y Baggot, 1993; Gutiérrez y Rodríguez, 1993; EMEA, 1997; Prats *et al.*, 2002a; FAO, 2008;).

E.coli es resistente a la tilosina (CMI₅₀ >128 µg/ml), aunque en el mismo estudio se indica que presenta actividad frente a bacterias comúnmente presentes en la microbiota humana (Roberts *et al.*, 2009). La tilosina carece de eficacia frente a enterobacterias (EMEA, 1997), como *E. coli* y *Salmonella spp.* (Poole *et al.*, 2003; Westermarck, 2005).

Staphylococcus aureus, estreptococos β-hemolíticos y *Corynebacterium pyogenes* son susceptibles a la tilosina con CMI <1 µg/mL en la mayoría de las cepas estudiadas. En la tabla siguiente se indican las CMI₉₀, en µg/mL de diversas especies bacterianas aisladas de animales domésticos.

Revisión bibliográfica

MICROORGANISMO	ESPECIE	CMI90 ($\mu\text{g/mL}$)	REFERENCIA
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Porcino	64	Kim <i>et al.</i> , 2001
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	Bovino y porcino	> 64	Trinh <i>et al.</i> , 2002
<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	Porcino	> 256	Karlsson <i>et al.</i> , 2002; Hidalgo <i>et al.</i> , 2009
<i>Brachyspira pilosicoli</i>	Porcino	> 512	Kinyon <i>et al.</i> , 2002
<i>Clostridium difficile</i>	Porcino	> 64	Post and Songer, 2004
<i>Clostridium perfringens</i>	Conejo Pavo Pollo Porcino	32 1 > 256 16	Saggiorato <i>et al.</i> , 2008 Gad <i>et al.</i> , 2011 Gharaibeh <i>et al.</i> , 2010 Masiero <i>et al.</i> , 2012
<i>Clostridium spiroforme</i>	Conejo	> 256	Agnoletti <i>et al.</i> , 2009
<i>Dichelobacter nodosus</i>	Oveja	1	Jiménez <i>et al.</i> , 2004
<i>Enterococcus faecalis</i>	Bovino Gallinas Perro Pollos Porcino	> 100 > 100 ≥ 128 > 100 > 100	Kojima <i>et al.</i> , 2009 Yoshimura <i>et al.</i> , 2000 De Graef <i>et al.</i> , 2004 Yoshimura <i>et al.</i> , 2000 Kojima <i>et al.</i> , 2009
<i>Enterococcus faecium</i>	Bovino Gallinas Pollos Porcino	3.13 3.13 > 100 > 100	Kojima <i>et al.</i> , 2009 Yoshimura <i>et al.</i> , 2000 Yoshimura <i>et al.</i> , 2000 Kojima <i>et al.</i> , 2009
<i>Escherichia coli</i>	Perro Porcino	128 64	Awji <i>et al.</i> , 2012 Choi <i>et al.</i> , 2002
<i>Fusobacterium spp.</i>	Oveja	8	Jiménez <i>et al.</i> , 2004
<i>Haemophilus parasuis</i>		> 20	Martín de la Fuente <i>et al.</i> , 2007
<i>Mannheimia haemolytica</i>	Bovino	32	Esaki <i>et al.</i> , 2005
<i>Mycoplasma agalactiae</i>	Oveja	0.525	Loria <i>et al.</i> , 2003
<i>Mycoplasma bovis</i>	Bovino	0.78	Siugzdaite <i>et al.</i> , 2012

<i>Mycoplasma capricolum</i>	Cabra	< 0.03	Al-Momani <i>et al.</i> , 2006
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	Bovino Porcino	64 1	Uemura <i>et al.</i> , 2010 Jin <i>et al.</i> , 2014
<i>Mycoplasma mycoides</i>	Cabra Oveja	1 1	Al-Momani <i>et al.</i> , 2006 Al-Momani <i>et al.</i> , 2006
<i>Mycoplasma putrefaciens</i>	Cabra Oveja	0.12 0.12	Al-Momani <i>et al.</i> , 2006 Al-Momani <i>et al.</i> , 2006
<i>Pasteurella haemolytica</i>	Bovino	128	Post <i>et al.</i> , 1991
<i>Pasteurella multocida</i>	Bovino	64	Post <i>et al.</i> , 1991
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bovino Perro	2 4	Bonnier <i>et al.</i> , 2006 Awji <i>et al.</i> , 2012
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	Perro	64	Awji <i>et al.</i> , 2012
<i>Streptococcus canis</i>	Perro	64	Awji <i>et al.</i> , 2012
<i>Streptococcus uberis</i>	Bovino	64	Bonnier <i>et al.</i> , 2006

CUADRO 1. CMI90 de diversos patógenos animales.

Streptococcus suis, un patógeno habitual del cerdo pero que causa infecciones en la especie humana (zoonosis), es capaz de elaborar biofilm mediante diversas enzimas, como la fosfoglicerato cinasa, y proteínas ABC transportadoras de membrana que dificulta el efecto de los antibióticos. Concentraciones subinhibitorias de tilosina (CMI/2 y CMI/4; CMI = 0'5 µg/mL) pueden inhibir la formación de biofilm por *S. suis* (Wang *et al.*, 2016).

2.2.1.4. Resistencias bacterianas.

La resistencia bacteriana puede producirse mediante tres mecanismos: por alteración del receptor ribosómico, por mecanismos que disminuyen la concentración

intracelular mediante bombas de expulsión o de eflujo, o por inactivación enzimática de la tilosina por enzimas bacterianas (Douthwaite, 2001; Douthwaite y Champney, 2001; Mensa *et al.*, 2003; Lovmar *et al.*, 2009).

La alteración del receptor ribosómico puede deberse a diversas causas:

- Mutaciones de genes que, bien codifican proteínas ribosomales L4 y L22 o bien codifican 23 ARNs 23S.
- Mutaciones por sustitución de bases en A2058 del ARNr 23S (Vester y Douthwaite, 2001). Este mecanismo es el más importante, incluso el único mecanismo de resistencia en algunas bacterias entre las que se incluyen *Brachyspira hyodysenteriae*, *B. pilosicoli*, y *Mycoplasma hyopneumoniae* (Karlsson *et al.*, 1999; Karlsson *et al.*, 2004; Stakenborg *et al.*, 2005), *Campylobacter jejuni* y *C. coli* (Gibreel y Taylor, 2006; Alfredson and Korolik, 2007; Caldwell *et al.*, 2008).
- Metilación de residuos de adenina, cambios de la secuencia de bases del ARNr 23S o modificaciones de la proteína ribosómica L4 por acción de una metilasa (genes *emr*).

Dado que estos mecanismos de resistencia son comunes a todos los macrólidos, es muy frecuente la resistencia cruzada a otros antibióticos del grupo (Thomson, 2005).

Un problema añadido es que la resistencia en patógenos de animales domésticos se transfiere a las bacterias humanas (Murray, 1998).

2.2.1.5. Indicaciones.

La tilosina está registrada en nuestro país para su uso en bovino, porcino, ovino, caprino, pavos, pollos de engorde, gallinas ponedoras, canarios, aves ornamentales, perros y gatos. Pertenece al grupo farmacoterapéutico "Antibacterianos para uso sistémico. Macrólidos, lincosamidas y estreptograminas". Su código ATCvet es: QJ01FA90.

Según las fichas técnicas de medicamentos con tilosina aprobados para su uso en veterinaria por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (TILOSINA BIOVET JSC 200 mg/ml solución inyectable®, Bilovet 200 mg/ml solución inyectable para bovino y porcino®, Tylmasin 1.000 mg/g granulado para solución oral®, Tilovall 200 mg/ml solución inyectable®, Asmoserine® y Asmoserine individual®), las indicaciones de este antibiótico son infecciones ocasionadas por microorganismos susceptibles:

Revisión bibliográfica

Bovino. Adultos: Tratamiento de infecciones respiratorias (complejo respiratorio bovino, generalmente asociado con *Pasteurella multocida* y *Corynebacterium pyogenes*) y metritis causadas por microorganismos Gram-positivos, mastitis causada por *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. o *Mycoplasma*, y necrobacilosis interdigital causada por *Fusobacterium necrophorum* (panadizo, pedero).

Terberos: Tratamiento de infecciones respiratorias y de la necrobacilosis (difteria de los terneros causada por *Fusobacterium necrophorum*).

Porcino: Tratamiento de la neumonía enzoótica causada por *Mycoplasma hyopneumoniae*, enteritis hemorrágica (enteropatía hemorrágica proliferativa porcina causada por *Lawsonia intracellularis*), la erisipela (mal rojo) causada por *Erysipelothrix rhusiopathiae*, y metritis. Tratamiento de la artritis causada por *Mycoplasma* y *Staphylococcus* spp. Gutiérrez y Rodríguez, (1993) indican que la tilosina tiene actividad en infecciones respiratorias causadas por *Pasteurella multocida*.

Ovino y caprino: Infecciones respiratorias, metritis producida por microorganismos Gram positivos, mastitis causada por microorganismos Gram-positivos o *Mycoplasma* spp. En oveja, Shaddad *et al.* (2007) señalan que está indicada en el tratamiento de la enfermedad respiratoria crónica (ERC o CDR).

Pollos de engorde y gallinas ponedoras: Tratamiento y prevención de enfermedades respiratorias crónicas (ERC o CDR) causadas por *Mycoplasma gallisepticum* (Roberts *et al.*, 2009) y *Mycoplasma synoviae* provocadas por cepas sensibles a Tilosina. Tratamiento de brotes de la enteritis necrótica causada por *Clostridium perfringens* provocada por cepas sensibles a Tilosina.

Pavos: Tratamiento y prevención de la sinusitis infecciosa causada por *Mycoplasma gallisepticum* provocada por cepas sensibles a Tilosina. (Roberts *et al.*, 2009).

Perros: Infecciones respiratorias y otitis.

Gatos: Enfermedades respiratorias.

Canarios y aves ornamentales: Enfermedad Respiratoria Crónica (ERC o CDR) causada por *Mycoplasma gallisepticum*. (junto a tetraciclina).

Otras indicaciones posibles no registradas:

En abejas, la tilosina está aprobada por la FDA (2005) en el control de loque americano. En España no disponemos de medicamentos con tilosina registrados para abejas por lo que constituiría una prescripción excepcional.

En conejos se ha propuesto su uso (prescripción excepcional ya que no está registrada en esta especie) en casos de enteropatía enzoótica o enterotoxemia causada por *C. perfringens* (Saggiorato *et al.*, 2008).

Como promotor del crecimiento: Si bien la tilosina estuvo autorizada como aditivo en pienso para promover el crecimiento (Directiva 70/524/CEE), actualmente este uso está prohibido por el Reglamento (CE) 2821/98.

En la enfermedad intestinal inflamatoria crónica en perros.

Desde hace algún tiempo una indicación no registrada de la tilosina en el perro es el tratamiento de la enfermedad intestinal inflamatoria crónica (EII o IBD, en inglés). De hecho, se ha acuñado un término TRD o diarrea sensible a la tilosina. La etiología de la TRD, un tipo de diarrea sensible a los antibióticos (ARD) no está clara. La TRD afecta, por lo general, a los perros de mediana edad y de raza grande y los signos indican que la TRD afecta tanto al intestino delgado y al intestino grueso. Un posible factor etiológico es un organismo enteropatógeno específico que es un residente común en el tracto gastrointestinal canino sensible a la tilosina pero difícil de erradicar. Se requieren estudios adicionales para identificar la causa específica de TRD (Westermarck *et al.*, 2005a).

Ciertas bacterias enteropatógenas, como *Clostridium perfringens* y *Campylobacter spp.*, podrían desempeñar un papel en la etiopatogenia de la diarrea crónica o intermitente, y estas bacterias son sensibles a la tilosina (Marks y Kather, 2003).

Su actividad antimicrobiana está dirigida contra bacterias Gram-positivas y algunas Gram-negativas. Sin embargo, las bacterias Gram-negativas *E. coli* y *Salmonella spp.* son intrínsecamente resistentes a la tilosina (Poole *et al.*, 2003).

Lawsonia intracellularis es una bacteria intracelular obligada que causa enteropatía proliferativa que infecta una amplia variedad de animales, con mayor frecuencia se ha descrito en cerdos, pero cada vez más se diagnostica en caballos y ocasionalmente en perros (Westermarck *et al.*, 2005b; Marks y Kather, 2003; Fleming, 1983). La tilosina ha demostrado tener actividad frente a la misma (Brown *et al.*, 1999).

Los antibióticos como el metronidazol y la ciprofloxacina presentan efectos inmunomoduladores beneficiosos en la mucosa intestinal para aliviar la inflamación crónica en la EII (Fellström *et al.*, 2001; Oxberry & Hampson, 2003). Muchos antibióticos macrólidos también tienen efectos inmunomoduladores (Summamen *et al.*, 1993).

La tilosina tiene un efecto positivo en el tratamiento de enteropatías caninas crónicas que se asemejan a la EII. Sin embargo, se desconoce el modo exacto de su acción en la EII (Williams & Batt, 1988). Puede que, además de su actividad antibacteriana, la tilosina podría tener propiedades antiinflamatorias que contribuyesen a su efectividad en el tratamiento de la diarrea en perros (Westermarck *et al.*, 2005a).

2.2.1.6. Posología y vías de administración.

Vía intramuscular o intravenosa lenta (sólo en bovino):

Bovino: 5-10 mg a 10-20 mg de tilosina/kg/día durante 3 o 5 días. El volumen inyectable máximo por lugar de inyección no debe superar los 10-15 ml.

Porcino: 5-10 mg a 10-20 mg de tilosina/kg/día durante 3 o 5 días. El volumen inyectable máximo por lugar de inyección no debe superar los 1,3-5 ml.

Ovino y caprino: 10 mg de tilosina/kg/día durante 3 días. En ovejas de más de 50kg de peso vivo, la inyección debe dividirse entre dos puntos de aplicación (máximo de 2,5ml de volumen de la inyección por punto de aplicación).

Perros y gatos: 7-11 mg de tilosina/kg/día cada 24 horas durante 3-5 días consecutivos.

Aves: Plumb (2002) y Giguère (2006), indican que la tilosina puede administrarse por vía intramuscular en aves, a dosis de 20-120 mg/kg/día, aunque para esta vía y estas especies no existe ningún medicamento registrado en nuestro país.

Administración oral a través del agua de bebida o en leche:

Pollos de engorde y gallinas ponedoras: Granulado para solución oral: 1. Tratamiento y prevención de enfermedades respiratorias crónicas (ERC/CDR) causadas por *Mycoplasma gallisepticum* y *M. synoviae*. 100 mg de tilosina/kg de peso vivo/día durante 3 -5 días. 2. Tratamiento de brotes de la enteritis necrótica causada por *Clostridium perfringens*. 20 - 40 mg de tilosina/kg/día durante 5 días.

Pavos: Granulado para solución oral: Tratamiento y prevención de la sinusitis infecciosa causada por *Mycoplasma gallisepticum*. 100 mg de tilosina/kg/día durante 5 días.

Pavos y pollos: Polvo para solución oral: Tratamiento y metafilaxis de la enfermedad crónica respiratoria: 110.000 UI de tartrato de tilosina por kg (equivalente a 120 mg de medicamento/kg), durante 5 días. Tratamiento de la enteritis necrótica: 20.000–40.000 UI de tartrato de tilosina/kg. (equivalente a 21,6 –43,2 mg de medicamento/kg), durante 5 días.

Revisión bibliográfica

Porcino: 1. Granulado para solución oral: Tratamiento de la enteropatía proliferativa porcina o ileítis asociada a *Lawsonia intracellularis*: 5 –10 mg/kg/día durante 7 días. 2. Polvo para solución oral: Tratamiento y metafilaxis de la adenopatía intestinal porcina (ileítis): 12.500 –25.000 UI de tartrato de tilosina/kg, durante 3-10 días. 3. Tratamiento y metafilaxis de la neumonía enzoótica: 25.000 UI de tartrato de tilosina/kg, durante 3-10 días.

Terneros pre-rumiantes: Polvo para solución oral: Tratamiento y metafilaxis de la neumonía: 20.000 UI de tartrato de tilosina/kg/12 h, lo que corresponde a una dosis diaria de 40.000 UI de tartrato de tilosina/kg/día, durante 7-14 días.

Canarios y aves ornamentales: Comprimidos para disolver: Ver Cuadro 2.

	Pájaros con los siguientes pesos		
Se administra	500 g o menos	Entre 500-1000 g	Más de 1000 g
1 comprimido, disuelto en 200 mL de agua.	Canario, jilguero común, diamante mandarín/ de Gould/barbero o cola larga, verderón común, periquito australiano, ninfas/ Carolinas, agapornis, periquito barrado, cotorra argentina/de cabeza negra, Isabela de Japón, gorrión de java o pada, tórtola diamante.		
2 comprimidos, disueltos en 250 mL de agua		Loro gris de cola roja/yaco, amazona de frente azul	
3 comp., disueltos en 500 mL de agua.			Guacamayo azul-amarillo.
Las recomendaciones que aparecen arriba corresponden a pájaros adultos, para juveniles se debe basar en su peso actual.			
Contenido de las sustancias activas en miligramos con las diferentes cantidades de producto.			
Sustancia	1 comprimido	2 comprimidos	3 comprimidos
Tetraciclina	60 mg	120 mg	180 mg
Tilosina	30 mg	60 mg	90 mg

CUADRO 2. Número de comprimidos a disolver en la cantidad de agua. Repetir cada 24 horas durante 5 días. En caso de que se acabe el agua medicada durante el día, se añade más agua, pero sin añadir el medicamento hasta la próxima administración (Asmoserine individual®).

Vía oral (sólido):

Canarios: 1 comprimido (1'5 mg de tartrato de tilosina + 3'5 mg de hidrocloreuro de tetracilina) cada 24 horas, durante 5 días.

Pienso medicamentoso (premezcla):

Porcino: 1. Para el tratamiento y la prevención de adenomatosis intestinal porcina (PIA): 4–5 mg de tilosina por cada kg/día durante 3 semanas. 2. Como aditivo: La directiva 70/524/EEC, que estuvo vigente hasta el 31 de diciembre de 2010, autorizaba el uso de la tilosina como aditivo al pienso para cerdos a concentraciones en el rango de 5-20 mg/kg de pienso en animales de hasta 6 meses de edad y de 10-40 mg/kg de pienso en animales de hasta 4 meses de edad. Actualmente este uso está prohibido por el Reglamento (CE) 2821/98.

Pollos de engorde y pollitas: 1. Para el tratamiento y la prevención de infecciones respiratorias: 127 mg/kg/día durante los primeros 5 días de vida. Se recomienda repetir el tratamiento de las aves a las 3-4 semanas de edad. 2. Para el tratamiento y la prevención de enteritis necrótica: 10–20 mg/kg/día, durante 7 días.

Truchas (prescripción excepcional): en el tratamiento de la gastroenteritis de la trucha y otras infecciones por bacterias susceptibles a la tilosina, 40 mg/kg/día, por vía oral durante 5 días. Se aconseja no utilizar dosis menores para disminuir el riesgo de desarrollo de resistencias bacterianas (Nieto, 2015).

2.2.1.7. Toxicidad y efectos adversos.

Según las fichas técnicas de los distintos medicamentos con tilosina registrados en España, las reacciones adversas son las siguientes:

En el lugar de inyección pueden aparecer manchas y persistir durante hasta 21 días tras la administración. La administración subcutánea ocasiona irritación, dolor y edema. Tras la administración intramuscular puede aparecer, a los 6 días de la inyección, necrosis, hemorragias y neoformación conjuntiva.

En muy raras ocasiones (menos de 1 animal por cada 10.000, incluyendo casos aislados) se han observado las siguientes reacciones en:

Revisión bibliográfica

- cerdos: Edema de la mucosa rectal y vulva, protrusión anal parcial, diarrea, eritema y prurito en toda la piel. Enrojecimiento e irritación vaginal.

- bovino: Aumento de la frecuencia del pulso, taquipnea y tumefacción vulvar.

En raras ocasiones (más de 1 pero menos de 10 animales por cada 10.000 animales tratados): Reacciones alérgicas, shock anafiláctico y muerte.

Frecuentemente (más de 1 pero menos de 10 animales por cada 100 animales tratados) se han observado reacciones locales con necrosis y hemorragias.

Curiosamente no se describen reacciones adversas en terneros, perros, gatos ni aves a las dosis recomendadas. Tan solo en aves (pollos y pavos), y en algún medicamento como la MAYLOSINA® se indica que, en tratamientos prologados, puede presentarse reblandecimiento de las heces. Esto puede ser debido, al menos en parte, a que la toxicidad oral de la tilosina es baja, presentando una DL50 superior a 5000 mg/kg en ratas y ratones, y de 800 mg/kg en perros.

En terneros, dosis de tilosina con la leche maternizada de 1 y 3 g/por ternero durante 14 días, tan solo ocasionó la aparición de heces duras y secas durante la segunda semana del tratamiento (Cameron, 1990d).

Existen estudios que muestran la toxicidad de la tilosina en el perro. Así, en perros se observó fenómenos de salivación, emesis y diarrea (EMEA, 1997) y con dosis altas de tilosina base, salivación, vómito y defecación (Anderson *et al.*, 1966a). En otros estudios, tras la administración de 25 y 200 mg/kg durante 30 días se reportó hematuria, albuminuria y cistitis y, tras la administración de 25 mg de tilosina base/kg en cápsulas 2 veces al día durante 25 días, tan solo hubo un ligero aumento de la albúmina en orina (Anderson *et al.*, 1966a, b).

Tras dos años de administración oral de 200 mg/kg y de 400mg/kg de tilosina en perros se constató, tan solo la aparición de vómito y diarrea y efectos renales leves (nefrosis y pielonefritis) en 1 de los 4 perros tratados con ambas dosis y, el NOAEL fue de 100 mg/kg por día (EMEA, 1997).

La administración intravenosa de tilosina en perros a dosis de 10-40 mg/kg ocasionó una disminución transitoria de la presión arterial, entre un 13 y un 40% dependiendo de la dosis y sin cambios del electrocardiograma, excepto en un animal con la dosis mayor en que se incrementó la altura de las ondas T y S (Anderson, 1960; Anderson *et al.*, 1966a).

Revisión bibliográfica

En gatos y perros, dosis de 11 mg/kg de tilosina por vía intramuscular, no produjo ninguna lesión, ni irritación interna o externa en el punto de inyección (Van Duyn y Kline, sin fecha-d).

En pollos tratados con dosis de 0,5 y 1,5 g/L de agua de bebida durante 8 días, no hubo aparición de reacciones adversas observables. Ni tampoco en pavos tratados a iguales dosis durante 5 días ni en cerdos tratados con dosis de 0,25 y 0,75 g tilosina/L en el agua de bebida durante 10 días (Cameron, 1990a, b, c).

En gallos, la DL50 para la vía oral es de 3765 mg/kg y de 501 mg/kg para la vía subcutánea (Richards y Berkman, sin fecha).

En otras especies:

En codornices, la tilosina ocasionó fenómenos de diarrea transitoria (Kehr *et al.*, 1978a).

En conejo, la aplicación tópica de tilosina provocó una leve irritación dérmica y ocular en conejo (Downs y Negilski, 1985a, b; Negilski y Downs, 1985).

Diversos estudios sobre la genotoxicidad de la tilosina demuestran una baja o nula capacidad mutagénica (Gries *et al.*, 1990; Kindig, 1990; Michaelis, 1990; Garriott *et al.*, 1991), por lo que se considera que no presenta riesgo mutagénico (EMEA, 1997). Tampoco presenta capacidad carcinogénica evidente ni parece modificar el eje pituitario/gonadal (EMEA, 1997).

Tampoco presenta actividad embriotóxica ni sobre el aparato reproductor (Tsubura *et al.*, sin fecha; Harris, 1961; Broddle *et al.*, 1978b; Hoyt y Higdon, 1991; EMEA, 1997), ni teratogénica (Tsuchikawa y Akabori, sin fecha; Terashima y Maeda, sin fecha; Kelich y Byrd, 1991; EMEA, 1997).

Señalaremos, por último, que en estudios comparativos de toxicidad de tilosina, desmicosina y macrosina administradas por vía intravenosa en ratas, se obtuvieron valores de DL₅₀ de 312, 193 y 189 mg/kg, respectivamente. En todos los casos aparecieron temores, convulsiones clónicas y debilidad de extremidades (Quarles, 1983).

La tilosina es tóxica para plantas terrestres y cianobacterias (ficha técnica de APSASOL TILOSINA polvo para administración en agua de bebida o en leche®).

2.2.1.8. Interacciones medicamentosas.

(Según fichas técnicas):

- se produce una sinergia (potenciación) con tetraciclinas, sulfamidas y estreptomina. Contra *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus spp.* resistentes Se ha observado actividad sinérgica de la asociación entre tetraciclinas y macrólidos. Es posible que dicha sinergia extienda el espectro de acción contra otras especies de bacterias.

- se produce un antagonismo (competición por el sitio de unión) con fenicoles, lincosaminas y otros antibióticos macrólidos y antagonismo funcional con antibióticos bactericidas en general (aminoglicósidos).

2.2.1.9. Contraindicaciones.

(Según diversas fichas técnicas):

No usar en animales con: sensibilidad conocida a la sustancia activa y/o a algún excipiente del medicamento veterinario; hipersensibilidad conocida a la tilosina y a otros macrólidos.

No usar en caso de sospecha de resistencia cruzada a otros macrólidos (resistencia a MLS).

No usar en animales a los que se les aplicaron vacunas sensibles a la tilosina, al mismo tiempo o hasta 1 semana antes.

No usar en animales con trastornos hepáticos.

No usar en equino u otros equinos. Peligro de inflamación del ciego.

La inyección intramuscular puede ser mortal en pollos y pavos.

2.2.1.10. Características farmacocinéticas.

Se ha estudiado la farmacocinética de la tilosina en distintas especies animales como son diversas especies aviares (Locke *et al.*, 1982), terneros (Burrows *et al.*, 1983; Prats *et al.*, 2005), perros (Duthu, 1985; Prats *et al.*, 2002a), cabras (Atef *et al.*, 1991; Prats *et al.*, 2002a), camellos (Ziv *et al.*, 1995), vacas (Prats *et al.*, 2002^a; Saurit *et al.*, 2002), búfalos (Saurit *et al.*, 2002), pollos (Kowalski *et al.*, 2002 y 2006; Ji *et al.*, 2013), ovejas (Shaddad *et al.*, 2007), ovejas lactantes (Al-Wabel, 2008) y truchas (Nieto, 2015).

Revisión bibliográfica

En general, los niveles plasmáticos de tilosina son más bajos que los tisulares. Se metaboliza en el hígado y se excretada por la orina y la bilis de forma inalterada (Ficha técnica de GANADEXIL solución inyectable®).

La tilosina suele administrarse por vía parenteral intramuscular y por vía oral. Así, en las diferentes especies se obtiene procesos de absorción diferentes.

En ratas, la absorción tras su administración oral es rápida, alcanzando concentraciones plasmáticas $\leq 1'0 \mu\text{g/mL}$, a las 1-2 horas, tras una dosis de 50 mg/kg (WHO, 1991). La administración intragástrica de 20, 50 y 100 mg/kg determinó picos de concentración plasmática de 0'5-1 $\mu\text{g/mL}$ a las dos horas de la misma (Kietzmann, 1985). La administración de tilosina en agua, a concentración de 71 $\mu\text{g/mL}$, durante 10 días no produjo concentraciones detectables, mediante bioensayo, de tilosina. Sin embargo, en pulmón se obtuvieron concentraciones de 3'93-18'14 $\mu\text{g/g}$ de pulmón (Carter *et al.*, 1987).

En el perro, la administración oral de cápsulas con dosis de 1, 10 o 100 mg/kg durante 8 días, produjo una pobre absorción, con concentraciones plasmáticas menores de 0'15-9'5 $\mu\text{g/mL}$, a las dos horas de la última dosis (WHO, 1991). En esta misma especie, la administración de una cápsula diaria durante 29 días a dosis de 25 y 100 $\mu\text{g/mL}$ solo produjo concentraciones plasmáticas de 1'4-2'7 $\mu\text{g/mL}$, a las dos horas de la última dosis de 100 mg/kg/día (FAO/WHO, 1991). Por otro lado, Anderson *et al.* (1966b), indican que, tras dos años de administración continua de tilosina en la comida, no se produjo acumulación de tilosina en plasma.

La administración intramuscular en perros ha sido estudiada en diversos trabajos. En Beagles, la administración de dos dosis de 11 mg/kg cada 12 horas, produjo una rápida absorción tras cada administración, con niveles sanguíneos de 1'9 y 1'7 $\mu\text{g/mL}$, a las 2 horas tras la primera y la segunda administración respectivamente, dejando de detectarse la tilosina a las 10h-12h (van Duyn y Kline., sin fecha-a; van Duyn y Kline., sin fecha-b).

Dosis de 11 mg/kg en perros de menos de 10 kg, ocasionó una concentración plasmática de 5 $\mu\text{g/mL}$ a la media hora y de 2'5 $\mu\text{g/mL}$ a la hora de la administración, a las 10h no se detectó el producto ($< 0'1 \mu\text{g/mL}$) (van Duyn *et al.*, sin fecha). La administración de la combinación tilosina/florfenicol (1:2), a dosis de 5 mg/kg de tilosina, ocasiona una buena y rápida absorción, con picos de concentración de 2'28 $\mu\text{g/mL}$, a las tres horas de la administración. La biodisponibilidad (F) fue del 92'6% (Kim *et al.*, 2010).

Revisión bibliográfica

En vacas, ha sido descrita una absorción lenta de tilosina base tras administración intramuscular, con una biodisponibilidad del 16.9% a las 7 horas y el 94% del fármaco total absorbido a las 24 horas (Nouws y Ziv, 1977b).

Otros estudios señalan una absorción más rápida. Así, tras la administración intramuscular de tilosina se han obtenido valores de tiempo máximo (T_{max}) a las 2-4 horas (Sauter *et al.*, 1962; Gingerich *et al.*, 1977) y a las 5-6 horas (Ziv y Sulman, 1973b). En vacas lecheras, la administración de tilosina, a dosis de 17.5 mg/kg por vía intramuscular se ha obtenido una C_{max} de 1.3 µg/mL a las 2h y un valor de AUC de 20.95 µgh/mL (Avci & Elmas, 2014). Baggot (1978), indica una biodisponibilidad intramuscular de tilosina del 70-80%. Tras la administración oral mediante sonda gástrica de 20 mg/kg/12h durante 5 días, se obtuvo una biodisponibilidad de tan solo el 1.7%. Sin embargo, en el mismo estudio, el mismo autor indica, tras la administración intramuscular de 10 mg/kg/día durante 3 días, una biodisponibilidad del 110% (Abdul-Karim, 2006a). La administración subcutánea de Tylan 200 Inyectable® en ganado bovino genera una absorción más lenta que la intramuscular (T_{max} de 1 h y 4.1 h, respectivamente) y la C_{max} (0.89 mg/L), es casi la mitad de la intramuscular (1.80 mg/L). Los valores de t_{1/2} fueron de 6.9 y 16.2 horas, respectivamente y la biodisponibilidad relativa subcutánea respecto a la intramuscular del 113% (Kiorpes, 1993). Este autor obtiene un T_{max} IM mucho más bajo que lo indicado en la ficha técnica de GANADEXIL®.

En terneros, la administración intramuscular de tilosina base (17.6 mg/kg), mostró un T_{max} de 2 h y una C_{max} de 2.07-2.3 µg/mL (van Duyn y Folkerts, 1979). También en terneros, vía intratraqueal de 25 mg/kg de tilosina obtuvo una C_{max} de 5.2-5.8 µg/mL y un T_{max} de 1 hora. En este mismo estudio, la administración intramuscular y subcutánea, llegaron a C_{max} de 2.7-4.7 y 1.25-1.8 µg/mL y T_{max} de 2 y 8 horas, respectivamente (Hjerpe, 1979). En terneros, dosis de 10 mg/kg de Tylan 200® por vía subcutánea e intramuscular, mostró una absorción, un T_{max} y una semivida muy similar (Thomson, sin fecha-a). Sin embargo, la absorción de la sal tartrato es más rápida que la de la base (Thomson, sin fecha-b).

Un estudio farmacocinético comparativo entre bovinos y búfalos (*Bubalus bubalis*) indica que no existen diferencias significativas en la cinética de la tilosina administrada por vía intramuscular (como tartrato) a una dosis de 10 mg/kg, mucho más baja que la reportada previamente en bovinos (Tabla 3), aunque con C_{max} más bajas (0.65 µg/mL en bovinos a 1 hora y 0.47 µg/mL en búfalos a 0.85 horas) en ambas especies (Saurit *et al.*, 2002).

Revisión bibliográfica

En camellos, tras la administración intramuscular de 20 mg/kg de tilosina, se obtienen una Cmax de 1'16 y 0'62 (en privación de agua) µg/mL, a Tmax de 0'5 y 1'5 h, respectivamente. La biodisponibilidad es del 88%, que se reduce al 41% en caso de privación de agua (Ziv *et al.*, 1995).

En pequeños rumiantes, la administración intramuscular de tartrato de tilosina a dosis de 15 mg/kg, ocasionó Cmax de 2.08 µg/mL (cabras nubias) y 2.58 µg/mL (ovejas del desierto) con Tmax de 3.8 y 3.3 horas, respectivamente. Las biodisponibilidades fueron del 84% en cabras y del 73% en ovejas (Taha *et al.*, 1999). Otro estudio señala una biodisponibilidad intramuscular más baja en cabras, del 72,6%, (Atef *et al.*, 1991). En ovejas también se ha reportado una Cmax de 198 µg/mL a las 0'9 h y un AUC de 1947'8 µgh/mL (Sana-Shaddad *et al.*, 2007). Al-Wabel (2007), tras la administración intramuscular en ovejas, indica una Cmax de 0'63 µg/mL, un Tmax de 1'33 h, un AUC de 3'0 µgh/mL.

En conejos, la administración intramuscular de 10 mg/kg de tilosina en solución acuosa ocasiona Cmax de 0,57-0,88 µg/mL a las 1,5 horas. En un estudio con solución acuosa y en PEG-200, a igual dosis, se obtuvieron Cmax de 4.7-7.2 µg/mL y 0.96-1.25 µg/mL, respectivamente, a la hora de la administración (van Leeuwen, 1991).

En el cerdo, la inyección intramuscular de tilosina, a una dosis de 10 mg/kg, ocasionó Cmax de 0.4-1.9 µg/L, que se alcanzaron entre las 0.3-3 horas y la biodisponibilidad fue del 95% (Prats *et al.*, 2002a). Según la ficha técnica de Bilovet 200 mg/mL solución inyectable para bovino y porcino®, en cerdos, *tras la inyección intramuscular de 8,8 mg/kg de peso corporal, se registraron niveles de tilosina de 1,4 a 1,6 µg/mL y de 2,2 a 6,7 µg/L respectivamente, en el suero y en el tejido pulmonar. 12 horas después de la inyección, aún había cantidades mensurables de tilosina tanto en el suero como en el tejido pulmonar. En todos los momentos de muestreo, las concentraciones de tilosina fueron mayores en el tejido pulmonar que en el suero.* En un estudio en que se administró una combinación de tilosina/florfenicol (1:2) por vía intramuscular en cerdos, a dos niveles de dosis, se obtuvieron valores de Cmax de 1'31 y 2'71 mg/kg con dosis de 2'5 y 10 mg/kg, respectivamente. El Tmax resultó ser de 2'36 y 2'57 h, y el AUC de 14'1 y 25'8 µgh/mL, respectivamente (Kim *et al.*, 2008).

En aves, la inyección intramuscular de tilosina en propilenglicol al 50%, a dosis de 15-25 mg/kg en codornices, palomas, grullas y emús ocasionó Cmax de 4'31, 5'63, 3'62 y

3'26 µg/mL, respectivamente. El T_{max} estuvo comprendido entre 0'5 a 1'5 h (Locke et al., 1982). Según la ficha técnica de ASMOSERINE®, *la absorción de tilosina tartrato en aves es rápida en el intestino. Tiene una biodisponibilidad oral entre 30-34% de la dosis administrada.* La administración oral de tilosina en agua de bebida (Tylan® soluble) y en alimento (Tylan® premix) en pollos, ocasionó unas C_{max} de 0,4 g/mL y 0'2 g/mL, respectivamente, y una T_{max} de 2 horas en ambos casos (Lacoste, 2003; Abdul-Karim, 2006b). Las biodisponibilidades fueron del 11% y del 7% (Lacoste, 2003), respectivamente, sin embargo, Abdul-Karim (2006b) indica valores de F del 3% y del 8%, respectivamente. En un estudio que compara la sal fostato con el tartrato de tilosina administrados por vía oral en pollos, se indican valores de 0'18 y 044 µg/mL de C_{max}, de 1'31 y 1'33 h de T_{max}, y de 13'74% y 27% de biodisponibilidad (Li et al., 2013). En otro estudio que compara dos formulaciones (Tylosina® y Tylan®), administradas por vía oral en pollos a dosis de 25 mg/kg, se obtienen unas C_{max} de 2'63 (Tylosina®) y 2'36 (Tylan®) µg/mL, a unos T_{max} de 1'99 y 2'67 h respectivamente. Los valores de AUC reportados en este estudio son 6'38 y 5'57 µgh/mL, y las biodisponibilidades del 40'56% y del 35'41%, respectivamente (Abu-Basha et al., 2012). Kowalski & Pomorska (2006), también comparan dos formulaciones orales (solución de tilosina al 20% y Tylan® polvo soluble) de tilosina en pollos, obteniendo una C_{max} de 403 ng/mL a las 3h, con ambas formulaciones y unos valores de AUC de 2303'5 y 2223'1 ngh/mL, respectivamente.

En un estudio llevado a cabo en ponis, vacas y cerdos, las C_{max} se obtuvieron entre las 2-4 horas tras la administración intramuscular (Sauter et al., 1962).

En general, la biodisponibilidad oral de tilosina es baja (ratas, perros y ganado vacuno), y en cerdos, del 22,5%, mayor. La C_{max} se alcanza rápidamente en la mayoría de las especies: 1-2 horas.

En truchas, la C_{max} obtenida, tras orales en el pienso de dosis de 40 mg/kg/día, es de 4'1 µg/mL y el T_{max} es de 2'7 h (Nieto, 2015).

2.2.1.11. Parámetros farmacocinéticos.

En ratas, presenta un V_d de 2.2 L/kg (Duthu, 1985), un valor parecido a los obtenidos en otras especies animales (Lewicki, 2006). La eliminación de la tilosina es rápida, con t_{1/2} = 0'4 h y Cl = 86 mL/min/Kg (Duthu, 1985). En ratón se obtuvo un Cl de 70,9 mL/min/kg (Cacciapuoti et al., 1990).

Revisión bibliográfica

En perros, tras una dosis única intravenosa de tilosina, se obtuvieron valores de 1,7 L/kg para el volumen de distribución (V_d), de 21,9 mL/min/kg para el aclaramiento (Cl) y de 0,9 horas para la semivida ($t_{1/2}$) (Weisel *et al.*, 1977).

En porcino la semivida de la tilosina descrita es de 4'52 h, el Cl es de 26'8 mL/min/kg y el V_d de 14'6 L/kg (Prats *et al.*, 2002a).

En pollos la semivida es de 0'52 h (Kowalski *et al.*, 2002) y Lacoste (2003), tras ajustar a un modelo tricompartmental, indica valores de semividas para las fases alfa, beta y gamma de 1'6h, 1'26 h y 35 h, respectivamente, y un MRT de 5 h para la tilosina A. En otro estudio se indica una semivida de 2'06 h y un MRT de 0'91h (Abu-Basha *et al.*, 2012). En un estudio que compara la sal fostato con el tartrato de tilosina en pollos, se indican valores de 1'04 y 1'16 h de semivida (Li *et al.*, 2013). Los valores de aclaramiento descritos son de 5'3 (Kowalski *et al.*, 2002), de 136 mL/min/kg (Abdul Karim, 2006b) y de 28'29 mL/min/kg (Abu-Basha *et al.*, 2012). Los V_d indicados son de 0'69 (Kowalski *et al.*, 2002), 8'6 (Abdul Karim, 2006b) y de 4'87 L/kg (Abu-Basha *et al.*, 2012). Abdul Karim (2006b) señalan una C_0 de 8'7 $\mu\text{g/mL}$. En un estudio que compara la sal fostato con el tartrato de tilosina en pollos, se indican valores de 1'09 y 0'94 (mg/kg)/($\mu\text{g/mL}$) de V_{ss} , de 1'71 y 1'61 (mg/kg/h)/($\mu\text{g/mL}$) de Cl, y de 9'61 y 9'89 $\mu\text{gh/mL}$ de AUC para el fostato y el tartrato, respectivamente (Li *et al.*, 2013).

En truchas, la administración oral con el pienso ha sido estudiada por Nieto (2015). Encuentra, tras 5 días administración de dosis de 40 mg/kg/día, un mejor ajuste a un modelo bicompartimental y señala valores de 1'38 h para la semivida de absorción, de 5'57 h para la semivida de eliminación y un AUC de 38'15 mgh/L. Con el valor de K_{10} que señala, hemos calculado un valor de MRT ($1/K_{10}$) de 4'9 h.

En rumiantes, las semividas descritas son las siguientes:

En vacas: 1'62 h (Baggot y Gingerich, 1976; Gingerich, 1977), 2'14 h (Ziv & Sulman, 1972 y 1973), 2'77 h (tartrato, Cester *et al.*, 1993) 2'32 h (vacas en fase lútea, Burrows *et al.*, 1983) y 10'9-12'7 h (Abdul-Karim, 2006a).

En terneros: 0'95 h (con dos días de edad) y 1'53 (con dos semanas de edad) (Burrows *et al.*, 1983), 1'22 h (con dos semanas de edad) y 0'84 h (con seis semanas de edad) (Burrows *et al.*, 1986).

Revisión bibliográfica

En camellos: 0'92 h y 1'52 h con neumonía (Ziv *et al.*, 1995).

En ovejas: de 2'05 h (Ziv & Sulamn, 1972 y 1973) a 4'75 h (Taha *et al.*, 1999).

En cabras: de 3'04 h (Atef *et al.*, 1991) a 4'24 h (Taha *et al.*, 1999).

En cuanto al aclaramiento:

Los valores (en mL/min/kg) descritos en vacas son de 7'8 (Baggot & Gingerich, 1976), 7'43 en vacas con mamitis y 8'78 en vacas en celo (Cester *et al.*, 1993), 24' 5 en vacas en celo (Burrows *et al.*, 1983) y de 10-23 (Abdul-Karim, 2006a).

En terneros se han descrito valores, en las mismas unidades, de 42'2 a los dos días de edad; en terneros con 2 semanas de edad de 37 (Burrows *et al.*, 1983) y 23'7 (Burrows *et al.*, 1986) y en terneros con 6 semanas de 26'4 (Burrows *et al.*, 1986).

En ovejas el CI es de 6'89 (Taha *et al.*, 1999).

En cabras se han descrito valores de 6'8 (Atef *et al.*, 1991) y 8'66 (Taha *et al.*, 1999).

En camellos de 239'28 y de 39'73 cuando están privados de agua (Ziv *et al.*, 1995).

En truchas, teniendo en cuenta los datos de AUC y dosis del estudio de Nieto (2015), según nuestros cálculos, le correspondería un CI de 1'09 L/h/kg.

Los valores de Vd, en L/kg, descritos en las siguientes especies son:

En bovinos son de 2'01-3'49 (Abdul-Karim, 2006a), 1'1 (Baggot & Gingerich, 1976; Gingerich *et al.*, 1977), 1'56 (Ziv & Sulman, 1972 y 1973), 1'84 en vacas con mamitis y 2'27 en vacas en celo (Cester *et al.*, 1993), 4'4 en vacas en fase lútea (Burrows *et al.*, 1983). En terneros, valores de 3'52 con dos días de edad, (Burrows *et al.*, 1983); de 5'68 (Burrows *et al.*, 1983) y 2'48 (Burrows *et al.*, 1986) con dos semanas de edad; y de 1'91 en terneros con 6 semanas de edad.

En ovejas se han indicado valores de 1'59 (Ziv & Sulmam, 1972 y 1973) y 2'74 (Taha *et al.*, 1999).

En cabras, los valores reportados son 3'12 (Taha *et al.*, 1999) y 1'7 (Atef *et al.*, 1991).

En camellos el Vd es de 11'93 y 3'88 en privación de agua (Ziv *et al.*, 1995). En búfalos se ha encontrado un valor de 1'91 (Saurit *et al.*, 2002).

En truchas, hemos calculado, a partir de los datos ofrecidos por Nieto (2015) un valor de V_{ss} ($V_{ss} = CL \cdot MRT$) de 5'4 L/kg.

Abdul-Karim (2006a), tras la administración de 10mg/kg IV en bovino, indican valores de C_0 de 16,9-31'3 $\mu\text{g/mL}$, 16'8 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ de AUC y de 7,4 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ de AUC_{0-24h}.

La unión a proteínas plasmáticas es del 40% (GANADEXIL®) y del 33'5-44% (Ziv & Sulman, 1972 y 1973) en vacuno, en oveja es del 38-45'4% (Ziv & Sulman, 1972 y 1973), en cabras del 37'6% (Atef *et al.*, 1991), en camellos del 38'6-47'7% y del 26'8-45'8% en caso de privación de agua (Ziv *et al.*, 1995) y en pollos del 30% (Kowalski *et al.*, 2002).

2.3. USO DE INFLIXIMAB.

La etiopatogenia de la EII no se conoce con exactitud actualmente. Según diversos estudios, la hipersensibilidad del tejido linfático intestinal a los antígenos intestinales contribuye de forma importante en la enfermedad, siendo uno de los factores responsables de la inflamación del tracto intestinal como resultado de la activación de linfocitos T auxiliares, linfocitos B y la producción de citocinas proinflamatorias (Mancho *et al.*, 2010; Jergens y Simpsons, 2012).

A la vez que va avanzando el conocimiento de la patogenia de esta enfermedad, se han ido desarrollando terapias biológicas nuevas y más específicas que han demostrado ser más efectivas que otras terapias en uso (Travassos y Cheifetz, 2005). Dentro de estas nuevas terapias se incluyen los anticuerpos monoclonales.

En veterinaria se han introducido, dentro del arsenal terapéutico, anticuerpos monoclonales e inhibidores de la Janus quinasa (JAK). Estos últimos pueden inhibir la función de varias citoquinas proinflamatorias o que tienen una función en la respuesta alérgica/prurito, dependientes de la actividad enzimática JAK. En veterinaria se ha registrado un anticuerpo monoclonal, el lokivetmab, y un inhibidor JAK, el oclacitinib, para el tratamiento del prurito asociado a dermatitis y en el tratamiento de las manifestaciones

Revisión bibliográfica

clínicas de la dermatitis atópica en perros (Fichas técnicas del Cytopoint® -lokivetmab-y del Apoquel®-oclacitinib-).

Según la ficha técnica de Cytopoint®, *el Lokivetmab es un anticuerpo monoclonal caninizado (mAb) específicamente dirigido a la interleuquina canina IL-31. El bloqueo de IL-31 por lokivetmab previene la unión de IL-31 a su co-receptor y, por tanto, inhibe la señal celular mediada por IL-31 proporcionando alivio del prurito asociado a la dermatitis atópica y actividad antiinflamatoria. El lokivetmab ha demostrado, en perros con dermatitis atópica, un efecto favorable en la reducción del prurito y de la gravedad de la enfermedad evaluada mediante el Índice de Extensión y la Gravedad de la Dermatitis Atópica Canina (CADESI) 03. Un pequeño número de perros mostró ausencia o baja respuesta clínica al lokivetmab. Probablemente esto es debido al mecanismo de acción múltiple de lokivetmab en el contexto de una enfermedad compleja y una patogenia heterogénea.*

Sin embargo, estos productos son más específicos de trastorno cutáneos y quizá no afecten de forma significativa al factor de necrosis tumoral proinflamatorio alfa (TNF α) ni a la reducción de células proinflamatorias que expresan TNF α .

El infliximab es un anticuerpo monoclonal modificado genéticamente que se dirige al factor alfa de necrosis tumoral proinflamatorio (TNF α) y representa la primera terapia biológica efectiva para la EII y ha revolucionado en gran medida el tratamiento de esta enfermedad en la especie humana (Travassos y Cheifetz, 2005). Inicialmente, el infliximab se desarrolló para usarse en pacientes con enfermedad de Crohn luminal o fistulizante luminal (CD) de moderada a grave que son refractarios a la terapia médica estándar. Además, hay algunos datos que respaldan su uso como agente ahorrador de esteroides y el tratamiento de diversas manifestaciones extraintestinales de la EII (Travassos y Cheifetz, 2005). Por lo tanto, también podría tener un uso potencial, y más específico que otros fármacos, en el tratamiento de la EII canina. El interés en la medicina veterinaria con respecto al infliximab está relacionado con el tratamiento de diversas formas de EII en perros que son intolerantes a las terapias disponibles o bien no responden a las mismas.

En general, en medicina humana, el infliximab representa una terapia clínicamente útil y rentable que funciona bien, a pesar de que se requiere un control cuidadoso del paciente para evitar toxicidades raras pero significativas (Travassos y

Cheifetz, 2005). Aunque la terapia biológica tiene un papel importante en el tratamiento de la EII, el uso de estos medicamentos se resiste debido al temor a sus efectos secundarios y al coste del tratamiento (Rogler *et al.*, 2012; Simian *et al.*, 2013).

Recientes estudios han demostrado la eficacia de la terapia con infliximab tanto en EC como en CU, logrando cumplir los objetivos del tratamiento en estas patologías (Feagan *et al.*, 2012; Triantafillidis *et al.*, 2011; Sandbor *et al.*, 2009; Sandbor *et al.*, 2013; Danese *et al.*, 2013). En conclusión, la utilización de infliximab en pacientes con EII tiene un efecto importante en la mejora y evolución de la enfermedad y, su uso prolongado, parece ser seguro y eficaz (Simian *et al.*, 2013).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio es evaluar la seguridad y la farmacocinética de este fármaco en el perro con el fin de establecer un protocolo de administración seguro y su posible uso en la EII canina.

2.3.1. Infliximab.

Los anticuerpos monoclonales son proteínas sintéticas que se pueden unir a diversas sustancias orgánicas, incluidas las células cancerosas. Existe una gran variedad de anticuerpos monoclonales. En general, un anticuerpo monoclonal se sintetiza para unirse a una sustancia concreta y son utilizados, también para tratar algunos tipos de cáncer, bien solos o para transportar fármacos, toxinas o sustancias radiactivas directamente a las células cancerosas.

En la primera mitad del siglo pasado, Landsteiner identifica los anticuerpos y, junto con Pauling, indica que los antígenos determinan la conformación de los anticuerpos acomodándola a su estructura, lo que se conoce como teoría instruccionalista. También se descubre que son los linfocitos B y las células plasmáticas los que producen los anticuerpos y se identifican las inmunoglobulinas A, D y E (García-Merino, 2010).

Revisión bibliográfica

A mitad de siglo pasado, se propuso que los anticuerpos estaban presentes en el organismo y que los antígenos tan solo seleccionan los más adecuados (Jerne, 1955). Unos años más tarde se presenta la teoría de la selección clonal completa según la cual, cada linfocito B produce un solo tipo de anticuerpo con una especificidad concreta y se genera mediante mutaciones al azar ocurridas en el proceso de maduración celular. La exposición a un antígeno hace que ese linfocito B prolifere (Burnett, 1957).

Más tarde, se describe el concepto de idiotipo (*Determinante individual que diferencia una molécula, de un anticuerpo concreto, de cualquier otro anticuerpo, con diferente especificidad antigénica. El **idiotipo** de un anticuerpo reside en el sitio de unión para el antígeno, es decir, en la región hipervariable de la inmunoglobulina.* -Según el diccionario médico de la Clínica Universitaria de Navarra-) y, posteriormente se enuncia la teoría de las redes de idiotipos/antiidiotipos. Sin embargo, es en 1975 cuando se instaura una auténtica revolución en el mundo de los anticuerpos con el descubrimiento de los anticuerpos monoclonales por Milstein y Köhler. Algo más tarde, se describe la recombinación somática de los genes de inmunoglobulinas (Tonegawa, 1983).

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) es un mediador de la inflamación y modula la respuesta inmunitaria celular y que parece estar implicado en la EII, por lo que la terapia biológica juega un rol fundamental, controlando los factores proinflamatorios y logrando la remisión rápida y efectiva, y su mantenimiento en el tiempo (Simian *et al.*, 2013).

Actualmente hay cuatro fármacos biológicos antifactor necrosis tumoral (anti-TNF α) aprobados para su uso en EII: infliximab, adalimumab, certolizumab y golimumab (Quera, 2012; Sandbor *et al.*, 2013).

2.3.1.1. Estructura química.

Una molécula de anticuerpo está constituida por 4 cadenas, 2 ligeras y 2 pesadas, cada una de ellas idéntica, que se encuentran unidas por puentes disulfuro que determinan una estructura espacial en forma de Y. Los anticuerpos reconocen y se unen a los

antígenos mediante los extremos aminoterminales de las cadenas, y llevan a cabo una función efectora mediante el extremo carboxiterminal de las cadenas pesadas (Figura 4).

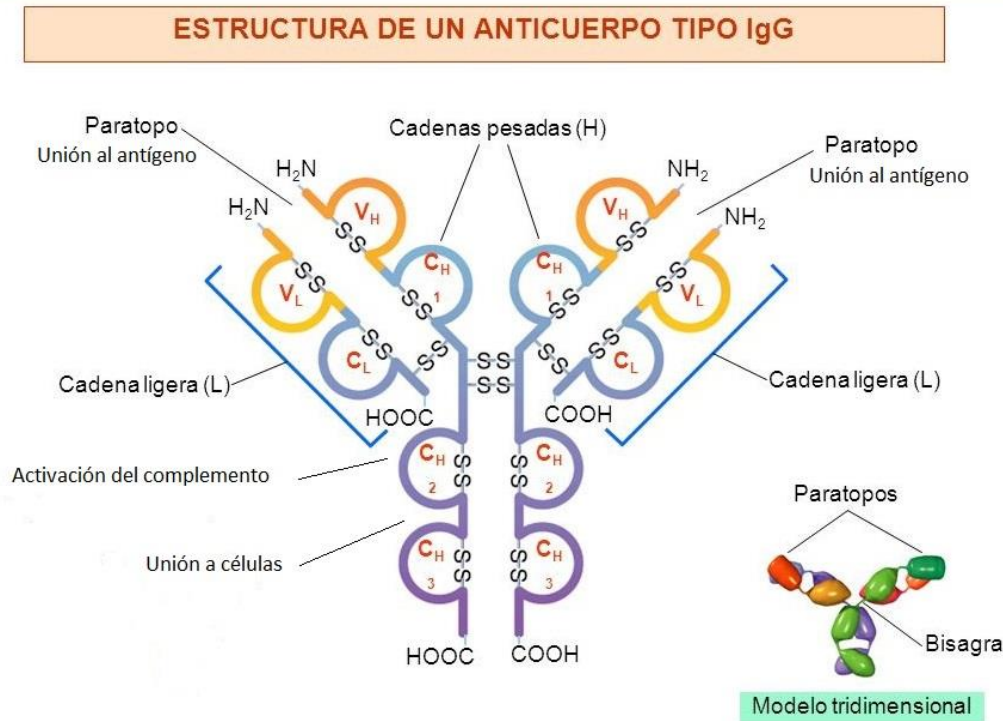


FIGURA 4. Estructura química de un anticuerpo (tipo IgG).

La especificidad radica en la porción variable de las cadenas ligeras. Estas poseen, además, una región constante diferente según se trate de cadenas ligeras κ o λ .

Las cadenas pesadas también poseen una región variable y una región constante. Esta última determina las clases o isotipos principales de inmunoglobulina (Ig): γ (IgG), μ (IgM), α (IgA), δ (IgD) y ϵ (IgE). Además, existen, en el caso de las IgA e IgG varias subclases: 4 subclases de IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) y 2 de IgA (IgA1 e IgA2). Las propiedades de las Ig dependen de cada clase y subclase.

Existen dos sitios de unión al antígeno en cada Ig, constituidos por la yuxtaposición de las cadenas ligeras y pesadas.

En la estructura de las cadenas existen secuencias repetidas de 110 aminoácidos con un pliegue beta denominados dominios, de forma que las cadenas ligeras y pesadas

tienen 1 dominio en la región variable y, en la región constante, las cadenas ligeras poseen 1 dominio y las cadenas pesadas tienen 3 o 4 según la clase de Ig.

En las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas existen 3 segmentos hipervariables de 10 aminoácidos yuxtapuestos que forman el sitio de unión al antígeno, y que se denominan CDR 1, 2 y 3 y son complementarios a su secuencia. De ellos, el CDR3 es el más variable. Estas estructuras forman en la superficie de los anticuerpos bucles con los que interactúan con los antígenos. El resto del dominio variable se llama FR.

Entre los dominios CH1 y CH2 de la cadena pesada existe una zona llamada bisagra que dota a la molécula de flexibilidad, permitiendo que un acoplamiento espacial adaptable.

Las Ig son producidas por las células B, que expresan en la membrana moléculas de IgM e IgD durante su etapa madura. Al activarse, comienza una producción de Ig de baja tasa, cambia el isotipo y comienza la maduración por afinidad. En la etapa de célula plasmática se produce una elevada secreción de Ig de alta afinidad con escasa presencia de Ig de membrana.

Las Ig se secretan como monómeros, excepto la IgA, que forma dímeros, y la IgM, que forma pentámeros.

En el control de la diversidad de los anticuerpos se distinguen dos etapas básicas:

- 1) La recombinación somática, en que se combinan distintos segmentos génicos de las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas, formando un gen responsable de la secuencia de AA de la porción variable de la molécula de Ig, que da lugar a una muy elevada diversidad de moléculas en lo que se llama repertorio primario de anticuerpos,
- 2) Una hipermutación somática durante la respuesta a antígenos, que corresponde a mutaciones puntuales de la secuencia variable una vez formada ésta y que terminan permitiendo una mayor afinidad de unión.

Revisión bibliográfica

Conforme va madurando la respuesta inmune, se produce un cambio de isotipo por el que cualquiera de los segmentos constantes de las Ig puede combinarse con el segmento variable reordenado, lo cual dota de las características efectoras finales a la molécula de Ig.

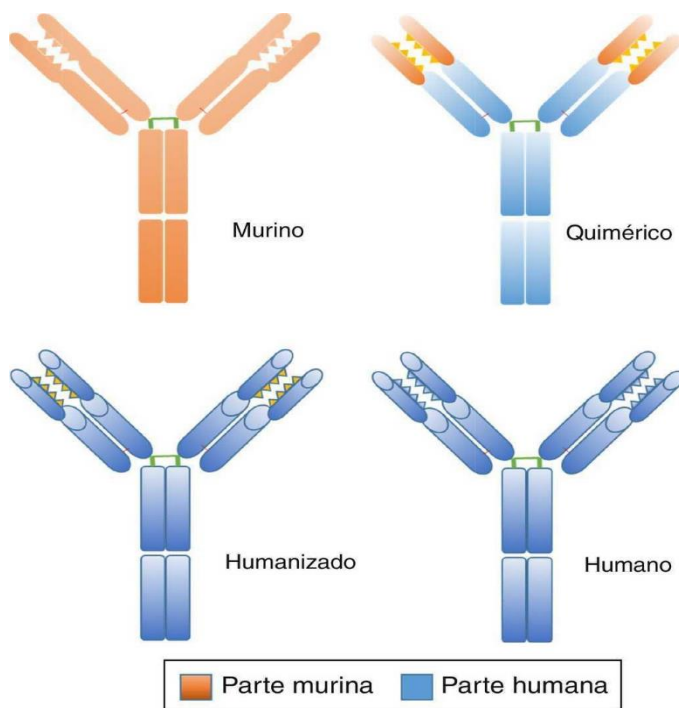
Los linfocitos B, al contrario que los linfocitos T, son capaces de reconocer un gran número de antígenos y el contacto con ellos será necesario para su activación. Van a ser las IgM e IgD, que se localizan en la membrana de los linfocitos B, las que actúan como receptores de antígeno. En el caso de antígenos proteicos, va a ser necesaria la actuación de los linfocitos T para la activación de los B, pero no con los antígenos no proteicos.

Durante la activación y maduración de las células B, se produce su migración a los folículos de ganglios linfáticos y del bazo, siendo ahí donde maduran mediante una hipermutación somática que les confiere cada vez mayor afinidad por el antígeno. Las más afines al antígeno son las que finalmente sobreviven y, migran hacia órganos linfáticos secundarios. Algunas de estas células permanecen como células B de memoria recirculando entre los ganglios linfáticos y el bazo.

Cada clon de células plasmáticas produce un solo tipo de anticuerpo. Cuando la cantidad de anticuerpo producida es suficiente se produce una retroalimentación negativa de la activación.

Milstein y Köhler (1975) fueron los descubridores de los anticuerpos monoclonales al investigar los mecanismos moleculares responsables de la producción de la gran diversidad de anticuerpos. Para ello, produjeron una célula B inmortal con especificidad conocida, en la que analizaron las mutaciones de los genes de las Ig, fusionando una línea celular de mieloma murino con células de bazo de un animal inmunizado. La importancia de este estudio es enorme, ya que permite disponer de cantidades ilimitadas de anticuerpos con especificidad concreta. Por ello, recibieron, junto a Jerne, el Premio Nobel de Medicina en 1984.

En 1982 se utilizaron en la terapéutica del linfoma en la especie humana (Miller *et al.*, 1982) y se observó la producción de anticuerpos humanos antimurinos, que generaban un fenómeno de tolerancia que disminuía la eficacia de tratamientos ulteriores. Para evitarlo se desarrollaron diversas alternativas, siendo las más utilizadas la quimerización (Morrison *et al.*, 1984) y la humanización (Gorman & Clark, 1990). Actualmente, prácticamente el 50% de los anticuerpos monoclonales utilizados en medicina humana son de estos dos tipos (García-Merino, 2011).



Los anticuerpos monoclonales quiméricos (Figura 5) tan solo tienen la región variable de origen murino y el resto de las cadenas ligeras y pesadas son de origen humano (Morrison *et al.*, 1984). Los anticuerpos humanizados (Figura 5) tienen solo las regiones hipervariables de las cadenas ligeras y pesadas de origen murino (Gorman & Clark, 1990; Mountain & Adair, 1992).

FIGURA 5. Anticuerpos monoclonales murino, quimérico, humanizado y humano.

Infliximab es un anticuerpo monoclonal quimérico contra el factor de necrosis tumoral TNF- α , uniéndose a la porción TNF unida a membrana y circulante, lo que provoca una reacción de citotoxicidad celulomediada y un aumento de la muerte celular activada por linfocitos T (Bosani *et al.*, 2009; Orlando *et al.*, 2010). Su estructura se representa en la Figura 6.

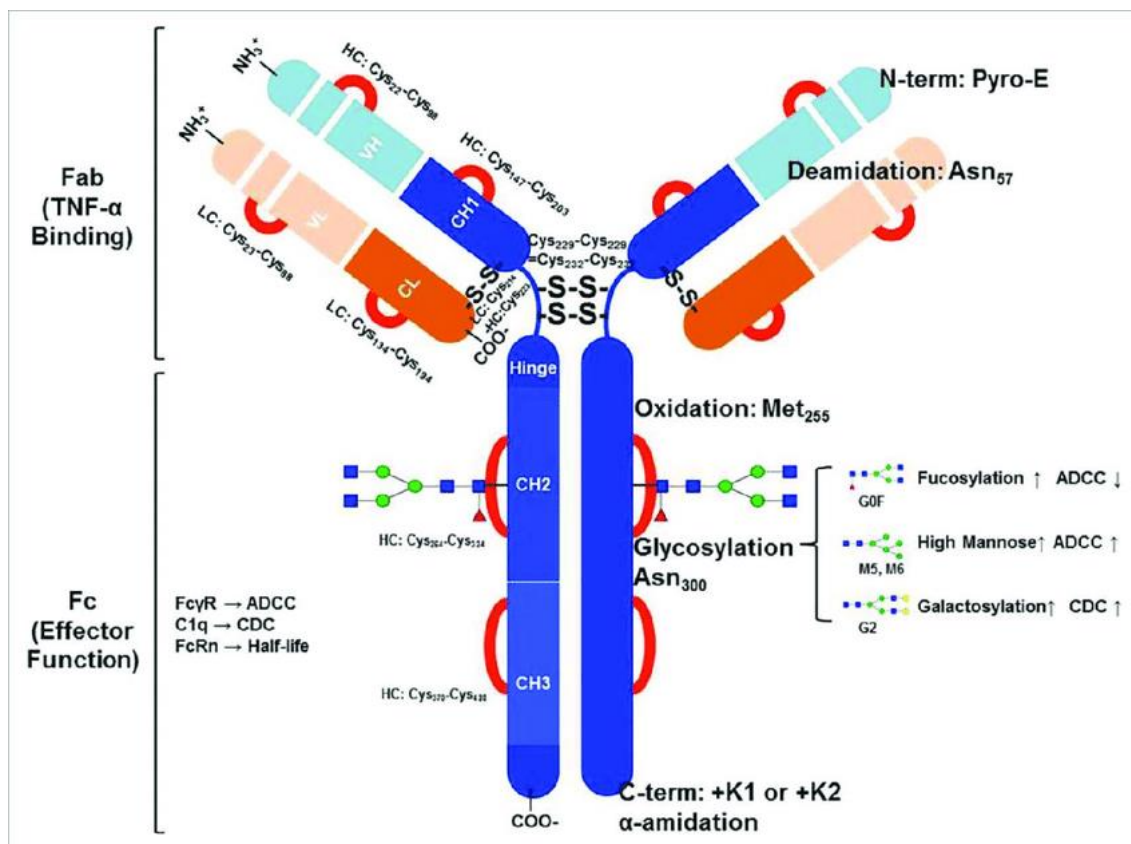


FIGURA 6. Estructura química del infliximab (tomado de Hong *et al.*, 2016)

2.3.1.2. Mecanismo de acción.

Como se ha comentado, el infliximab se une con alta afinidad tanto a la forma soluble como a la de membrana del TNF α , pero no a la linfoxina β (TNF β), y neutraliza sus actividades biológicas (Hong *et al.*, 2016; Ficha técnica Remicade®).

Infliximab se une rápidamente al TNF α formando complejos estables e impide que éste pueda acceder a sus receptores en la superficie celular. De esta manera reduce o inhibe la respuesta celular mediada por el receptor TNF por lo que reduce la inflamación (Remicade, 2016).

El TNF α se encuentra en articulaciones de pacientes con artritis reumatoide y su presencia está correlacionada con la gravedad de la enfermedad. En estos pacientes, el tratamiento con infliximab reduce la infiltración de células inflamatorias en las áreas inflamadas de la articulación y la expresión de las moléculas que median la adhesión celular, quimioatracción y degradación tisular. Infliximab ocasiona en estos pacientes, tras

el tratamiento, una disminución de los niveles de interleuquina 6 (IL-6) sérica y proteína C reactiva (PCR). También ocasiona un aumento de los niveles de hemoglobina en aquellos pacientes que presentaban un valor disminuido.

El tratamiento con infliximab en pacientes con psoriasis, ocasiona una disminución de la inflamación epidérmica y una normalización de la diferenciación de los queratinocitos en las placas psoriásicas. En la artritis psoriásica, reduce el número de células T y vasos sanguíneos en la sinovial y en la piel psoriásica.

El infliximab ocasiona en el intestino una reducción sustancial del TNF α detectable, de la PCR y del número de células mononucleares capaces de expresar TNF α e interferón α en la lámina propia de la mucosa intestinal. También reduce la infiltración de células inflamatorias en el intestino. Se ha demostrado, mediante endoscopia de la mucosa intestinal, la remisión en pacientes con EII tratados con infliximab.

Sin embargo, el mecanismo de acción de infliximab no es aún bien conocido. La neutralización del TNF α soluble es claramente insuficiente, ya que medicamentos como etanercept (proteína de fusión p75) y onercept (receptor p55), que se unen al TNF α de manera muy eficaz, no tienen actividad clínica. El efecto del infliximab probablemente sea debido a la eliminación de células inflamatorias que expresan TNF α en sus membranas (Baert *et al.*, 1999) principalmente por inducción de apoptosis de células T y monocitos (Lugering *et al.*, 2001; ten Hove *et al.*, 2003; Van den Brande *et al.*, 2003; Ringheam *et al.*, 2003).

2.3.1.3. Indicaciones.

Infliximab está registrado para uso humano en nuestro país. Pertenece al grupo farmacoterapéutico “Inmunosupresores, inhibidores del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α)” y su código ATC es L04AB02.

Según ficha técnica de Remicade®, las indicaciones son las siguientes:

Artritis reumatoide:

En combinación con metotrexato, está indicado en la reducción de los signos y síntomas, así como en la mejoría de la función física en:

Revisión bibliográfica

- *Pacientes adultos con enfermedad activa, cuando la respuesta a los medicamentos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME), entre ellos el metotrexato, ha sido inadecuada.*
- *Pacientes adultos con enfermedad grave, activa y progresiva no tratados previamente con metotrexato u otros medicamentos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME).*

En estas poblaciones de pacientes, se ha demostrado una reducción en la tasa de progresión del daño articular, medida por rayos X.

Enfermedad de Crohn:

- *Enfermedad de Crohn activa, de moderada a grave, en pacientes adultos y niños y adolescentes entre 6 y 17 años que no han respondido a pesar de un curso de tratamiento completo y adecuado con un corticosteroide y/o un inmunosupresor; o que sean intolerantes o presenten contraindicaciones médicas a dichos tratamientos.*
- *Enfermedad de Crohn activa fistulizante, en pacientes adultos que no han respondido a pesar de un curso de tratamiento completo y adecuado con tratamiento convencional (entre ellos antibióticos, drenaje y tratamiento inmunosupresor).*

Colitis ulcerosa activa, de moderada a grave, en pacientes (niños y adolescentes entre 6 y 17 años y adultos) que han presentado una respuesta inadecuada al tratamiento convencional, que incluye corticosteroides y 6-mercaptopurina (6-MP) o azatioprina (AZA), o que sean intolerantes o presenten contraindicaciones médicas a dichos tratamientos.

Espondilitis anquilosante activa grave, en pacientes adultos que hayan respondido de forma inadecuada al tratamiento convencional.

Artritis psoriásica activa y progresiva, en pacientes adultos cuando la respuesta al tratamiento previo con FAME no ha sido adecuada.

Se debe administrar en combinación con metotrexato o en monoterapia en pacientes que presenten intolerancia al metotrexato o en los que esté contraindicado metotrexato.

Ha demostrado mejorar la función física en pacientes con artritis psoriásica, y reducir la tasa de progresión del daño articular periférico, medida por rayos X en pacientes con subtipos simétricos poliarticulares de la enfermedad.

Psoriasis en placas, de moderada a grave, en pacientes adultos que no han respondido, o que tienen contraindicación, o que son intolerantes a otro tratamiento sistémico, entre ellos ciclosporina, metotrexato o fototerapia (PUVA o PUVAterapia).

2.3.1.4. Posología y vía de administración (Según ficha técnica de Remicade®).

El infliximab se administra en infusión intravenosa durante un periodo de 2 horas. Los pacientes deben mantenerse en observación durante al menos 1-2 horas después de la perfusión debido a las reacciones agudas relacionadas con la perfusión. Se indica que debe estar disponible un equipo de emergencia, que incluya adrenalina, antihistamínicos, corticosteroides y ventilación artificial. Con el fin de disminuir el riesgo de aparición de reacciones relacionadas con la perfusión, se puede tratar previamente a los pacientes, por ejemplo, con un antihistamínico, hidrocortisona y/o paracetamol y se puede disminuir la velocidad de perfusión, especialmente si se han producido previamente reacciones relacionadas con la perfusión.

Posología en adultos (≥18 años):

Artritis reumatoide: 3 mg/kg administrados en perfusión intravenosa seguida de dosis adicionales de 3 mg/kg en perfusión, a las 2 y 6 semanas siguientes a la primera y posteriormente una cada 8 semanas. En caso de respuesta inadecuada, se puede aumentar la dosis en intervalos de aproximadamente 1,5 mg/kg, hasta una dosis máxima de 7,5mg/kg cada 8 semanas. Alternativamente, se puede considerar la administración de 3mg/kg cada 4 semanas.

Enfermedad de Crohn activa, de moderada a grave: 5 mg/kg administrados en una perfusión intravenosa seguida de una perfusión adicional de 5mg/kg 2 semanas después de la primera perfusión. Si un paciente no responde después de 2dosis, no se debe administrar ningún tratamiento adicional con infliximab. Los datos disponibles no justifican prolongar el tratamiento con infliximab, en pacientes que no respondan a las 6 semanas de la perfusión inicial.

- **Mantenimiento:** Perfusión adicional de 5mg/kg a las 6 semanas después de la dosis inicial, seguida de perfusiones cada 8 semanas.
- **Readministración:** Perfusión de 5mg/kg si vuelven a aparecer los signos y síntomas de la enfermedad.

Revisión bibliográfica

Enfermedad de Crohn activa, fistulizante: 5 mg/kg administrados en perfusión intravenosa seguida de perfusiones adicionales de 5 mg/kg a las 2 y 6 semanas siguientes a la primera perfusión. Si un paciente no presenta respuesta después de 3 dosis, no se debe administrar ningún tratamiento adicional con infliximab.

- *Mantenimiento:* Perfusiones adicionales de 5mg/kg cada 8 semanas
- *Readministración:* Perfusión de 5mg/kg si vuelven a aparecer los signos y síntomas de la enfermedad, seguida de perfusiones de 5mg/kg cada 8 semanas.

Colitis ulcerosa: 5 mg/kg administrados en perfusión intravenosa seguida de dosis adicionales de 5mg/kg en perfusión a las 2 y 6 semanas siguientes a la primera perfusión, y posteriormente cada 8 semanas.

Espondilitis anquilosante: 5 mg/kg administrados en perfusión intravenosa seguida de dosis adicionales de 5mg/kg en perfusión a las 2 y 6 semanas siguientes a la primera perfusión, y posteriormente cada 6 a 8 semanas. Si un paciente no responde a las 6 semanas (es decir, después de 2 dosis), no se debe administrar ningún tratamiento adicional con infliximab.

Artritis psoriásica: 5 mg/kg administrados en perfusión intravenosa seguida de dosis adicionales de 5mg/kg en perfusión a las 2 y 6 semanas siguientes a la primera perfusión, y posteriormente cada 8 semanas.

Psoriasis: 5 mg/kg administrados en perfusión intravenosa seguida de dosis adicionales de 5mg/kg en perfusión a las 2 y 6 semanas siguientes a la primera perfusión, y posteriormente cada 8 semanas. Si un paciente no responde después de 14 semanas (es decir, después de 4 dosis), no se debe continuar el tratamiento con infliximab.

Población pediátrica (6 a 17años): No se ha estudiado la seguridad y eficacia de Remicade en niños menores de 6 años con enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa. Por lo que no se puede hacer una recomendación posológica en niños menores de 6 años.

Enfermedad de Crohn: 5 mg/kg administrados en perfusión intravenosa seguida de dosis adicionales de 5 mg/kg en perfusión a las 2 y 6 semanas siguientes a la primera perfusión, y posteriormente cada 8 semanas. Los datos disponibles no justifican un tratamiento posterior con infliximab en niños y adolescentes que no hayan respondido en las primeras 10 semanas de tratamiento. Algunos pacientes pueden requerir un intervalo de dosificación más corto para mantener el beneficio clínico, mientras que para otros pacientes puede ser suficiente un intervalo de dosificación más largo. Los pacientes a quienes se les ha reducido el intervalo de dosificación a menos de 8 semanas pueden tener un mayor riesgo

de reacciones adversas. Se debe considerar detenidamente continuar el tratamiento con un intervalo de dosificación reducido en aquellos pacientes que no presenten evidencia de beneficio terapéutico adicional después de un cambio en el intervalo de dosificación.

Colitis ulcerosa: 5 mg/kg administrados en perfusión intravenosa seguida de dosis adicionales de 5mg/kg en perfusión a las 2 y 6 semanas siguientes a la primera perfusión, y posteriormente cada 8 semanas. Los datos disponibles no justifican un tratamiento posterior con infliximab en pacientes pediátricos que no hayan respondido en las primeras 8 semanas de tratamiento.

Otras enfermedades: No se ha establecido la seguridad y eficacia de Remicade en niños y adolescentes de edad inferior a 18 años para las indicaciones de psoriasis, artritis idiopática juvenil, artritis psoriásica, artritis reumatoide y espondilitis anquilosante.

2.3.1.5. Toxicidad y efectos adversos.

La toxicidad más importante del infliximab es la producción de anticuerpos que pueden dar lugar a reacciones a su perfusión, pérdida de respuesta o tolerancia y enfermedad del suero en infusiones posteriores. Frente a la pérdida de respuesta existen estrategias como son aumentar la dosis de infliximab, acortar los intervalos entre las infusiones (cada seis semanas) o cambiar de terapia biológica (Katz *et al.*, 2012). El aumento de la dosis parece ser la estrategia más eficaz en estos casos (Katz *et al.*, 2012; Simiani *et al.*, 2013).

También puede favorecer la aparición de infecciones latentes, como puede ser una tuberculosis (Hoentjen *et al.*, 2009; Rogler *et al.*, 2012; Van Assche *et al.*, 2011), y la aparición de infecciones oportunistas en pacientes tratados con inmunosupresores. (Rutgeerts *et al.*, 2006; Orlando *et al.*, 2010; Ordás *et al.*, 2011; Rogler *et al.*, 2012).

Otras reacciones adversas que han sido descritas son el aumento en el riesgo de linfoma en enfermedad de Crohn (CD) en asociación a inmunomoduladores (Orlando *et al.*, 2010; Ordás *et al.*, 2011) y, asociado a inmunosupresores, el aumento del riesgo de linfoma hepático de células T en pacientes jóvenes (Orlando *et al.*, 2010). No hay evidencia de que posea actividad carcinógena (Rutgeerts *et al.*, 2006).

Los datos más importantes sobre la seguridad de infliximab vendrán dados por la farmacovigilancia y, conforme crezcan los registros de sospechas de reacciones adversas, se obtendrán datos más fiables. Además, se llevan a cabo estudios y registros de tratamientos que están dando una buena e importante información. En la actualidad existe un gran registro de tratamientos en EEUU, que incluye más de 6000 pacientes, en que la mitad de los mismos han sido tratados con infliximab y la otra mitad con otros medicamentos para la enfermedad de Crohn que no incluyen productos biológicos. Un análisis preliminar muestra que las infecciones graves y la mortalidad en la enfermedad de Crohn se relaciona especialmente con el uso de esteroides y no al uso de infliximab. Hasta la actualidad, la tasa de linfoma o cáncer general no es mayor en la cohorte de pacientes tratados con infliximab que en los pacientes tratados con tratamientos convencionales. Un registro similar se está llevando a cabo en Europa (ENCORE) recogiendo y reclutando pacientes, pero los datos aún no están disponibles (Rutgeerts *et al.*, 2006).

2.3.1.6. Contraindicaciones. (según ficha técnica Remicade®).

Hipersensibilidad al principio activo, a otras proteínas murinas, o a alguno de los excipientes.

Pacientes con tuberculosis u otras infecciones graves como septicemia, abscesos e infecciones oportunistas.

Pacientes con insuficiencia cardíaca moderada o grave (clase III/IV según la clasificación NYHA).

El embarazo, la experiencia clínica disponible es limitada, por lo infliximab sólo se debe usar durante el embarazo si es claramente necesario.

2.3.1.7. Interacciones.

La administración de infliximab junto con inmunomoduladores reduce la incidencia de anticuerpos frente al infliximab y la frecuencia de reacciones a la perfusión. Este efecto es más evidente en pacientes tratados episódicamente que en pacientes en tratamiento de mantenimiento.

Dado que los pacientes que estén utilizando antagonistas del TNF son más sensibles a padecer infecciones graves, no se recomienda la combinación de Remicade con anakinra, con abatacept o con otros tratamientos biológicos.

Los pacientes tratados con infliximab pueden recibir de forma concomitante vacunas, excepto vacunas de microorganismos vivos. Sin embargo, No se recomienda la administración de vacunas de microorganismos vivos (por ejemplo, la vacuna BCG) a los lactantes expuestos al infliximab en el útero durante al menos 6 meses tras el nacimiento.

Con azatioprina (AZA) mejora el porcentaje de pacientes con curación de la mucosa en enfermedad de Crohn activa de moderada a grave.

En artritis reumatoide en adultos, la asociación infliximab/metotrexato mejora los signos y síntomas de la enfermedad.

2.3.1.8. Características farmacocinéticas.

En un estudio reciente, en el que se investiga la modificación de la farmacocinética del infliximab por la presencia de anticuerpos antiinfliximab (ADA), se indica que la farmacocinética de este producto se describe mejor con un modelo bicompartimental y que existe un rápido acceso a tejidos y una lenta eliminación desde el compartimento central (Ehrenpreis, 2017). Esto mismo se ha indicado en pacientes con espondilitis anquilosante (Xu *et al.*, 2008) y en pacientes con IIF o IBD (Rutgeerts *et al.*, 2006). Otros autores han ajustado a modelos monocompartimentales (Passot *et al.*, 2016).

La concentración máxima plasmática (C_{max}) y el área bajo la curva de concentración-tiempo (AUC) de infliximab, son dosis dependientes. A las dosis únicas de 3, 5 o 10 mg/kg, los valores medianos de C_{max} fueron de 77'12 y 277 microgramos/mL, respectivamente (ficha técnica Remicade®). Tras la infusión de una dosis única de 5 mg/kg, la C_{max} fue de 118 µg/mL (Ehrenpreis, 2017).

El infliximab se distribuye principalmente en el compartimento vascular, y tiene un valor de volumen de distribución aparente (V_d) entre 3 y 4'1 L. Moris (2007) indica un valor de V_d de 0'0'5 L/Kg (unos 3'5 L) durante las 2 primeras semanas en pacientes con artritis reumatoide. Según Xu *et al.* (2008), el volumen de distribución en el compartimento central (V_c) es de 3'06 L y el del compartimento periférico (V_p) de 2'94 L, por lo que su V_{ss} sería

de unos 6 L, en pacientes con espondilitis anquilosante (EA). En tanto que Buurman *et al.* (2015) indican valores para V_c y V_p de 4'94L y 3'13 L, respectivamente, lo que corresponde a un V_{ss} de 8'07 L. Otros valores de V_{ss} se muestran en el cuadro 3.

Infliximab atraviesa la placenta humana y accede a sangre fetal, detectándose en la misma hasta 6 meses tras el nacimiento. Esto puede suponer un riesgo importante de infección, que podrían ser diseminadas graves y llegar a ser mortales (ficha técnica de Remicade®).

Según ficha técnica de Remicade®, la semivida ($t_{1/2}$) del infliximab oscila entre valores de 8 y 9'5 días. Otros autores indican valores de 9'5 días (Moris, 2007), de 10 días (Rutgeerts *et al.*, 2006) en pacientes con artritis reumatoide y de 14'3 días (Ehrenpreis, 2017) en individuos sanos. Otros valores de semividas y los valores de aclaramiento (CL) del infliximab comunicados por diversos autores, se muestran en el cuadro 3. Los aclaramientos muestran, en general, valores bajos que oscilan entre 0'19 y 0'38 L/día. La edad y el peso no provocan cambios significativos en el aclaramiento o el volumen de distribución en pacientes con artritis reumatoide (Ficha técnica Remicade®).

Según ficha técnica de Remicade®, se obtienen concentraciones plasmáticas detectables de infliximab durante 8 semanas tras la administración de una dosis única de 5mg/kg (para la enfermedad de Crohn) y de 3mg/kg cada 8 semanas (para la artritis reumatoide como dosis de mantenimiento), y durante 12 semanas (en pacientes con enfermedad de Crohn) tras la pauta posológica.

Sin embargo, Ehrenpreis (2017) indica que, los niveles de infliximab no son detectables en la semana 12 tras la perfusión (mediana concentración <0.1 µg/mL) con la dosis de 5 mg/kg, pero usando una dosis de 10 mg/kg i.v. las concentraciones se mantienen por un período más largo.

La administración repetida de infliximab a las posologías recomendadas, (5mg/kg a las 0, 2 y 6 semanas en la enfermedad de Crohn fistulizante, 3 o 10 mg/kg cada 4 u 8 semanas en artritis reumatoide) tan solo ocasiona una ligera acumulación en plasma tras la segunda dosis, sin ninguna acumulación posterior relevante clínicamente.

No se conocen bien las vías de eliminación del infliximab, pero se sabe que no se detecta inalterado en la orina (Ficha técnica Remicade®).

No se ha estudiado la farmacocinética de infliximab en pacientes de edad avanzada. No se han realizado ensayos en pacientes con enfermedad hepática o renal.

Revisión bibliográfica

Vss (L)	CL (L/día)	T1/2 (días)	Nº de compartimentos	Enfermedad	Referencia
3	0'20	10'9	1	EC/CD	Ternant <i>et al.</i> , 2006
5'5	0'29	20'3	2	IIF/IBD	Ternant <i>et al.</i> , 2008
7'3	0'38	13'4	2	CU/UC	Fasanmade <i>et al.</i> , 2009
4'9	0'38	11'5	2	EC/CD	Fasanmade <i>et al.</i> , 2011
5'8	0'29	14'0	1	EC/CD	Ternant <i>et al.</i> , 2014
3'8	0'38	12'0	2	IIF/IBD	Dotan <i>et al.</i> , 2014
7'1	0'34	15'7	2	EC/CD	Aubourg <i>et al.</i> , 2015
7'95	0'35	15'5	1	IIF/IBD	Passot <i>et al.</i> , 2016
6'0	0'27	15'8	2	EA/AS	Xu <i>et al.</i> , 2008
4'1	0'21	13'8	2	EA/AS	Ternant <i>et al.</i> , 2011
5'4	0'24	15'7	1	EA/AS + AP/PsA	Passot <i>et al.</i> , 2016
5'9	0'32	9'0	2	AR/RA	Ternant <i>et al.</i> , 2014
5'4	0'30	10'5	1	AR/RA	Passot <i>et al.</i> , 2016
8'1	0'19		2	EA/AS	Buurman <i>et al.</i> 2015
3'5		9'5		EA/AS	Moris, 2007
	0'24	10		EA/AS	Rutgeerts <i>et al.</i> , 2006
	0'24	14'3	2	SANOS	Ehrenpreis, 2017
4'8	0'26	14'1			Shin <i>et al.</i> , 2015

CUADRO 3. Valores de Vss, CL y t1/2 del infliximab en individuos sanos y con diversas patologías con EC/CD: Enfermedad de Crohn; IIF/IBD: Enfermedad intestinal inflamatoria; CU/UC: colitis ulcerativa; EA/AS: Espondilitis anquilosante; AP/PsA: Artritis psoriásica; AR/RA: Artritis reumatoide.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Revisión bibliográfica

3.1. TRASPLANTE FECAL

3.1.1. Diseño experimental.

Se realizaron dos grupos de estudios para la realización del trasplante fecal. En ambos grupos se siguieron los mismos protocolos para la realización de la transferencia de microbiota. La razón por lo que se decidió estudiar los pacientes sometidos a trasplante fecal en dos grupos diferentes fue doble, en primer lugar, los pacientes se obtuvieron de dos lugares diferentes. En el primer grupo los pacientes fueron obtenidos del Hospital Veterinario de la Universidad de Murcia, mientras que en el segundo grupo los pacientes se obtuvieron de la clínica veterinaria para pequeñas especies Hinckley Vets4pets (Inglaterra). La segunda razón fue por la diferencia en el equipo al que se tenía acceso en la Universidad y en la clínica privada, pues la Universidad cuenta con endoscopio, pudiendo confirmar el diagnóstico por biopsia.

En el primer grupo se reclutaron perros con enteropatías crónicas (más de 3 semanas de duración) en un análisis retrospectivo de perros diagnosticados de IBD a diferentes niveles (estomago, duodeno o colon principalmente) mediante biopsia endoscópica, una vez descartadas otras causas potenciales de enfermedad digestiva crónica. En todos los casos, los dueños autorizaron la realización de uno o dos TMF y suministraron información sobre la evolución clínica del animal.

El segundo grupo estuvo constituido igualmente por perros con diarrea crónica con respuesta parcial al tratamiento con antibióticos. Debido a que la tilosina no tiene licencia para uso en perros en el Reino Unido, todos los perros fueron tratados inicialmente con metronidazol, y tras la primera recaída se ofreció a los propietarios participar en el proyecto de investigación para lo cual tuvieron que firmar una hoja de consentimiento tras leer los posibles efectos adversos y tras discutir con el clínico responsable los posibles riesgos y beneficios de la transferencia fecal.

Tras la inclusión de los perros en el proyecto de investigación se realizó tratamiento con tilosina 25 mg/kg vía oral durante 21 días y tras 48-72 horas post antibioticoterapia se les realizó la transferencia fecal.

El protocolo para la realización de la transferencia fecal fue exactamente igual en los dos grupos de investigación. Pero los criterios de inclusión variaron levemente, razón de peso para mantener los dos grupos de estudio por separado.

Revisión bibliográfica

La razón por la que no se pudo reproducir con exactitud el proceso de selección-inclusión de los perros en el estudio es debido a que la clínica de pequeñas especies Hinckley Vets4pets no cuenta con endoscopio, equipo que si posee el hospital veterinario de la Universidad de Murcia como se ha explicado previamente. Los pacientes se diagnosticaron tras padecer diarreas crónicas (más de tres semanas) y tras pruebas de sangre completas, con hematología, bioquímica, electrolitos, folato, cobalamina, lipasa y tripsina específicas de perros, junto con estudios parasitarios de heces, directos, por flotación y por sedimentación así como pruebas ELISA para antígeno de *Giardia spp* y cultivo de *salmonella spp*, *campylobacter spp*, así como PCR para detección de *clostridium difficile*. Todos los pacientes además fueron tratados con dieta hipoalergénica proplan® HA y probióticos (fortiflora®), descartando a su vez posibles trastornos de alergias y/o intolerancias alimentarias.

Los casos se seleccionaron a partir de pacientes con enteropatía crónica que respondían a total o parcialmente a tilosina (25 mg/kg/24h) o metronidazol (25 mg/kg/12 h.) durante 1-3 semanas.

Otros animales son casos de enteropatía crónica en lo que sí hay respuesta a antibióticos como tilosina/metronidazol, amoxicilina u otros, y a la terapia convencional, para intentar retirar la antibioterapia a estos perros o reducir la dosis de corticoide tras el trasplante de microbiota fecal (TMF).

En todos pacientes con enteropatía crónica, antes de empezar el estudio se realizaron previamente exámenes copro-parasitológicos (o bien tratamiento con antiparasitarios, no curando al animal) por flotación con sulfato de Zinc, sedimentación, cultivo bacteriano de heces (o bien, haber sido previamente tratado con antibioterapia) y prueba para detección de antígenos de *Giardia spp.*, así como haber probado previamente tratamientos con modificación de dieta a un alimento comercial hipoalergénico (durante unas 2-4 semanas), en este caso la dieta elegida ha sido H/A proplan® (u otras similares z/d Hills, por ejemplo), que tiene como fuente de proteína soja hidrolizada con un tamaño no superior a 18Kda. Finalmente, también podrían haber sido probados tratamientos con probióticos utilizando para tal efecto la composición comercial Fortiflora® que contiene *Enterococcus Faecium* SF68®, a dosis de 5x10⁸ UFC/g.

Todos los animales disponían de analíticas completas, hematología y bioquímica, incluyendo TLI (medición de tripsina inmunoreactiva) que permitían descartar otro tipo de enfermedades metabólicas, tales como insuficiencia renal o hepática, que de manera

secundaria podían afectar al tracto gastro-intestinal. Así mismo, en base a la sintomatología e historia clínica se descartaron animales afectados de cualquier otro tipo de enfermedad que pudiera interferir con nuestro estudio.

Por tanto, los animales seleccionados presentaban una enteropatía crónica no causada por ninguna de las anteriores etiologías descritas, por lo que la biopsia obtenida vía endoscópica, con hallazgo de las células inflamatorias características, nos permite llegar a un diagnóstico de IBD de naturaleza idiopática.

La preparación del paciente para la endoscopia incluía un ayuno de 48 horas (alimento sólido), la administración de una solución laxante oral de glucósidos el día anterior (1 mL/kg), y dos enemas, 12 y 4 horas antes de examen (soluciones de fosfato de sodio; 250 mL). Para la realización de la endoscopia flexible los animales se examinaron bajo anestesia general, utilizando normalmente propofol para la inducción e isoflurano para el mantenimiento. Las muestras que se obtienen mediante la endoscopia, se fijan en formalina, se incluyen en parafina, con secciones de 4 µm de espesor, y se tiñen con hematoxilina y eosina (HE).

Se utilizó un endoscopio flexible modelo Gastroscopio Fujinon EG-410 HR, de 1100 mm (1'1 m) de longitud y 10'5 mm de diámetro (Figuras 7 y 8), y para perros grandes un Colonoscopio Fujinon EC-410 MP, de 1330 mm (1'33 m) de longitud y 11 mm de diámetro. El endoscopio flexible está formado por un fibroendoscopio, fuente de luz, bomba de succión y depósito de agua, además de un equipo de grabación para la recopilación de las imágenes y videos de cada animal.



FIGURAS 7 Y 8. Endoscopio flexible utilizado junto a una imagen del equipo completo de grabación para la recopilación de imágenes y videos.

Hay que señalar que el procedimiento se llevó a cabo en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Murcia, concretamente en una “sala sucia”, dotada de gases para anestesia, es decir, no en un quirófano aséptico.

Antes de iniciar el estudio se realizó una clasificación por puntos de la enfermedad inflamatoria intestinal, siguiendo el “Canine Inflammatory Disease Activity Index” (índice CIBDAI, descrito por Jergens et al. (2003)).

Al terminar el estudio con cada paciente se volvió a repetir el cálculo de la gradación clínica CIBDAI.

Del mismo modo, para el control de la enfermedad se realizó un control de heces antes y después de la infusión.

The WALTHAM® Faeces Scoring System



Reference: Moxham, G. (2001) Waltham faeces scoring system – A tool for veterinarians and pet owners: How does your pet rate? WALTHAM® Focus, 11, 2, 24-25

FIGURA 9. Control del estado de las heces por el sistema WALTHAM Faeces Scoring System.



Clasificada la enteropatía, pasaremos a clasificar las heces.

Para la gradación de las heces, se usó el sistema de puntuación “Waltham® faeces scoring system” que clasifica las heces en 9 grados diferentes en función de la consistencia y humedad del mismo, del 1 al 5 con intervalos de medio punto (Figura 9).

La clasificación waltham® se realizó en 3 ocasiones durante tres días consecutivos, antes del tratamiento con tilosina o inicio del estudio, posteriormente al tratamiento con tilosina y nuevamente tras la transferencia de heces. Se utilizó la media de los 3 días consecutivos. Por lo que se conoció de forma objetiva la consistencia y humedad de las heces antes de iniciar el tratamiento con antibiótico, tras el tratamiento con antibiótico y tras la transferencia de heces.

Para la correcta clasificación de las heces se le pidió al propietario tanto una muestra del mismo como una fotografía realizada en el mismo momento que el paciente defecó y se le pidió además que rellenase un pequeño formulario con las imágenes de la clasificación Waltham. De esta forma la clasificación del excremento se realizó por partida doble, veterinario y propietario, intentando reducir la subjetividad al mínimo.

Una vez tuvimos las puntuaciones de las heces antes y después del tratamiento con tilosina y observamos que no había mejoría, fue el momento de programar las transferencias de heces.

3.1.2. Selección de heces para Trasplante de Microbiota Fecal (TMF)

Las heces para la transferencia procedieron todas del mismo donante, clínicamente sano ya que había sido testado previamente por medio de estudios copro-parasitológicos por sedimentación y flotación con sulfato de zinc, así como prueba ELISA para detección de antígeno contra *Giardia spp.*, y cultivos contra *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.* y *Clostridium difficile*, Carecía de historia de vómitos ni diarrea en los anteriores 6 meses, no había sido sometido a tratamiento antimicrobiano en los últimos 6 meses, y su dieta no incluyó carne cruda. Estaba sometido a un protocolo vacunal y antiparasitario regular y era negativo por cultivo a *Salmonella*, *Campylobacter* y *C. difficile* y ELISA negativo a Giardias, también fue negativo a flotación fecal y frotis dentro de una semana de la recolección.

El excremento se recogió todo al mismo tiempo y fue congelado a -20°C en jeringas de 20 mL cada una para evitar variables en la toma de muestra.

3.1.3. Protocolo transferencia de heces

El protocolo seguido para la realización del TMF fue el siguiente:

1. Los trasplantes se realizan con un mínimo de espera de 48h post antibiótico, para que la tilosina no interfiera en el resultado del mismo.
2. La transferencia de microbiota se realiza en 1-2 ocasiones con un intervalo de 2-6 días entre la primera y segunda aplicación, en función de la respuesta del animal a la terapia y la conformidad del propietario.
3. Previamente a la transferencia de heces (2 horas antes) y tras la misma, se aplica loperamida 0.1mg/kg PV.
4. El paciente estuvo sedado durante la transferencia y se colocó durante 10 minutos en posición ventro-dorsal, 10 minutos en decúbito lateral izquierdo, 10 minutos en posición dorso-ventral, y 10 minutos en decúbito lateral derecho.
5. La sedación se realizó utilizando una combinación de medetomidina (Domtor® 1mg/mL) a dosis de 0'05 mg/10Kg y butorfanol (Torbugesic VET® 10mg/mL) a dosis de 2 mg/10Kg. revirtiendo los efectos de la medetomidina con atipamezol (Antisedan®) tras

finalizar la transferencia de heces. La inducción se realizó con propofol (Propofol Lipuro® 10 mg/mL) a dosis de 5 mg/Kg por vía intravenosa y el mantenimiento con isoflurano (Isoflo®), 1-1'2 CAM, con flujo de gas fresco de 1L/min, usando el sistema anestésico de respiración adaptado a cada animal según su tamaño. Además, se colocó un abrebocas para proteger el endoscopio.

6. La transferencia se realizó por medio de un enema, a dosis de 5 mL/kg, tras dejar descongelar el excremento a temperatura ambiente durante la noche previa a la administración. El enema se realizó con un catéter uretral de perro, tomando como referencia la última costilla del paciente, como punto más distal de inoculación.

7. Tras la primera transferencia se realizaron otras dos (segunda y tercera) con dos días de intervalo entre ellas. Tras la tercera se realizó la última clasificación de la consistencia fecal, observando si existe mejoría clínica. Se realizó a continuación un seguimiento telefónico con el dueño para seguir la evolución del animal y se citó, cuando al paciente cuando se consideró oportuno.

Finalmente hay que indicar que para poder realizar este estudio todos los propietarios recibieron información precisa tanto escrita como oral sobre el mismo, incluyendo los posibles efectos secundarios que podían aparecer. Todos los propietarios firmaron el consentimiento legal previamente a la experiencia.

3.2. ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE TILOSINA E INFLIXIMAB

3.2.1.- Animales

Se utilizó un total de 10 perros, todos ellos sanos, machos castrados, de raza Beagle cuyos pesos oscilaban entre los 15'6 y 24 Kg. Los animales tenían entre 2 y 3 años de edad y procedían y se mantuvieron en las dependencias del Animalario de la Universidad de Murcia en la Granja Docente Veterinaria de la Universidad de Murcia (REGA: ES300305440012). Todos los perros estaban vacunados de rabia y con vacuna pentavalente "EURICAN MHPPI2-LR®" de laboratorios BOEHRINGER-INGELHEIM. También estaban vacunados frente a la "tos de las perreras" con EURICAN PNEUMO Bb/PI2® de laboratorios BOEHRINGER-INGELHEIM.

Además, estaban desparasitados internamente mediante administración trimestral con PRAZITEL® (PRAZICUANTEL 50 mg-PIRANTEL 50 mg-FEBANTEL 150 mg) de laboratorios ECUPHAR. La desparasitación externa se realizaba con aplicaciones Spot-On, cada 3 semanas de pipetas ADVANTIX® para 10-25 kg (PERMETRINA 1250mg-IMIDACLOPRID 250mg) de laboratorios BAYER.

Durante el período de estudio se controló el estado sanitario para asegurar la ausencia de enfermedades infecciosas y/o parasitarias y no recibieron ningún fármaco durante, al menos, 15 días antes del inicio de la experiencia. Los animales seleccionados fueron separados del resto del grupo en una perrera contigua, para facilitar su manejo y se identificaron asignándoles su letra en el collar. Se alimentaron a base de pienso LIBRA ADULT CHICKEN DE AFFINITY PETCARE S.A., y tuvieron acceso al agua de bebida *ad libitum*.

El estudio con tilosina se realizó en 5 animales (Tabla 2a). El estudio con infliximab se realizó también en 5 perros (Tabla 2b), Todos los animales estuvieron perfectamente identificados mediante su número de chip subcutáneo (tablas 2a y 2b).

3.2.2.- Protocolo experimental con la tilosina

El antibiótico mencionado se administró a dosis de 5 mg/kg en solución acuosa por vía intravenosa (IV) y por vía oral (PO). **La administración intravenosa** de tilosina se realizó con una formulación convencional de tilosina de uso comercial (TILOSINA LABIANA SOLUCION INYECTABLE®) que se administró a cada uno de los animales objetos de estudio en la vena cefálica derecha. La dosis administrada fue de 5 mg/kg como dosis única.

La administración oral de tilosina se realizó a mediante la administración de la dosis en polvo pesada e individualizada en cápsulas, a una dosis de 5 mg/kg, como dosis única.

El estudio fue de tipo cruzado en 2 fases, con intervalos entre cada fase de 15 días para asegurar la ausencia de interferencias entre cada uno de los estudios. Así, el esquema utilizado para la administración del antibiótico a los animales fue el siguiente (Tabla 1):

ANIMAL	IV*	PO*
Perros	A, B, C	D, E
Perros	D, E	A, B, C

TABLA 1.- Esquema del diseño cruzado utilizado en la experiencia.

La dosis de antibiótico, en mg, utilizada según el peso de cada animal se detalla en la tabla siguiente (Tabla 2), junto con el peso e identificación de cada perro:

ANIMAL	Peso (kg)	Dosis IV/PO	Nº Chip
Perro A	16'6	83'0	261
Perro B	19'9	99'5	231
Perro C	20'0	100'0	148
Perro D	24'0	120'0	254
Perro E	18'0	90'0	042

TABLA 2.- Dosis de tilosina utilizada según el peso de cada animal e identificación de los perros.

Las muestras de sangre (1 mL) se recogieron de la vena cefálica izquierda a los siguientes tiempos (hasta las 24h desde la administración IV y hasta las 96 h desde la administración PO del fármaco) expresados en horas:

0 (blanco)	0,083	0,167	0,25	0,5	0,75	1	1,5	2	4	6	8	10	12	24	36	48	72	96
---------------	-------	-------	------	-----	------	---	-----	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----

Se centrifugaron inmediatamente a 1500g durante 10 minutos para separar el plasma. Una vez separado, éste se congeló por duplicado a - 45°C, dentro de los treinta minutos siguientes a la extracción, hasta el momento de realizar las determinaciones analíticas. El volumen de sangre obtenido el primer día es de 15 mL, por lo que, en la práctica, no hay alteración de la volemia. Se evaluó el daño de la administración IV y PO mediante la observación de signos de dolor por parte del animal, vómitos, control de la temperatura, reacciones inflamatorias, etc.

3.2.3. Protocolo experimental con infliximab.

Treinta minutos antes de la administración de infliximab se inyectó un antihistamínico para prevenir una potencial reacción anafiláctica (difenhidramina: Antihistamínico SYVA®), a dosis de 2 mg/kg por vía SC. Los animales fueron sedados con una asociación de

medetomidina y butorfanol (10:1), a dosis de 0'11µg/Kg (0'01+0'1), por vía IV y, posteriormente se les tomó una vía conectada a una bomba de infusión.

Infliximab se aplicó intravenoso en infusión lenta (5 mg/kg), mediante una bomba de perfusión, durante 1'5 horas en suero fisiológico (pH 7'3-7'4) bajo sedación y control de constantes vitales (auscultación cardíaca, frecuencia respiratoria y temperatura rectal), en condiciones de hospitalización, durante las primeras 24 horas para después volver a sus perreras de origen. La dosis de antibiótico, en mg, utilizada según el peso de cada animal se detalla en la tabla siguiente (Tabla 3), junto con el peso e identificación de cada perro.

ANIMAL	Peso (kg)	Dosis IV/PO	Nº Chip
Perro A	18'0	90'0	187
Perro B	16'7	83'5	072
Perro C	20'9	104'5	223
Perro D	15'6	78'0	381
Perro E	19'4	97'0	817

TABLA 3.- Dosis de infliximab utilizada según el peso de cada animal e identificación de los perros.

Las tomas de 5 mL de sangre se llevaron a cabo mediante venopunción de la cefálica accesoria para la obtención de suero, se realizaron justo al terminar la infusión intravenosa de infliximab, a las 3, 6, 12, 24 y 48 horas y a los 5, 10, 20 30, 45 y 60 días. El volumen de sangre obtenido el primer día es de 20 mL, por lo que, en la práctica, no hay alteración de la volemia. El resto de días solo se obtienen 5 mL/día.

3.2.4. Técnicas analíticas con la tilosina

La determinación analítica de tilosina en las muestras de plasma se ha realizado mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), utilizando el método de Abu-Basha et al. (2012), ligeramente modificado.

3.2.4.1. Preparación de la muestra.

En un tubo Eppendorf con 200 μ L de plasma, se añaden otros 200 μ L de acetonitrilo para precipitar las proteínas, se agita durante 30 segundos, se sónica durante 5 minutos y se centrifuga a 1500 g durante 10 minutos. Posteriormente, se recoge el sobrenadante y se dispone en un vial microinserto de LC para su posterior inyección en el HPLC.

3.2.4.2. Cuantificación cromatográfica.

Se utilizó una técnica de HPLC isocrática. La separación se llevó a cabo utilizando una columna de fase reversa ULTRABASE C18, 5 μ m, 250 mm x 4,6 mm ID, 100 Å. y precolumnas ODS (C18) TECNOKROMA 10 x 3.2 mm. Tanto las muestras dentro del autoinyector (sistema Peltier), como la columna estuvieron a temperatura ambiente.

La fase móvil estaba compuesta por acetonitrilo y agua en proporción 30:70, y un 0'5% ácido trifluoroacético.

La velocidad de flujo se fijó en 1mL/min (Presión alcanzada 11-12 MPa o Mega Pascales) y el volumen de muestra inyectado al sistema HPLC fue de 100 μ L. La detección se realizó mediante un detector de luz ultravioleta (UV) fijado a una longitud de onda de 288 nm. El tiempo de análisis fue de 15 minutos y los tiempos de retención fueron de alrededor de 8 min.

3.2.4.3. Validación de la técnica.

Linealidad. Las curvas de calibrado se prepararon con 8 concentraciones diferentes de tilosina entre 25 y 50000 μ g/L (25, 50, 100, 1000, 5000, 10000, 25000 y 50000) usando blancos de plasma de perro. Las curvas estándares (curva patrón) se obtuvieron por representación de concentraciones conocidas de tilosina. Cada punto se estableció a partir de un promedio de tres determinaciones. El coeficiente de correlación (r^2) fue siempre > 0,984% (plasma) para todas las curvas de calibrado. Al igual que las muestras experimentales, las alícuotas de plasma se almacenaron a - 45 °C hasta su procesamiento. Las alícuotas de los "controles" fueron procesadas como se describió anteriormente.

Recuperación. Los porcentajes de recuperación se determinaron comparando las áreas de los picos de los controles con distintas concentraciones conocidas de fármaco (concretamente a 100, 1000 y 5000 μ g/L), con las áreas de los picos de los estándares a las concentraciones correspondientes preparados con agua. Cada punto se estableció a

partir de un promedio de tres determinaciones. Los porcentajes de recuperación de tilosina en plasma, se muestran en la Tabla 4.

CONCENTRACIÓN TILOSINA (µg/L)	RECUPERACIÓN (%) EN PLASMA
100	79,98
1000	90,86
5000	85,79

TABLA 4.- Porcentajes de recuperación de tilosina en plasma.

Precisión. La precisión del ensayo se evaluó expresando la desviación estándar relativa (RDS) como un porcentaje del valor medio. La precisión intra-día se estimó mediante el análisis, en el mismo día, de tres muestras de plasma repetidas de tres concentraciones estándar (100, 1000 y 5000 µg/L) usadas para las curvas de calibrado, obteniéndose valores de RSD < 5,7%. La precisión inter-día se estimó mediante el análisis de tres concentraciones estándar (100, 1000 y 5000 µg/L) durante tres días consecutivos. Los resultados de precisión expresados como RSD fueron < 6,3% (Tabla 5).

CONCENTRACIÓ N (µg/L)	PRECISION (%) DESVIACION ESTANDAR RELATIVA O RSD DE TILOSINA.	
	INTRA-DIA	INTER-DIA
500	4,35	6,29
2000	5,09	2,45
5000	5,64	4,96

TABLA 5.- Porcentajes de desviación estándar relativa de tilosina en plasma intra-día e inter-día.

Límite de cuantificación y detección. El límite de detección de tilosina en plasma se ha establecido como la concentración más baja que se ha podido detectar diferenciándola del ruido de fondo del aparato. El límite de detección fue de 25 µg/L de tilosina.

El límite de cuantificación se ha establecido para el nivel de concentración más bajo utilizado en las curvas de calibrado y para el que la desviación relativa estándar es menor al 20%. El límite de cuantificación fue de 50 µg/L.

3.2.5. Técnicas analíticas con el infliximab.

La determinación analítica de infliximab en las muestras de suero se ha realizado mediante un método comercial validado de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color. La aparición de colorantes permite medir indirectamente mediante espectrofotometría el antígeno en la muestra.

El kit utilizado ha sido Promitor IFX[®] (Grifols, España), y se han seguido las instrucciones del producto. Este kit utiliza tiras de microtitulación recubiertas con TNF- α y un anticuerpo monoclonal conjugado con peroxidasa (clon 6B7) que reconoce infliximab específicamente, que se mantuvieron en refrigeración a 5°C hasta el momento de su uso. Las microplacas de 96 pocillos del kit vienen precargadas con los reactivos necesarios donde se depositan las muestras de suero previamente congeladas a -20°C y diluidas al 1/200 y 1/2000. Las placas "cargadas" se depositan en el Triturus ELISA y, al cabo de 30 minutos de obtuvieron las concentraciones en cada una de las muestras.

Todos los kits Promonitor[®] están fabricados bajo normas GMP e ISO 13485. Los ensayos y productos son validados siguiendo las guías de validación de métodos bioanalíticos de FDA, y las guías CLSI correspondientes dirigidas a la validación de productos para diagnóstico.

La curva de calibración se obtuvo trazando los valores de absorbancia frente a los valores de calibrador correspondientes y la concentración de infliximab se determinó por

interpolación a partir de la curva de calibración. Las muestras de suero (300µL) se congelaron dentro de las dos horas posteriores a la recolección (-20°C). Todas las muestras fueron analizadas por una dilución de 1/200 y 1/2000. El límite inferior de cuantificación para la presencia de infliximab fue de 0.02 µg/mL

3.2.6. Análisis farmacocinético

Se ha realizado un ajuste compartimental y un ajuste no compartimental.

Una vez obtenidas las concentraciones de tilosina/infliximab en las muestras de plasma/suero a los diferentes tiempos de extracción, se han ajustado dichos datos a los modelos mono y bicompartimental mediante el programa WinNonlin Professional® (versión 5.0). Los ajustes se han realizado sin ponderación, ponderando a la inversa de las concentraciones experimentales y ponderando a la inversa de las concentraciones experimentales al cuadrado.

Una vez realizados los ajustes a los diferentes modelos farmacocinéticos, el criterio utilizado para determinar cuál era la ecuación que mejor se ajustaba a los datos observados fue el Criterio de Información de Akaike o AIC (Yamaoka y cols., 1978), cuya expresión es:

$$AIC = N \cdot \ln \sum_{i=1}^N (W_i \cdot (C_i' - C_i)^2) + 2p$$

En esta ecuación, N es el número de puntos experimentales y p el número de parámetros del modelo en cuestión. La expresión contenida entre corchetes corresponde a la suma de cuadrados residuales, donde C_i es la concentración obtenida experimentalmente, C_i' es la concentración teórica obtenida a partir de la ecuación correspondiente a ese modelo, utilizando el método de los mínimos cuadrados y W_i es el factor de ponderación. El modelo con el valor mínimo de AIC se considera el óptimo.

Los parámetros no compartimentales se calcularon de acuerdo con la teoría de los momentos estadísticos (Riegelman y Collier, 1980; Gibaldi y Perrier, 1982), utilizando el programa informático WinNonlin Professional® (versión 5.0).

La biodisponibilidad, en el caso de la tilosina, se ha calculado relacionando las áreas totales bajo las curvas de concentración plasmática obtenidas por el método trapezoidal, tras la administración oral (PO) e intravenosa (IV). Este parámetro queda indicado como F .

$$F(\%) = \frac{AUC_{PO.}}{AUC_{IV}} \cdot 100$$

El tiempo medio de absorción (MAT) se ha calculado mediante la diferencia entre los tiempos medio de residencia (MRT) de la vía extravascular y la vía intravenosa.

$$MAT = MRT_{PO} - MRT_{IV}$$

3.2.7. Análisis clínicos.

Para evaluar la tolerancia de los perros a la dosis de infliximab administrada, se han realizado análisis sanguíneos, hematológicos y bioquímicos. Las muestras de sangre para ello se tomaron antes de la administración del infliximab y, tras ella, a los 10, 30, 45 y 60 días. Los parámetros hemáticos estudiados fueron: recuento eritrocitario, hematocrito, hemoglobina (Hb), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración hemoglobínica corpuscular media (CHCM), índice de distribución de hematíes (RDW), leucocitos, segmentados, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos, recuento plaquetario, plaquetocrito (PCT) y MPV. Los parámetros bioquímicos estudiados fueron los siguientes: urea, creatinina, AST, ALT, GGT, ALP, CK, glucosa, colesterol, triglicéridos, proteínas totales, albúmina, globulinas y bilirrubina.

Los análisis han sido realizados en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Clínico Veterinario de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia.

3.2.8. Métodos estadísticos.

Con el fin de evaluar la homogeneidad de los datos utilizados se ha realizado un análisis estadístico mediante el programa SPSS 24.0

Revisión bibliográfica

Para el análisis general de las variables se han empleado los métodos descriptivos básicos para las variables cuantitativas, obteniendo la media, desviación estándar, el coeficiente de variación y el error estándar.

Para comprobar la homogeneidad de los datos (concentraciones obtenidas y parámetros farmacocinéticos obtenidos, se ha realizado la prueba de Kruskal-Wallis y la de Monte Carlo. Estas pruebas realizan un test de hipótesis para comprobar si existe o no igualdad entre las varianzas. Para ello se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones/parámetros de tilosina/infliximab no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). De esta forma, si se demuestra la no existencia de diferencias significativas entre los animales, la única fuente de variación es el tiempo, por lo que se manifiesta homogeneidad a un tiempo determinado en las concentraciones/parámetros.

Para evaluar el ajuste a la distribución normal de los valores obtenidos, se ha utilizado el test de Kolmogorov-Smirnov.

Por otra parte, en el caso de la tilosina, se ha llevado cabo un análisis de igualdad de varianza mediante una prueba T para muestras relacionadas para comprobar si existen o no diferencias significativas de los parámetros farmacocinéticos obtenidos entre las diferentes vías de administración del fármaco, en los animales utilizados.

En el caso del infliximab, para ver si los mismos parámetros farmacocinéticos obtenidos por métodos compartimentales y no compartimentales están relacionados se realizó un análisis de correlación y, para comprobar diferencias entre dichos parámetros compartimentales y no compartimentales se llevó a cabo un análisis de igualdad de varianza mediante una prueba T para muestras relacionadas ya que, en estos casos para establecer o no diferencias estadísticas, es más exacto/robusto un test paramétrico. Por último, para comprobar si existen diferencias entre las concentraciones teóricas de infliximab que, a cada intervalo de tiempo, se obtienen con el ajuste compartimental y no compartimental, se ha llevado a cabo una Test de Levene.

En el caso de los parámetros hemáticos y bioquímicos de los perros desde antes de la administración de infliximab y tras los 10, 30, 45 y 60 días de la administración, se han sometido a un test de Levene para comprobar la ausencia de diferencias estadísticas entre los distintos días y el test de Bonferroni (Dunn) como prueba *post hoc*, para comparar todos los valores de cada parámetro entre parejas de semanas o días de toma de muestras.

En todos los casos, las diferencias consideradas estadísticamente significativas son aquellas cuya p obtenida es menor de 0,05.

3.2.9. Material fungible

- Agujas hipodérmicas.
- Tubos de extracción con heparina sódica.
- Sistema Vacutainer®
- Tubos de ensayo de varias capacidades.
- Micropipetas de varias capacidades Gilson®.
- Puntas para micropipetas de varias capacidades
- Matraces aforados de varias capacidades.
- Matraces Erlenmeyer de varias capacidades.
- Vasos de precipitado de varias capacidades.
- Viales con tapón para autoinyector 8 x 40, 1 mL, Wheaton, USA.
- Filtros Millipore® tipo HV 0.45 μm de diámetro de poro.
- Tubos Eppendorf 1,5 y 2 mL.

3.2.10. Productos y reactivos

- Agua bidestilada.
- Acetonitrilo HPLC (Lote: SZBE017SV, Sigma-Aldrich, Madrid).
- Agua para HPLC: Water Chromasol V® Plus. (Lote: BCBN4854V y otros, Sigma-Aldrich, Madrid).
- Metanol para HPLC (Lote: SZBD0145SV, Sigma-Aldrich, Madrid).

- Ácido trifluoroacético (Uvasol® Lote S6930462 435. Merck KGaA; Darmstadt. Alemania).
- Heparina sódica 5% (Mayne Pharma, España).
- Kit para prueba rápida de biodisponibilidad/biológica/ELISA PROMONITOR® IFX (Grifols, España).

3.2.11. Aparataje

- Agitador magnético SBS A-06.
- Agitador de tubos Heidolph Reax 2000.
- Balanza de precisión Mettler Toledo AB135-5/FACT, pesada: 0.0001 y 120 g.
- Campana de flujo laminar vertical micro-V (Telstar).
- Centrífuga MIKRO modelo 120.
- Congelador Sanyo MDF (- 45 °C).
- Frigorífico Electrolux® modelo ER 3818C.
- Neveras portátiles isotérmicas.
- Ordenador personal Intel core i5.
- pHmetro Crison Digit 501.
- Horno microondas Goldstart, modelo MA-894DD.
- Termómetro de mercurio.
- HPLC modelo JASCO, compuesto de:
 - Bomba cuaternaria modelo PV-1585.
 - Detector de fluorescencia de modelo FP-920.
 - Autoinyector modelo AS-950.
 - Desgasificador DG-1580-53.
 - Módulo mezclador LG-2080-04.
 - Horno para columnas Peltier JetStream.
 - PC con el programa ChromPass Chromatography Data System.
 - Columnas ULTRABASE 100 Å 5µm, 250 mm x 4,6 mm.
 - Precolumnas Tracer Excel ODS (C18) TECNOKROMA 10 x 3.2 mm.

- Analizador Triturus ELISA. Un analizador ELISA completamente abierto y completamente automatizado con las siguientes especificaciones:

- Estación de muestras: Con capacidad para 92 muestras por lote, 96 tubos de predilución por lote, 4 platos por lote, 8 pruebas por lote y 4 lotes simultáneamente. Tests de control y calibración superior a 14. 12 puestos independientes para reactivos, 8 posiciones para diluyentes de muestra. Cálculo automático de los volúmenes requeridos. Identificación de muestras con código de barras. Detectores de presencia de muestras y tubos de predilución, viales de calibración y control, puntas desechables y número de pocillos en la placa.
- Incubador: Con capacidad para 4 platos de microtiter y con rango de temperaturas desde 20°C a 40°C y estabilidad de $\pm 1^\circ\text{C}$.
- Módulo Lavador: Con colector de 8 canales con 2 agujas paralelas y lavado de pozos cruzados.
- Lector: Monocromático y bicromático, de canal único para una reproducibilidad óptima entre muestras, con rango dinámico de 0 a 3 OD, 7 filtros y longitudes de onda fijadas de 405, 450, 492, 550, 600, 620 nm, más 1 de libre posición.

- Bomba de perfusión marca BRAUN y modelo Infusomat[®]Space.

3.2.12. Software informático

- Programa de análisis farmacocinético Winnonlin Professional[®] versión 5.0.
- Paquete de análisis estadístico SPSS[®] versión 24.0.
- Programa de gráficos PRISM 3.0.
- Procesador de textos Microsoft[®] Word 2007 y Hoja de cálculo Microsoft[®] Excel 2007.

3.3. Medicamentos.

- **ATIPAMEZOL.** Ha sido utilizado la especialidad farmacéutica ANTISEDAN[®] para gatos y perros (Orion Corporation. Nº de registro 976 ESP. Autorizado el 04/05/2018).
- **BUTORFANOL.** El butorfanol utilizado ha sido ALVEGESIC[®] 10mg/mL solución inyectable para caballos, perros y gatos (ALVETRA u. WERFFT GmbH. Nº de registro 2327 ES. Autorizado desde el 08/07/2011 y renovado el 15/04/2014).

Revisión bibliográfica

- **DIFENHIDRAMINA.** Se ha utilizado la especialidad comercial ANTIHISTAMÍNICO SYVA® solución inyectable para caballos no destinados a consumo humano y perros (Laboratorios SYVA S.A.U. N° de registro 594 ESP. Autorizado desde 16/11/1992 y renovado el 01/02/2018).
- **INFLIXIMAB.** Se ha utilizado una especialidad comercial de uso humano, REMICADE® 100 mg polvo para concentrado para solución para perfusión (JANSSEN BIOLOGICS B.V. N° Registro: EU/1/99/116/001; EU/1/99/116/002; EU/1/99/116/003; EU/1/99/116/004 y EU/1/99/116/005. Autorizado desde el 13/08/1999 y renovado el 02/07/2009).
- **ISOFLURANO.** Se ha utilizado ISOFLO® para caballos, perros, gatos, aves ornamentales, reptiles, ratas, ratones, hámsteres, chinchillas, jerbos, cobayas y hurones (Zoetis Spain S.L. N° de registro 1385 ESP. Autorizado 15/03/2001).
- **MEDETOMIDINA.** La demetomidina utilizada ha sido DOMTOR® 1mg/mL solución inyectable para perros y gatos (Orion Corporation. N° de registro 933 ESP. Autorizado desde 18/05/1994 y renovado 23/02/2017).
- **PROPOFOL.** El Propofol utilizado ha sido PROPOFOL LIPURO® 10mg/mL emulsión inyectable Braun Uso Veterinario para perros (B. BRAUN VET CARE S.A. N° de registro 1578ESP. Autorizado 20/01/2015).
- **TILOSINA.** Se ha empleado una formulación convencional de Tilosina de uso comercial (TILOSINA LABIANA SOLUCION INYECTABLE. Labiana Life Sciences, S. N° Registro: 2669 ESP. Autorizado desde el 16/11/2012. Principios activos: TILOSINA TARTRATO. Especie de destino: Bovino de carne; Porcino.), para la administración por vía intravenosa (IV) y de tilosina en polvo (Tylosin tartrate de SIGMA-ALDRICH Ref. T6134-5G, LOT. #SLBK0258V. PCode: 1002222162), para la administración oral (PO).

4. RESULTADOS

4.1. TRANSPLANTE FECAL

Como se ha comentado en Material y Métodos, para este estudio hemos contado con 5 animales para 6 casos clínicos (ya que el caso 2 y 6 pertenecen al mismo animal). Las razas de estos animales participantes en el estudio han sido, 2 mestizos, un mestizo de Bichón (en dos casos ya que es el mismo animal), un Cocker y un Bull Dog inglés. En cuanto a los pesos de nuestros animales, estos han sido los siguientes (Tabla 6):

Caso	Peso (Kg)
Caso 1	12.1
Caso 2	3.8
Caso 3	16
Caso 4	30
Caso 5	10
Caso 6	4.2

TABLA 6. Pesos de los animales que han participado en nuestro estudio.

En lo que se refiere al sexo, hemos contado con dos hembras (mismo animal) y 4 machos. También es de interés indicar cuál ha sido el diagnóstico que se ha obtenido en todos los casos (Figura 10), de modo que han sido 2 casos de enteritis linfoplasmocitaria eosinofílica grado II, 2 de enterocolitis eosinofílica grado II (pertenecen al mismo animal), 1 caso de gastroenterocolitis linfoplasmocitaria grado II y 1 caso de gastroileocolitis linfoplasmocitaria grado I. Estos grados hacen referencia al infiltrado inflamatorio, siendo leve (I), moderado (II) o severo (III).

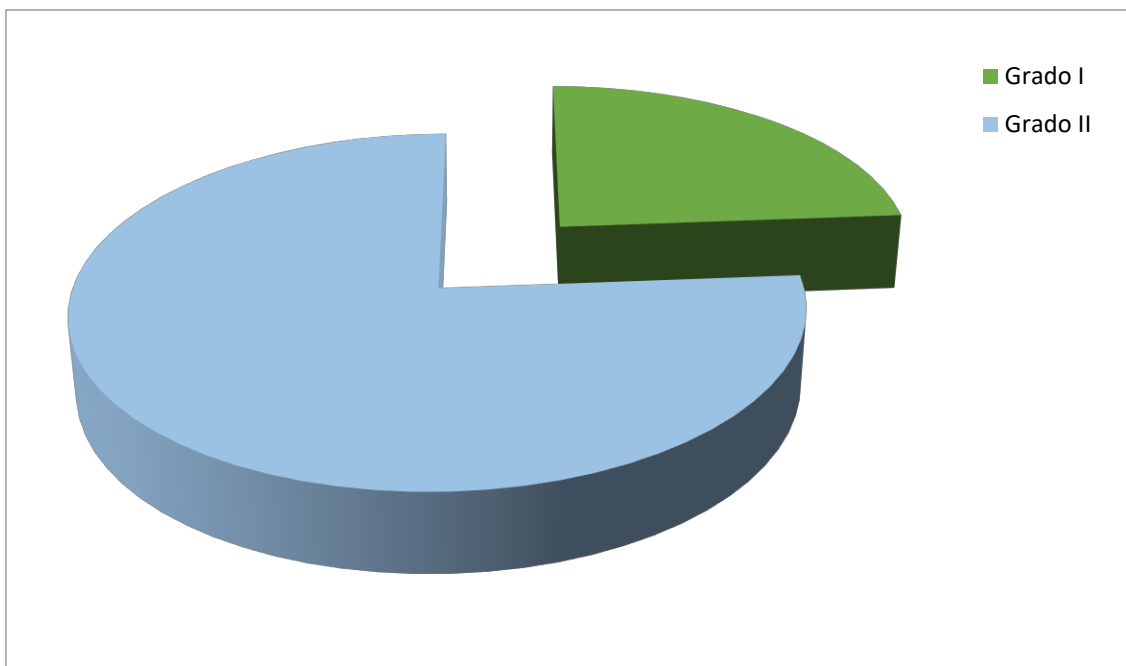


FIGURA 10. Representación gráfica del número de enterocolitis linfoplasmocítica eosinofílica grado I y II que hemos tenido en nuestro estudio.

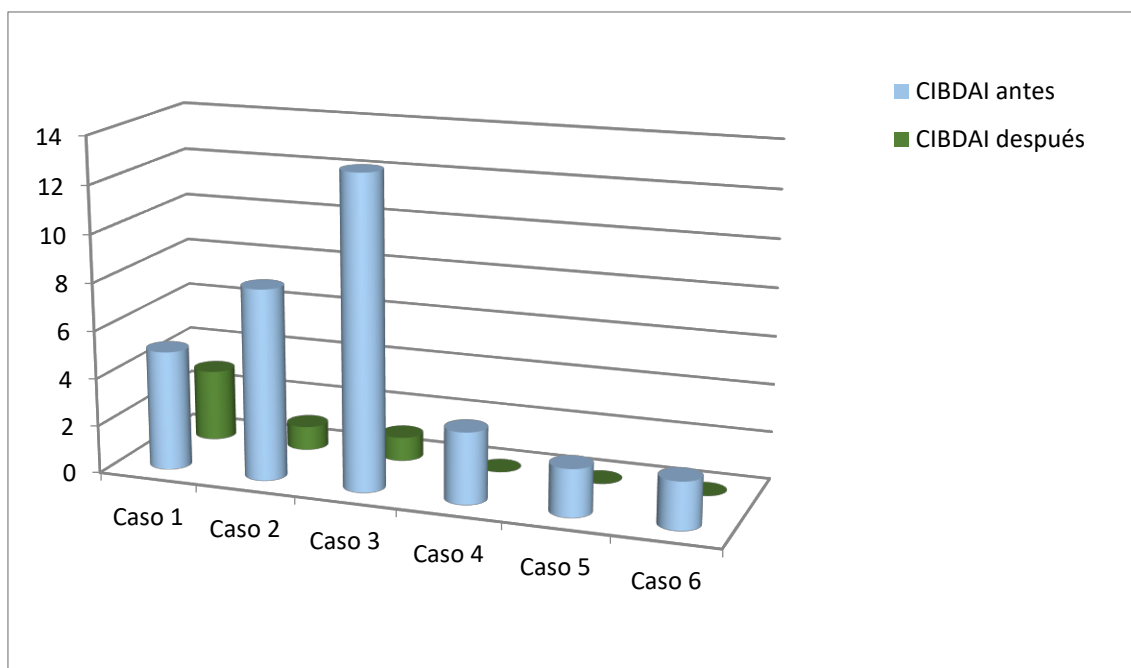
A continuación, vamos a realizar varias tablas comparativas con la evolución de distintos parámetros en nuestros animales tras el recibir el tratamiento de TMF.

4.1.1. Índice CIBDAI

Presentamos en la Tabla 7 y la Gráfica 1 la evolución de todos los animales según el índice CIBDAI antes del trasplante y tras haber realizado el proceso de TMF.

CASO	Índice CIBDAI antes	Índice CIBDAI después
Caso 1	5	3
Caso 2	8	1
Caso 3	13	1
Caso 4	3	0
Caso 5	2	0
Caso 6	2	0

TABLA 7. Comparación del índice CIBDAI antes y después de recibir el tratamiento de TMF.



GRÁFICA 1. Comparación del índice CIBDAI antes y después de recibir el tratamiento de TMF.

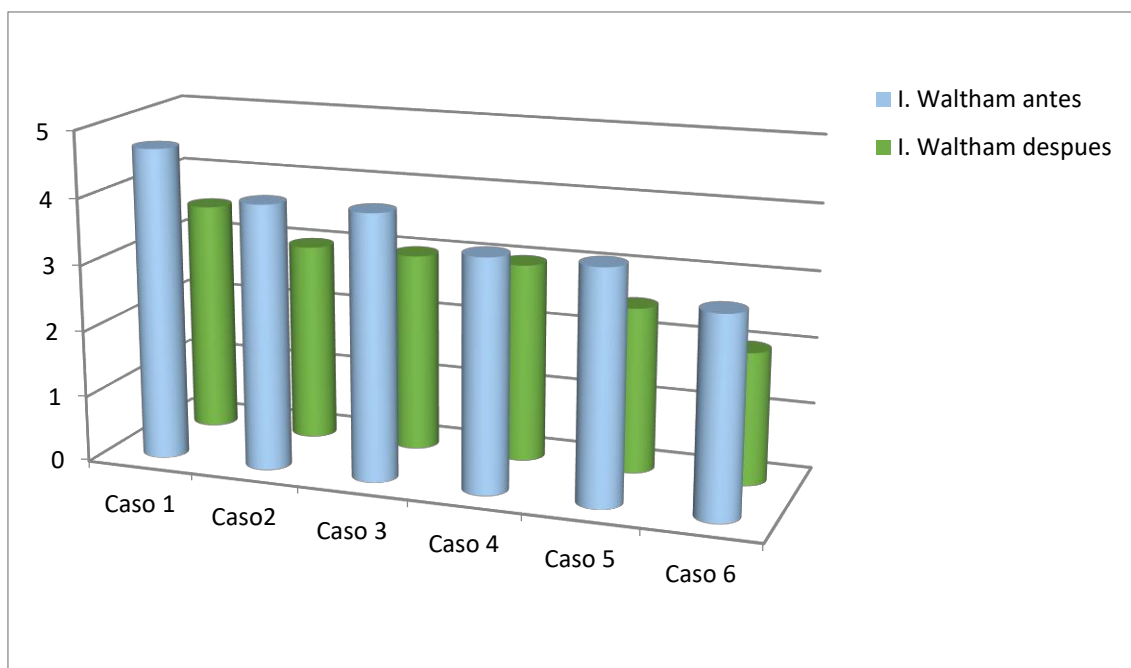
Como puede observarse en la Tabla 7 y la Gráfica 1, en todos los casos se ha obtenido una mejora del índice CIBDAI.

4.1.2. Índice Waltham

Del mismo modo que sucede con el índice CIBDAI, también en todos los casos hemos obtenido una mejora del índice Waltham (Tabla 8 y Gráfica 2).

CASO	Índice Waltham antes	Índice Waltham después
Caso 1	4.5/5	3.5
Caso 2	4	3
Caso 3	4	3
Caso 4	3.5	3
Caso 5	3.5	2.5
Caso 6	3	2

TABLA 8. Comparación del índice Waltham antes y después de realizar el TMF.



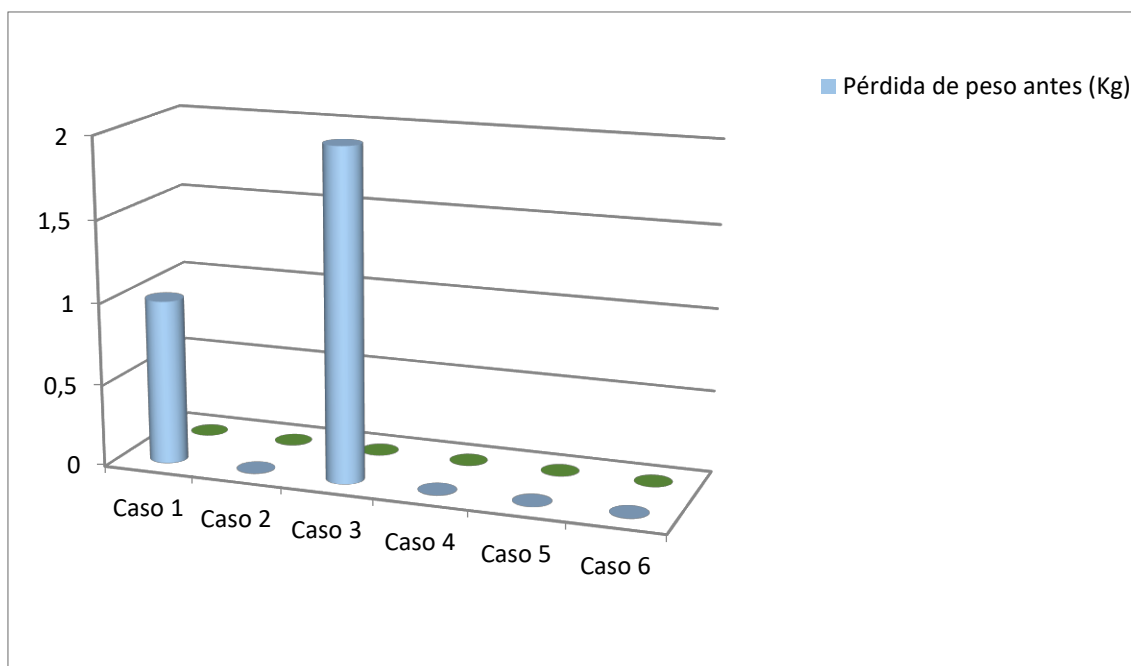
GRÁFICA 2. Comparación del índice Waltham antes y después de recibir el tratamiento de TMF.

4.1.3. Peso

Respecto a este indicador, en la Tabla 9 y la Gráfica 3, se aprecia que tan solo dos de los animales, los pertenecientes al caso 1 y el caso 3, perdieron peso de forma leve y moderada respectivamente, previo al tratamiento TMF.

CASO	Pérdida de peso antes	Pérdida de peso después
Caso 1	1	0
Caso 2	0	0
Caso 3	2	0
Caso 4	0	0
Caso 5	0	0
Caso 6	0	0

TABLA 9. Comparación de la pérdida en peso de los animales antes y después de recibir el tratamiento de TMF. Se sigue el índice CIBDAI siendo: sin pérdida de peso (0), leve (1), moderada (2) o severa (3).



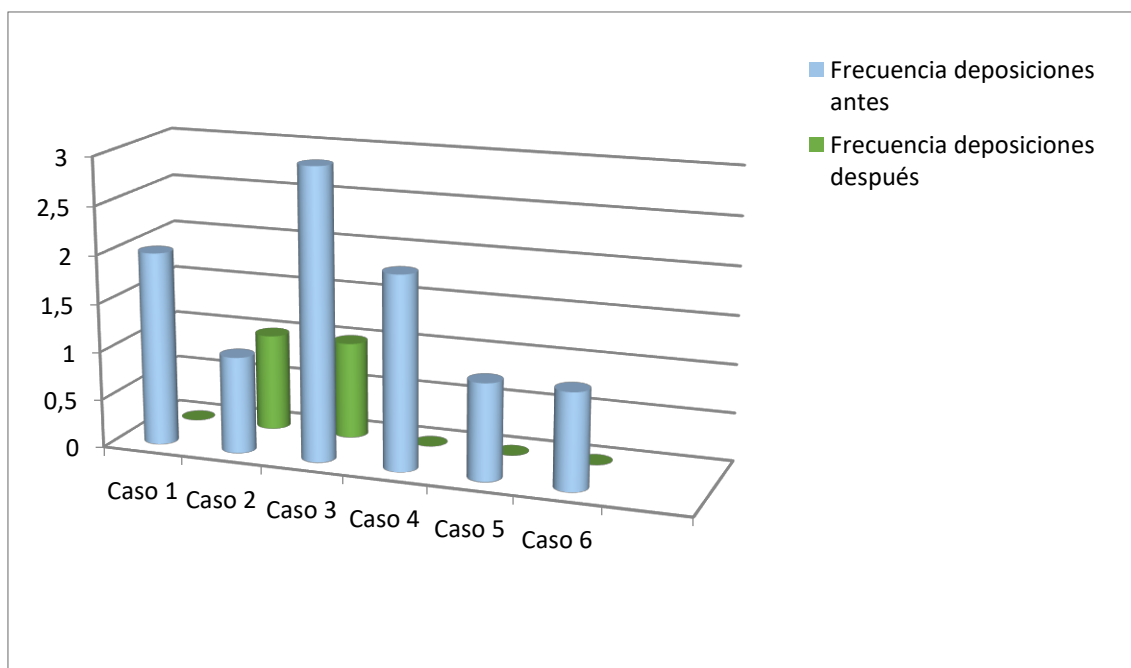
GRÁFICA 3. Comparación de la pérdida de peso de los animales antes y después de recibir el tratamiento de TMF.

4.1.4. Frecuencia de deposiciones

En cuanto a la frecuencia de deposiciones, que queda reflejada en la Tabla 10 y la Gráfica 4, todos los animales disminuyeron la cantidad de estas tras realizar el TMF.

CASO	Frecuencia deposiciones antes	Frecuencia deposiciones después
Caso 1	2	0
Caso 2	1	1
Caso 3	3	1
Caso 4	2	0
Caso 5	1	0
Caso 6	1	0

TABLA 10. Comparación de la frecuencia de deposiciones antes y después de recibir el tratamiento de TMF. Se sigue el índice CIBDAI siendo: normal (0), ligeramente incrementada (1), moderadamente incrementada (2) o severamente incrementada (3).



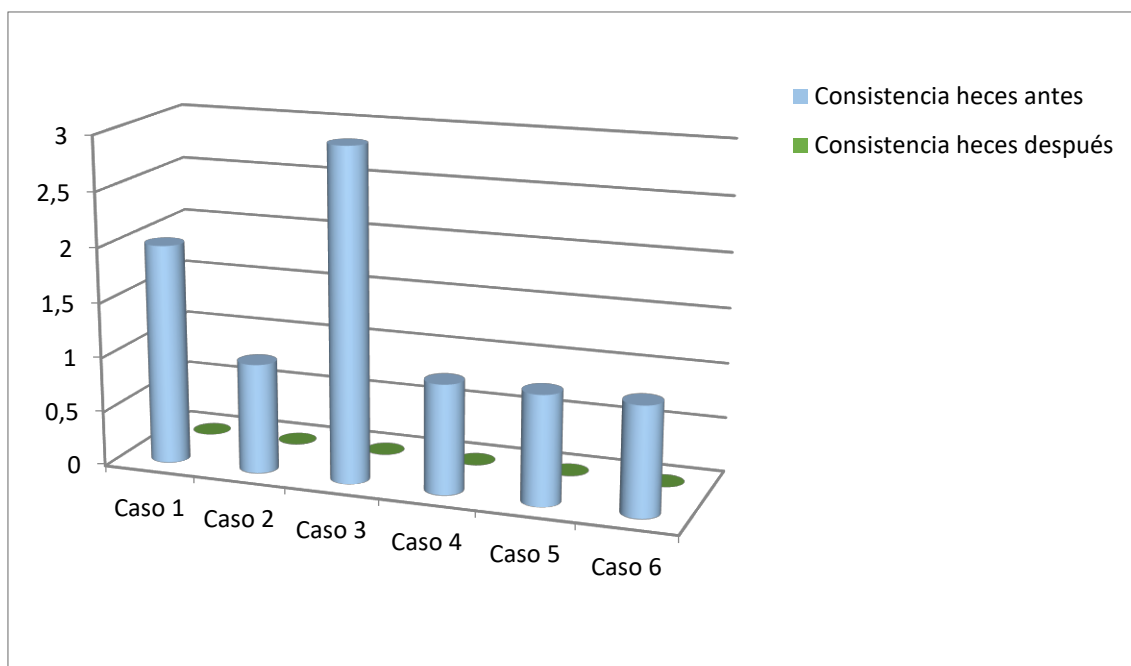
GRÁFICA 4. Comparación de la frecuencia de deposiciones antes y después de recibir el tratamiento de TMF.

4.1.5. Consistencia de las heces

En la Tabla 11 y la Gráfica 5 se pone de manifiesto cómo ha disminuido el índice CIBDAI, lo que quiere decir que la consistencia de las heces ha aumentado en todos los animales.

CASO	Consistencia heces antes	Consistencia heces después
Caso 1	2	0
Caso 2	1	0
Caso 3	3	0
Caso 4	1	0
Caso 5	1	0
Caso 6	1	0

TABLA 11. Comparación de la consistencia de las heces antes y después de recibir el tratamiento de TMF. Se sigue el índice CIBDAI siendo: normal (0), heces algo blandas (1), heces muy blandas (2) o diarrea acuosa (3).



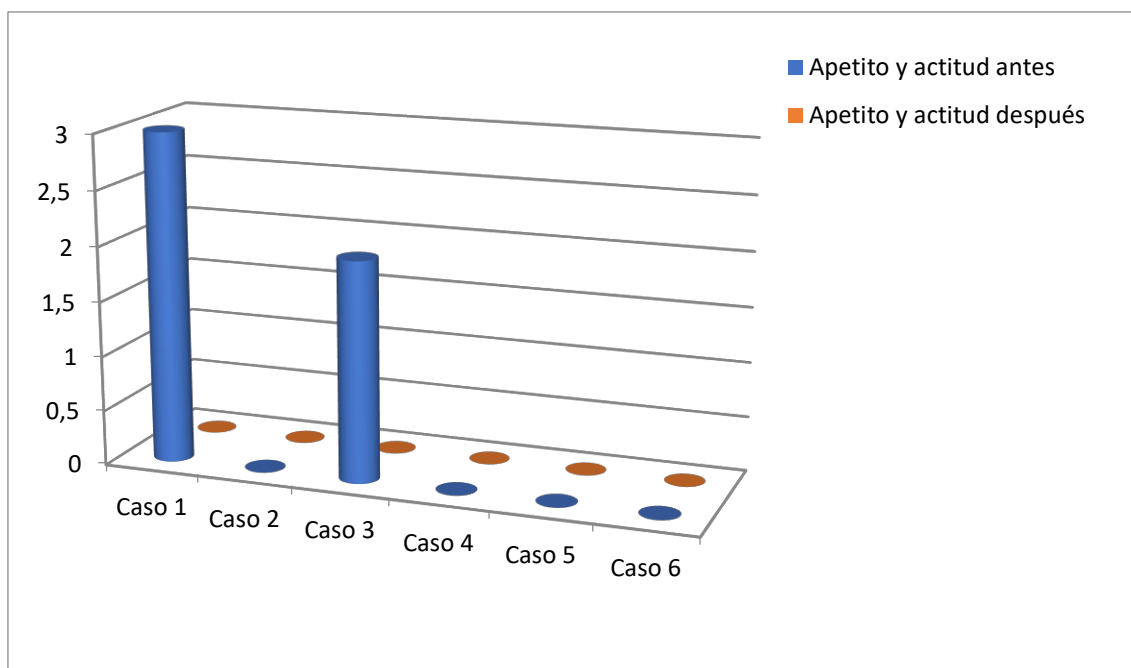
GRÁFICA 5. Comparación de la consistencia de las heces antes y después de recibir el tratamiento de TMF.

4.1.6. **Apetito y actitud**

En la Tabla 12 y la Gráfica 6, se puede comprobar que tanto el apetito como la actitud en los casos 1 y 3, en que se hallaban gravemente disminuido y moderadamente disminuido, respectivamente, han mejorado notablemente.

CASO	Apetito y actitud antes	Apetito y actitud después
Caso 1	3	0
Caso 2	0	0
Caso 3	2	0
Caso 4	0	0
Caso 5	0	0
Caso 6	0	0

TABLA 12. Comparación del apetito y actitud de los animales antes y después de recibir el tratamiento de TMF. Se sigue el índice CIBDAI siendo: normal (0), ligeramente disminuido (1), moderadamente disminuido (2) o gravemente disminuido (3).



GRÁFICA 6. Comparación del apetito y actitud de los animales antes y después de recibir el tratamiento de TMF.

4.1.7. Estado de las heces utilizadas para la realización del TMF

Se han utilizado heces congeladas para el TMF en dos de los animales y heces frescas en los cuatro restantes, tal y como se muestra en la Tabla 13 y la Gráfica 7.

CASO	Estado de las heces utilizadas
Caso 1	Congelada
Caso 2	Congelada
Caso 3	Fresca
Caso 4	Fresca
Caso 5	Fresca
Caso 6	Fresca

TABLA 13. Estado de las heces (congelada o fresca) que han sido utilizadas en cada caso del presente estudio.



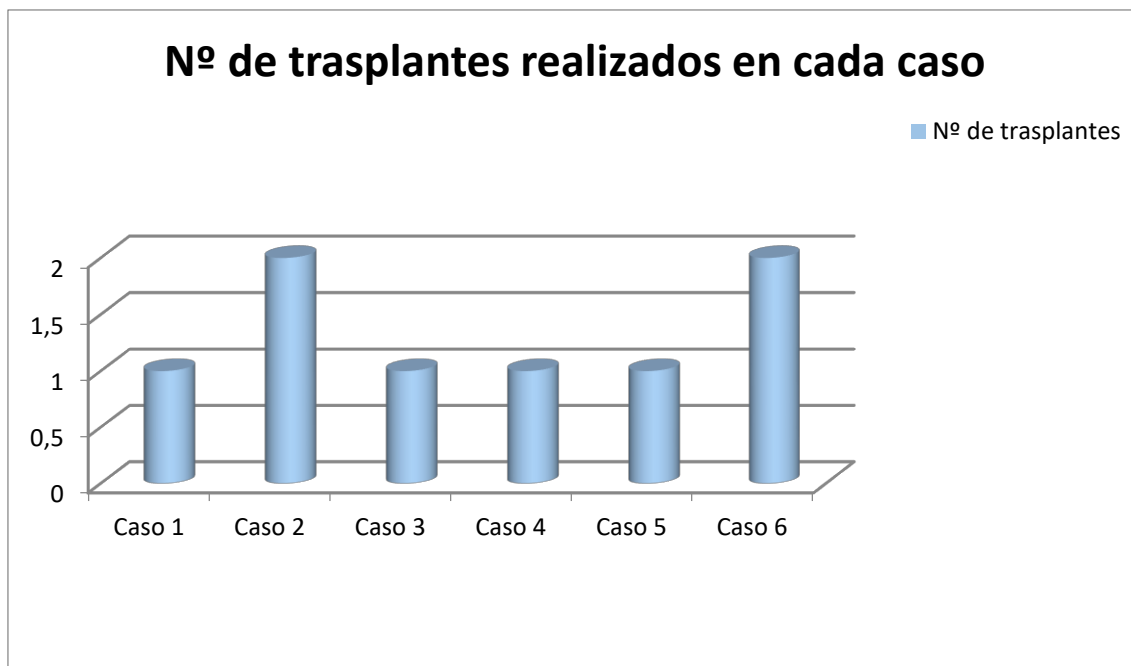
GRÁFICA 7. Estado de las heces utilizadas para el TMF de nuestros animales.

4.1.8. Número de trasplantes realizados

El número de trasplantes que se han realizado en cada caso, queda reflejado en la Tabla 14 y la Gráfica 8.

CASO	Nº de trasplantes
Caso 1	1
Caso 2	2
Caso 3	1
Caso 4	1
Caso 5	1
Caso 6	2

TABLA 14. Número de trasplantes realizados en cada uno de los casos del presente estudio.



GRÁFICA 8. Número de trasplantes de heces realizados en cada animal.

Como podemos comprobar, en cuatro de nuestros animales se realizó un único trasplante de heces, mientras que en los dos restantes, los casos 2 y 6, fueron necesarios dos trasplantes.

Es de interés indicar que excepto en el caso 1, todos los propietarios se han mostrado contentos con los resultados obtenidos en sus animales tras haber realizado el TMF.

Por último, para comprobar si hay diferencias significativas en los índices CIBDAI y Waltham antes y después de haber realizado el TMF se ha realizado una prueba estadística, la cual ha sido el método Shapiro-Wilk, que se utiliza para contrastar la normalidad de un conjunto de datos. Para ello se ha utilizado el programa informático SPSS.

A través del anteriormente citado test, se ha podido comprobar que en lo que se refiere al índice CIBDAI, el resultado es no paramétrico, es decir, no sigue una distribución normal ($p < 0'05$), mientras que en el caso del índice Waltham el resultado es paramétrico ($p > 0'05$). Además, nuestros análisis muestran que en el caso del índice Waltham si hay diferencias significativas ($p < 0'05$) entre los resultados antes y después de haber realizado el TMF.

En cuanto al índice CIBDAI, al obtener un resultado no paramétrico, se decide realizar un test de Wilcoxon, que es una prueba no paramétrica para comparar el rango medio de dos muestras relacionadas y determinar si existen diferencias entre ellas. Se utiliza para comparar dos mediciones relacionadas y determinar si la diferencia entre ellas se debe al azar o no (en este último caso, que la diferencia sea estadísticamente significativa).

En nuestro estudio el resultado de nivel de significación obtenido a través de este test se encuentra por debajo de 0.05, lo que quiere decir que es un resultado estadísticamente significativo y por lo tanto no se debe al azar.

Por último, en cuanto al índice Waltham, al obtener un resultado paramétrico se realiza una prueba T de Student, que se aplica cuando la población estudiada sigue una distribución normal pero el tamaño de muestra es demasiado pequeño como para que el estadístico en el que está basada la inferencia esté normalmente distribuido, utilizándose una estimación de la desviación típica en lugar del valor real, obteniendo para esta prueba una significación alta entre antes y después de realizar el TMF ($p > 0.05$).

4.2.- TILOSINA

4.2.1.- ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA

4.2.1.1. Evolución de las concentraciones plasmáticas de tilosina

Tras la administración intravenosa de 5 mg/kg de tilosina en 5 perros de raza Beagle, se han obtenido los valores de concentración plasmática, a los distintos tiempos de extracción, que se muestran en la Tabla 15, en tanto que en la Tabla 16 se muestran los valores medios junto a otros estadísticos. En todos los casos, se produce un rápido descenso de las concentraciones plasmáticas durante las dos primeras horas tras la administración, para seguir con un descenso más lento a partir de entonces.

Esto queda más manifiesto si se observan las Gráficas 9 (representaciones semilogarítmicas de cada perro) y 10 (representación semilogarítmica de las concentraciones medias).

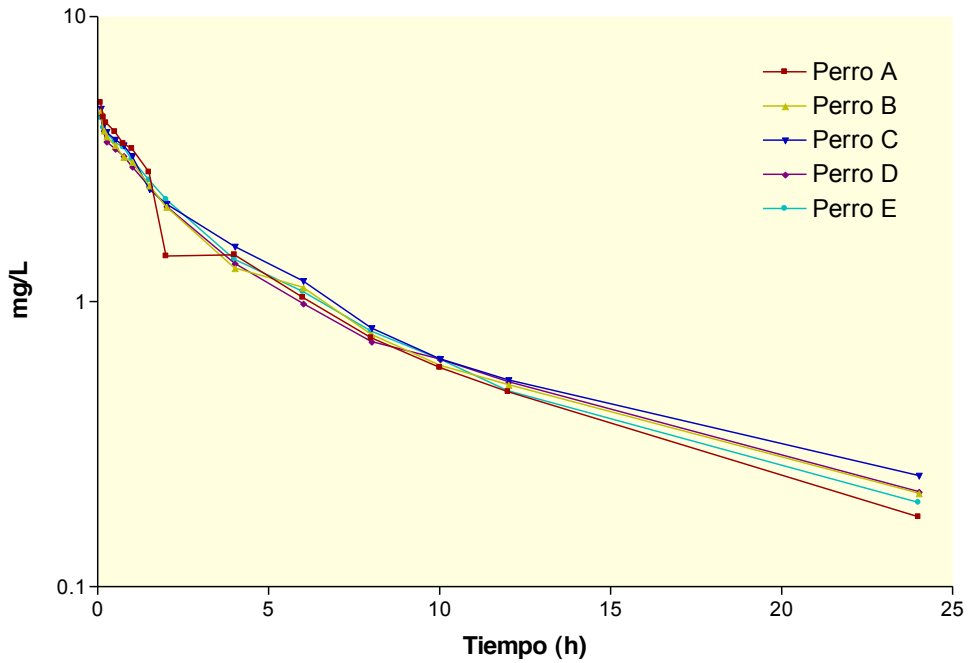
Tiempo (h)	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E
0,083	5'004	4'6823	4'7682	4'5872	4'4296
0,167	4'4459	3'9984	4'1887	3'9875	4'0791
0,25	4'2401	3'8126	3'9477	3'6521	3'9345
0,5	3'9453	3'5483	3'7145	3'4452	3'6315
0,75	3'5868	3'2256	3'5419	3'2523	3'4865
1	3'4471	3'1002	3'2553	2'9870	3'1570
1,5	2'8519	2'5647	2'4876	2'5432	2'6710
2	1'4457	2'1560	2'2046	2'1687	2'2870
4	1'4611	1'3142	1'5642	1'3658	1'4081
6	1'0362	1'1231	1'1842	0'9879	1'0875
8	0'7471	0'7682	0'8102	0'7254	0'7882
10	0'5878	0'5989	0'6311	0'6294	0'6294
12	0'4832	0'5122	0'5321	0'5244	0'4873
24	0'1761	0'2132	0'2458	0'2156	0'1978

TABLA 15.- Concentraciones plasmáticas experimentales de tilosina, expresadas en mg/L, en cada perro tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg.

Tiempo (h)	n	Media	SD	SE	CV(%)
0,083	5	4,6942	0,2138889	0,0956540	4'5565
0,167	5	4,0728	0,2894178	0,1294316	7'1061
0,25	5	3,9173	0,2159768	0,0965878	5'5134
0,5	5	3,6569	0,1893807	0,0846936	5'1787
0,75	5	3,4186	0,1680342	0,0751472	4'9153
1	5	3,1893	0,1736157	0,0776433	5'4437
1,5	5	2,6237	0,1439516	0,0643771	5'4866
2	5	2,0525	0,3427605	0,1532872	16'6997
4	5	1,4226	0,0957921	0,0428395	6'7336
6	5	1,0838	0,0759793	0,0339790	7'0104
8	5	0,7677	0,0333805	0,0149282	4'3481
10	5	0,6153	0,0204143	0,0091295	3'9238
12	5	0,5078	0,0218846	0,0097871	4'3097
24	5	0,2097	0,0256628	0,0114767	12'3786

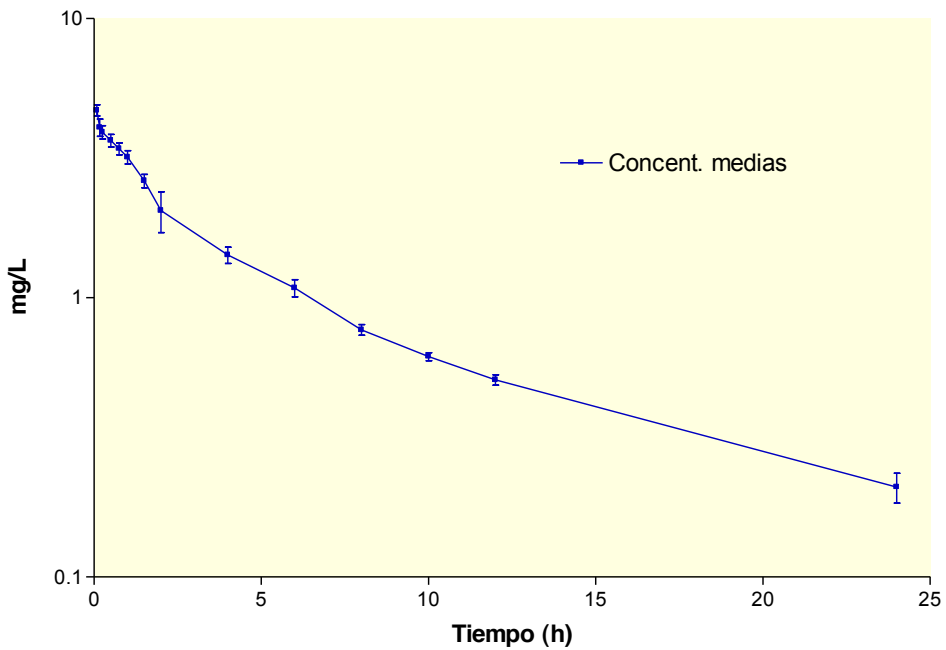
TABLA 16.- Concentraciones plasmáticas medias experimentales de tilosina, expresadas en mg/L, tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg junto a su desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

Tilosina IV



GRÁFICA 9.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de tilosina obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg a cada perro (A, B, C, D y E).

Concentraciones medias Tilosina IV



GRÁFICA 10.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de tilosina obtenidas en perros tras la administración intravenosa de una dosis de 5 mg/kg.

La validez estadística de dichas concentraciones ha sido comprobada mediante pruebas no paramétricas, los test de Kruskal-Wallis y de Monte Carlo. Son pruebas no paramétricas análogas a una prueba paramétrica ANOVA de una vía. Las hipótesis nulas que se han establecido son:

1. las concentraciones de tilosina no varían entre los distintos perros,
2. las concentraciones de tilosina no varían entre los distintos tiempos de extracción.

Pruebas de homogeneidad de Varianzas para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentraciones entre perros	Valor-P	0,993
Prueba de Monte Carlo para Concentraciones entre perros	Valor-P	0'993
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentraciones entre tiempos	Valor-P	<0,001
Prueba de Monte Carlo para Concentraciones entre tiempos	Valor-P	<0,001

TABLA 17.- Test de Kruskal-Wallis y de Monte Carlo para las concentraciones plasmáticas, tras la administración intravenosa de tilosina a dosis de 5 mg/kg, entre perros y entre tiempos de extracción.

Estas pruebas estadísticas nos dicen que debemos aceptar la hipótesis nula, es decir, que no hay diferencias estadísticamente significativas, en el primer supuesto y rechazarla, es decir, que existen diferencias estadísticamente significativas, en el segundo supuesto. Esto era lo esperado y confirma la validez de los datos obtenidos (Tabla 17).

Con los datos experimentales, se ha llevado a cabo, un análisis farmacocinético ajustando las concentraciones de cada perro a modelos mono, bi y tricompartmentales. Para ello se ha utilizado el programa de análisis farmacocinético WINNONLIN Professional® (versión 5.0). Para discernir cual modelo es más exacto, se ha recurrido al Criterio de Información de Akaike o AIC (Yamaoka y cols., 1978). En ningún caso se logró un ajuste al modelo tricompartmental. En el ajuste a los dos modelos restantes, se obtuvieron los valores de AIC que se muestran en la Tabla 18.

Valores de AIC. Administración IV

	Modelo Monocompartimental	Modelo Bicompartimental
Perro A	6'312558	-5'505403
Perro B	3'767116	-16'890475
Perro C	3'871573	-15'103034
Perro D	3'883325	-22'519191
Perro E	2'870085	-24'389769

TABLA 18.- Valores de AIC obtenidos en el ajuste de las concentraciones plasmáticas experimentales de tilosina, a una dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa, a los modelos farmacocinéticos mono y bicompartimental.

Los parámetros farmacocinéticos bicompartimentales junto con sus estadísticos se muestran, respectivamente, en las Tablas 19 y 20, mientras que en las Tablas 21 y 22 están representados los resultados del estudio farmacocinético no compartimental.

Parámetros	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E
C_0 (ug/L)	5'122	4'341	4'397	4'273	4'350
$t_{1/2} \lambda_1$ (h) *	0'8816	1'3725	1'6372	1'3796	1'5497
$t_{1/2} \lambda_z$ (h) *	7'3841	9'0454	10'4316	9'4062	8'7948
A (ug/L)	3'5159	3'0229	3'2067	3'0132	3'0544
λ_1 (h ⁻¹)	0'7862	0'5050	0'4234	0'5024	0'4473
B (ug/L)	1'6056	1'3177	1'1906	1'2602	1'2953
λ_z (h ⁻¹)	0'0939	0'0766	0'0664	0'0737	0'0788
k ₁₀ (h ⁻¹)	0'2374	0'1872	0'1725	0'1850	0'1870
k ₁₂ (h ⁻¹)	0'3318	0'1877	0'1542	0'1910	0'1506
k ₂₁ (h ⁻¹)	0'3109	0'2067	0'1631	0'2001	0'1885
V _c (L/Kg)	0'9763	1'1519	1'1371	1'1700	1'1495
V _p (L/Kg)	1'0418	1'0463	1'0753	1'1166	0'9181
V _{ss} (L/kg)	2'0181	2'1982	2'2124	2'2866	2'0675

TABLA 19.- Parámetros farmacocinéticos bicompartimentales de tilosina, deducidos tras la administración intravenosa, a dosis de 5 mg/kg, en cada uno de los perros.

Parámetros	n	Media	SD	SE	CV (%)
C_0 (ug/L)	5	4'4966	0'3524	0'1576	7'8370
$t_{1/2} \lambda_1$ (h) *	5	1'3008	-	-	-
		1'3641	0'2925	0'1308	21'4400
$t_{1/2} \lambda_z$ (h) *	5	8'8990	-	-	-
	5	9'0124	1'1033	0'4934	12'9543
A (ug/L)	5	3'1626	0'2123	0'0949	6'7132
λ_1 (h ⁻¹)	5	0'5329	0'1459	0'0653	27'3884
B (ug/L)	5	1'3339	0'1593	0'0712	11'9450
λ_z (h ⁻¹)	5	0'0779	0'0101	0'0045	12'9543
k10 (h ⁻¹)	5	0'1938	0'0251	0'0112	124'5491
k12 (h ⁻¹)	5	0'2031	0'0743	0'0332	36'6007
k21 (h ⁻¹)	5	0'2137	0'0567	0'0253	26'5307
Vc (L/Kg)	5	1'1169	0'0795	0'0355	7'1179
Vp (L/Kg)	5	1'0396	0'0742	0'0332	7'1401
Vss (L/Kg)	5	2'1566	0'1105	0'0494	5'1252

TABLA 20.- Media de los parámetros farmacocinéticos bicompartimentales de tilosina, deducidos tras la administración intravenosa, a dosis de 5 mg/kg, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

* Las semividas se expresan como media armónica y media aritmética.

Parámetros	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\times\text{h}/\text{L}$)	21'5763	23'1585	25'4920	23'0991	23'2641
MRT (h)	8'7086	10'1913	11'2798	10'5637	9'6199
CL (L/kg/h)	0'2317	0'2157	0'1961	0'2165	0'2149
Vss (L/kg)	2'0178	2'1983	2'2120	2'2870	2'0673
Vz (L/kg)	2'4687	2'8147	2'9518	2'9374	2'7270

TABLA 21.- Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada oveja tras la administración intravenosa de tilosina a dosis de 5 mg/kg.

Parámetros	n	Media	SD	SE	CV (%)
AUC_{0-∞} (μg×h/L)	5	23'3180	1'3996	0'6259	6'0022
MRT (h)*	5	9'9956	-	-	-
	5	10'0727	0'8692	0'3887	8'6299
CL (L/h/Kg)	5	0'2150	0'0126	0'0056	5'8785
V_{ss} (L/Kg)	5	2'1565	0'11074	0'0495	5'1352
V_z (L/kg)	5	2'7799	0'1970	0'0881	7'0860

TABLA 22.- Media de parámetros farmacocinéticos no compartimentales de tilosina obtenidos tras la administración intravenosa, a dosis de 5 mg/kg, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

* Los MRT se expresan como media armónica y media aritmética.

La validez estadística de dichos parámetros ha sido comprobada mediante pruebas no paramétricas, los test de Kruskal-Wallis y de Monte Carlo. Las hipótesis nulas que se han establecido son:

3. los parámetros IV de tilosina no varían entre los distintos perros,
4. los parámetros IV de tilosina no varían entre ellos para un mismo animal.

Pruebas de homogeneidad de Varianzas para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para parámetros IV entre perros	Valor-P	0,450
Prueba de Monte Carlo para parámetros IV entre perros	Valor-P	1'000
Prueba de Kruskal-Wallis para parámetros en un mismo perro	Valor-P	<0,001
Prueba de Monte Carlo para parámetros en un mismo perro	Valor-P	<0,001

TABLA 23.- Test de Kruskal-Wallis y de Monte Carlo para las concentraciones plasmáticas, tras la administración intravenosa de tilosina a dosis de 5 mg/kg, entre perros y entre tiempos de extracción.

Estas pruebas estadísticas (Tabla 23) nos dicen que debemos aceptar la hipótesis nula, es decir, que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los mismos parámetros en los distintos perros (primer supuesto) y rechazarla, es decir, que existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos parámetros en cada perro (segundo supuesto). Esto era lo esperado y confirma la validez de los datos obtenidos.

4.2.1.2. Concentraciones en el compartimento periférico

Con los parámetros farmacocinéticos bicompartimentales anteriores se han obtenido las ecuaciones que describen la evolución de las concentraciones de tilosina en el compartimento periférico. Dichas ecuaciones son las siguientes:

$$\text{Perro A: } C_p = 1'6056 (e^{-0'093871t} - e^{-0'7862t}) \text{ mg/L}$$

$$\text{Perro B: } C_p = 1'3177 (e^{-0'07663t} - e^{-0'505025t}) \text{ mg/L}$$

$$\text{Perro C: } C_p = 1'1906 (e^{-0'06647t} - e^{-0'423361t}) \text{ mg/L}$$

$$\text{Perro D: } C_p = 1'2602 (e^{-0'073691t} - e^{-0'502421t}) \text{ mg/L}$$

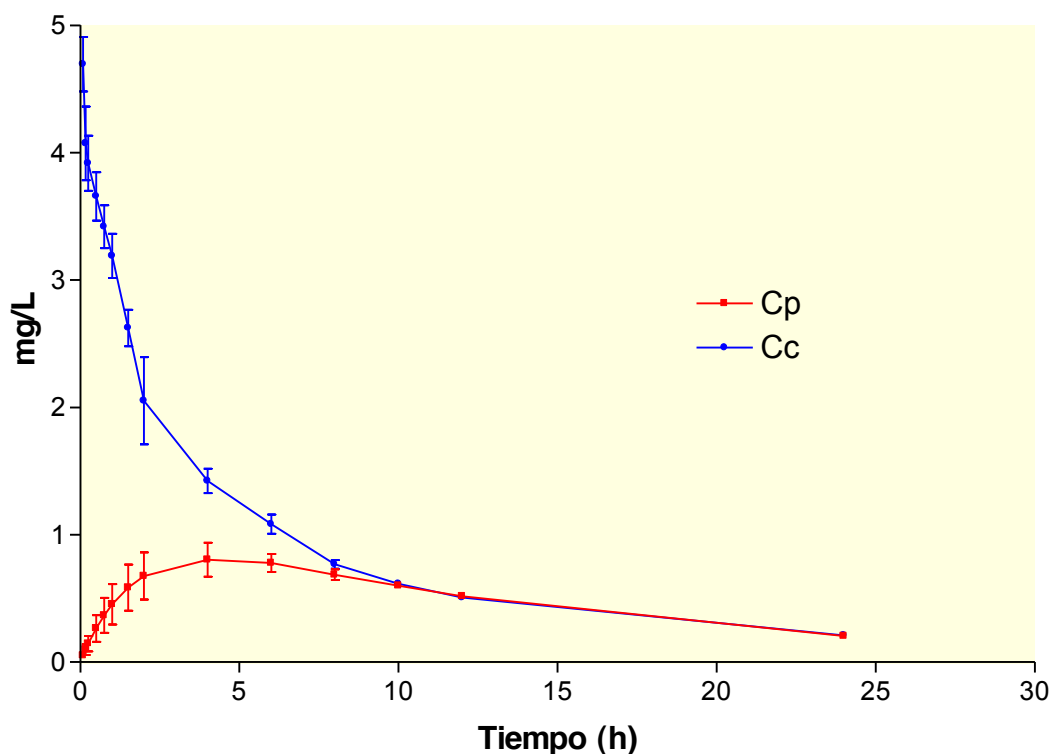
$$\text{Perro E: } C_p = 1'2953 (e^{-0'078814t} - e^{-0'447269t}) \text{ mg/L}$$

$$\text{Ecuación media: } C_p = 1'3339 (e^{-0'0779t} - e^{-0'5329t}) \text{ mg/L}$$

Con las anteriores ecuaciones, se han obtenido los valores teóricos de concentración en el compartimento periférico, en cada perro, que se muestran en la Tabla 24, junto con sus valores medios, la desviación típica y el error de la media. Las concentraciones teóricas medias de tilosina en el compartimento periférico se representan gráficamente, junto con las concentraciones medias experimentales en el compartimento central, en la Gráfica 9.

Tiempo (h)	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E	Media	SD	SE
0,083	0'0890	0'0457	0'0346	0'0438	0'0388	0'0504	0'0220	0'0099
0,167	0'1726	0'0898	0'0681	0'0860	0'0754	0'0984	0'0424	0'0189
0,25	0'2493	0'1313	0'0999	0'1258	0'1118	0'1436	0'0603	0'0270
0,5	0'4483	0'2445	0'1882	0'2344	0'2095	0'2650	0'1048	0'0469
0,75	0'6061	0'3419	0'2660	0'3279	0'2948	0'3673	0'1367	0'0611
1	0'7303	0'4253	0'3344	0'4082	0'3689	0'4534	0'1587	0'0710
1,5	0'9010	0'5568	0'4467	0'5352	0'4887	0'5857	0'1813	0'0811
2	0'9975	0'6505	0'5318	0'6262	0'5769	0'6766	0'1851	0'0828
4	1'0338	0'7950	0'6937	0'7696	0'7286	0'8041	0'1341	0'0600
6	0'8998	0'7683	0'7587	0'7481	0'7187	0'7787	0'0702	0'0314
8	0'7547	0'6906	0'6593	0'6763	0'6533	0'6868	0'0407	0'0182
10	0'6274	0'6039	0'5952	0'5949	0'5742	0'5991	0'0192	0'0086
12	0'5204	0'5223	0'5288	0'5175	0'4984	0'5175	0'0114	0'0051
24	0'1687	0'2094	0'2415	0'2150	0'1954	0'2060	0'0267	0'0119

TABLA 24.- Concentraciones teóricas de tilosina, expresadas en mg/L, en el compartimento periférico en cada perro tras la administración intravenosa, de una dosis de 5 mg/kg, junto con sus medias, desviación típica y error de la media.



GRÁFICA 11.- Evolución de las concentraciones medias experimentales de tilosina en el compartimento central (concentraciones plasmáticas) y de las concentraciones medias teóricas de tilosina en el compartimento periférico, en mg/L.

En la Gráfica 11, se observa que las concentraciones de tilosina en el compartimento periférico aumentan hasta llegar a una concentración máxima de 0'8041 mg/L, a las 4 horas, de la administración, para ir descendiendo posteriormente. Una vez que se obtiene el equilibrio en la distribución, hecho que ocurre alrededor de las 10-12 horas, la evolución de las concentraciones en ambos compartimentos es prácticamente idéntica, igualándose las concentraciones en ambos compartimentos.

4.2.1.3.- Evolución de las cantidades de tilosina en el organismo

Con los parámetros farmacocinéticos bicompartimentales se han obtenido las ecuaciones que describen la evolución de las cantidades totales de tilosina en el organismo en cada perro. Dichas ecuaciones son las siguientes:

$$\begin{aligned} \text{Perro A: } At &= 1'7598 e^{-0'7862t} + 1'6727 e^{-0'093871t} \text{ mg} \\ \text{Perro B: } At &= 2'1035 e^{-0'505025t} + 1'3787 e^{-0'07663t} \text{ mg} \\ \text{Perro C: } At &= 2'3660 e^{-0'423361t} + 1'2803 e^{-0'06647t} \text{ mg} \\ \text{Perro D: } At &= 2'1183 e^{-0'502421t} + 1'4072 e^{-0'073691t} \text{ mg} \\ \text{Perro E: } At &= 2'3219 e^{-0'447269t} + 1'1892 e^{-0'078814t} \text{ mg} \\ \text{Ecuación media: } At &= 2'1339 e^{-0'5329t} + 1'3856 e^{-0'0779t} \text{ mg} \end{aligned}$$

Utilizando las anteriores ecuaciones, se han calculado las cantidades totales de tilosina en el organismo de cada animal, cuyos valores aparecen en la Tabla 25.

Tiempo (h)	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E	Media	SD	SE
0'083	3'3084	3'3871	3'5575	3'4304	3'4187	3'4204	0'0902	0'0403
0'167	3'1900	3'2945	3'4706	3'3378	3'3284	3'3243	0'1006	0'0450
0,25	3'0797	3'2065	3'3875	3'2497	3'2422	3'2331	0'1100	0'0492
0,5	2'7838	2'9609	3'1530	3'0040	2'9998	2'9803	0'1321	0'0591
0,75	2'5348	2'7419	2'9403	2'7848	2'7811	2'7566	0'1454	0'0650
1	2'3246	2'5464	2'7473	2'5889	2'5836	2'5582	0'1517	0'0678
1,5	1'9941	2'2151	2'4125	2'2569	2'2436	2'2244	0'1499	0'0670
2	1'7516	1'9489	2'1355	1'9898	1'9649	1'9581	0'1372	0'0614
4	1'2249	1'2937	1'4164	1'3318	1'2556	1'3045	0'0743	0'0332
6	0'9681	0'9721	1'0458	1'0083	0'8997	0'9788	0'0543	0'0243
8	0'7926	0'7838	0'8322	0'8185	0'6979	0'7850	0'0524	0'0234
10	0'6549	0'6542	0'6929	0'6874	0'5672	0'6513	0'0503	0'0225
12	0'5424	0'5546	0'5913	0'5863	0'4727	0'5495	0'0476	0'0213
24	0'1758	0'2192	0'2598	0'2400	0'1794	0'2148	0'0369	0'0165

TABLA 25. Cantidades totales de tilosina, en mg/kg, en el organismo de cada perro tras la administración intravenosa, de una dosis de 5 mg/kg, junto con sus medias, desviación típica y error de la media.

De igual manera, se han obtenido las ecuaciones que describen la evolución de las cantidades de tilosina eliminadas del organismo a lo largo del tiempo en cada animal.

Dichas ecuaciones son las siguientes:

$$\begin{aligned} \text{Perro A: } Ae &= 1'0363 (1 - e^{-0'7862t}) + 3'9636 (1 - e^{-0'093871t}) \text{ mg} \\ \text{Perro B: } Ae &= 1'2907 (1 - e^{-0'505025t}) + 3'7079 (1 - e^{-0'07663t}) \text{ mg} \\ \text{Perro C: } Ae &= 1'4856 (1 - e^{-0'423361t}) + 3'5143 (1 - e^{-0'06647t}) \text{ mg} \\ \text{Perro D: } Ae &= 1'2982 (1 - e^{-0'502421t}) + 3'7018 (1 - e^{-0'073691t}) \text{ mg} \\ \text{Perro E: } Ae &= 1'4677 (1 - e^{-0'447269t}) + 3'5322 (1 - e^{-0'078841t}) \text{ mg} \end{aligned}$$

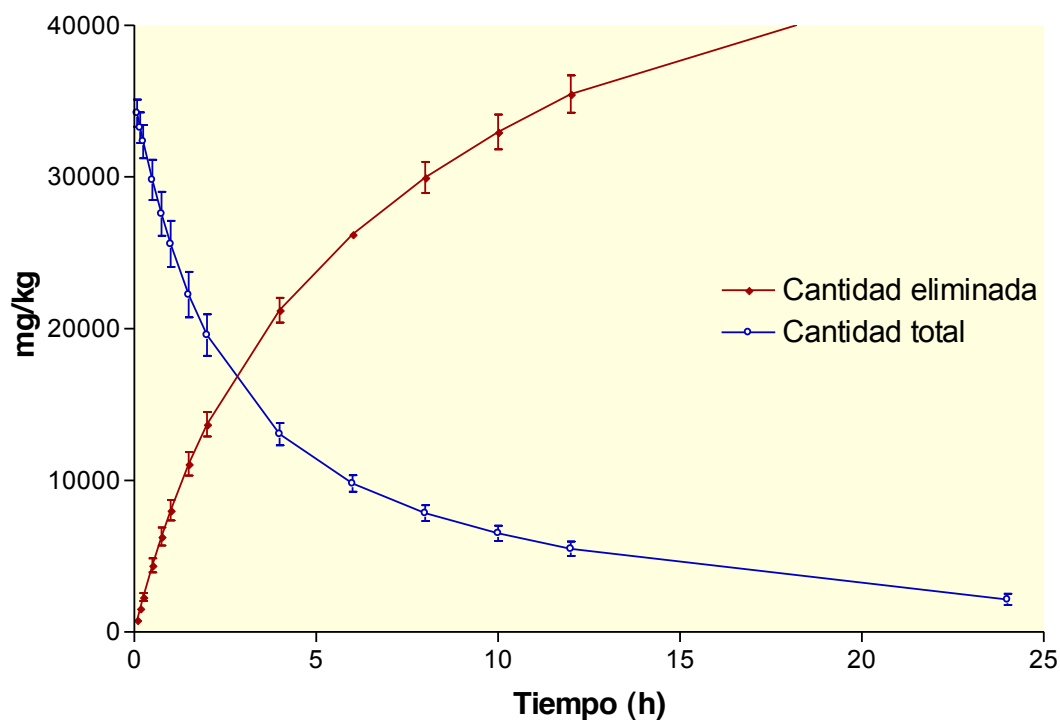
$$\text{Ecuación media: } Ae = 1'3157 (1 - e^{-0'5329t}) + 3'6840 (1 - e^{-0'0779t}) \text{ mg}$$

Con ellas se han calculados los valores correspondientes a cada tiempo y cada perro, cuyos valores se muestran en la Tabla 26.

Tiempo (h)	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E	Media	SD	SE
0,083	0'0962	0'0765	0'0706	0'0756	0'0765	0'0799	0'0098	0'0044
0,167	0'1892	0'1515	0'1402	0'1498	0'1518	0'1565	0'0189	0'0084
0,25	0'2768	0'2234	0'2071	0'2208	0'2242	0'2305	0'0268	0'0120
0,5	0'5186	0'4274	0'3983	0'4223	0'4306	0'4394	0'0460	0'0206
0,75	0'7311	0'6140	0'5751	0'6066	0'6211	0'6296	0'0594	0'0266
1	0'9193	0'7853	0'7388	0'7757	0'7971	0'8032	0'0684	0'0306
1,5	1'2382	1'0882	1'0318	1'0746	1'1113	1'1088	0'0779	0'0348
2	1'4997	1'3475	1'2860	1'3302	1'3830	1'3693	0'0808	0'0361
4	2'2324	2'0984	2'0329	2'0692	2'1778	2'1221	0'0815	0'0364
6	2'7339	2'5950	2'5243	2'5573	2'6987	2'6218	0'0091	0'0041
8	3'1275	2'9673	2'8848	2'9237	3'0791	2'9965	0'1032	0'0461
10	3'4492	3'2672	3'1705	3'2198	3'3775	3'2968	0'1146	0'0512
12	3'7149	3'5173	3'4079	3'4680	3'6217	3'5460	0'1227	0'0549
24	4'5834	4'4092	4'2870	4'3686	4'4674	4'4232	0'1111	0'0497

TABLA 26. Cantidades eliminadas de tilosina, en mg/kg, en cada perro tras la administración intravenosa, de una dosis de 5 mg/kg, junto con sus medias, desviación típica y error de la media.

En la Gráfica 12 se muestran las cantidades totales medias de tilosina en el organismo, junto con las cantidades eliminadas en los mismos tiempos. En dicha gráfica se observa como la cantidad eliminada tiende a la dosis administrada (5 mg/kg) y como los valores de cantidad total existente y cantidad eliminada se igualan alrededor de las tres horas (entre las 2 y las 4 horas).



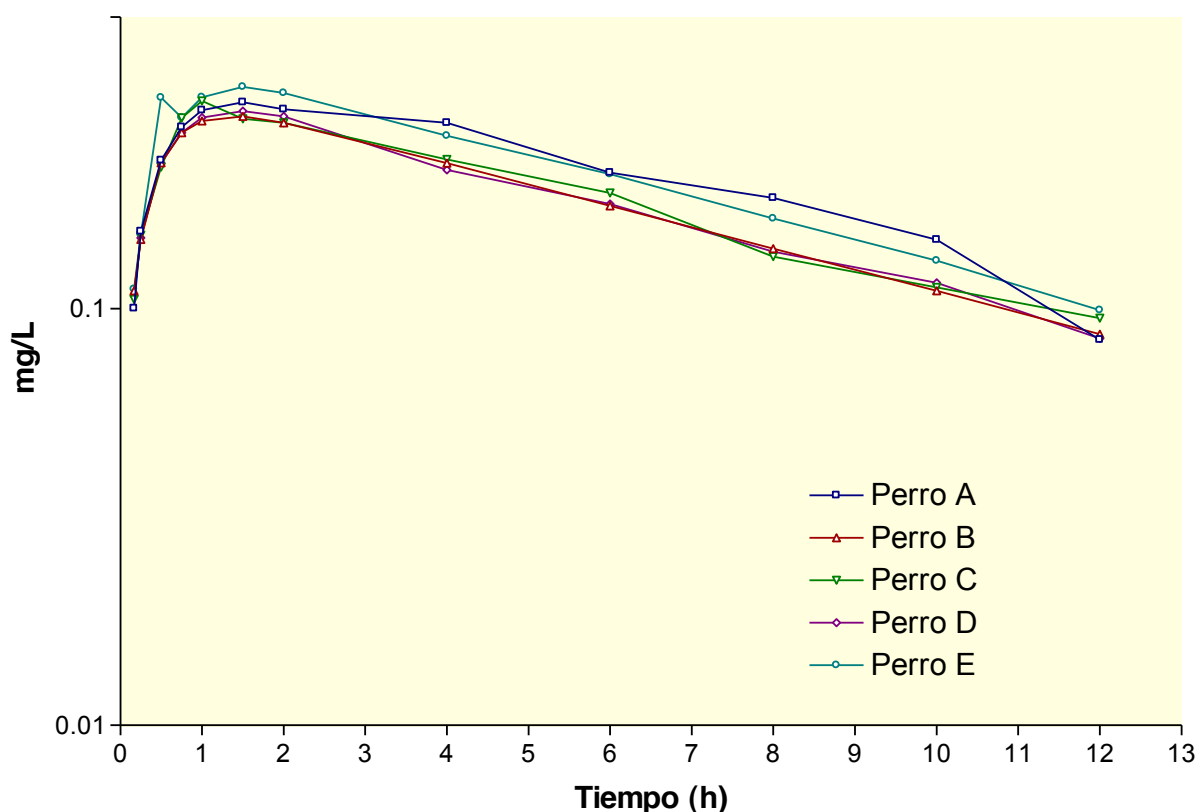
GRÁFICA 12.- Evolución de las cantidades totales medias de tilosina en el organismo y de las cantidades medias eliminadas de tilosina, en mg/kg.

4.2.2. Administración oral de tilosina.

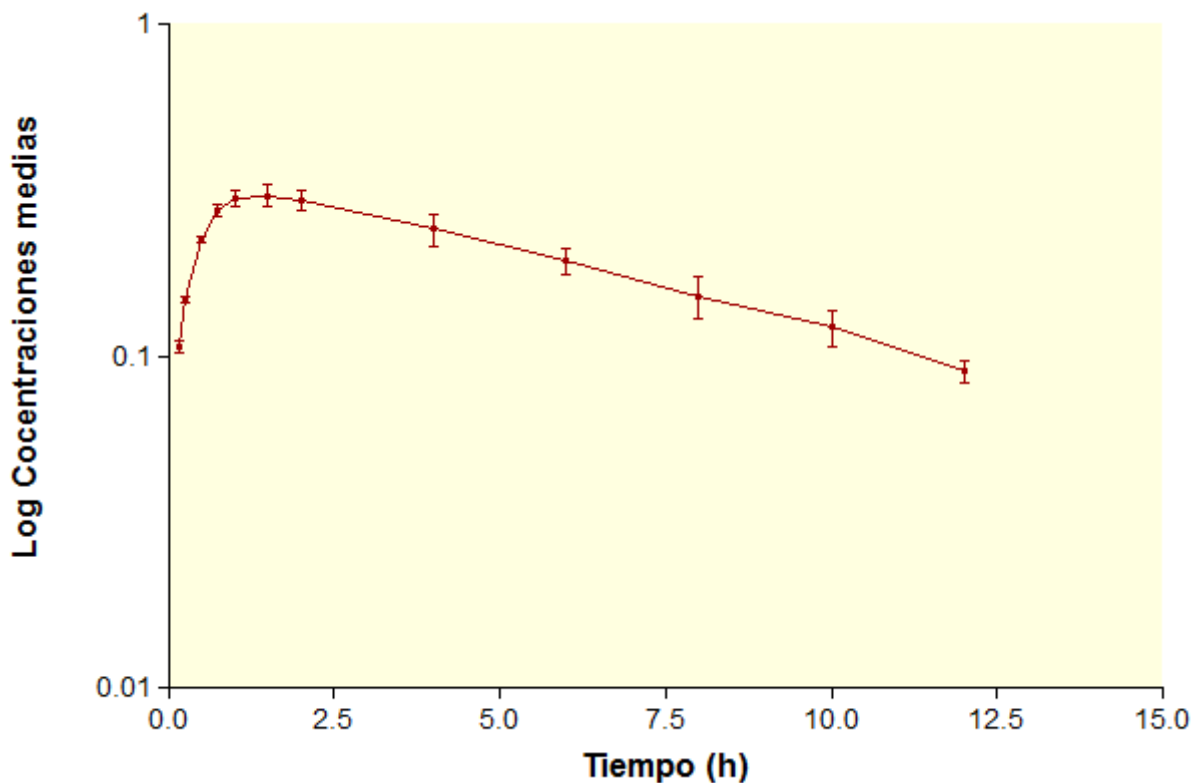
Tras la administración oral de 5 mg/kg de tilosina en perros, se obtuvieron los valores de concentración plasmática que se muestran en las Tabla 26. Se observa en todos los animales un aumento de los niveles plasmáticos hasta aproximadamente 1,5 h descendiendo con posterioridad hasta las 12 h. En la Gráfica 13 se muestra la representación semilogarítmica individual para cada una de los cinco perros, y en la Gráfica 14 las concentraciones medias de los mismos.

Tiempo (h)	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E	Media	SD	SE	CV(%)
0,167	0'1001	0'1102	0'1052	0'1074	0'1112	0,1065	0,0046	0'0020	4'2786
0,25	0'1532	0'1464	0'1499	0'1477	0'1506	0,1485	0,0030	0'0013	1'9887
0,5	0'2268	0'2238	0'2183	0'2232	0'3208	0,2245	0,0050	0'0022	2'2380
0,75	0'2722	0'2642	0'2864	0'2643	0'2873	0,2747	0,0113	0'0051	4'1182
1	0'2989	0'2819	0'3148	0'2869	0'3210	0,3006	0,0168	0'0075	5'5993
1,5	0'3127	0'2891	0'2851	0'2973	0'3402	0,3048	0,0224	0'0999	7'4307
2	0'3008	0'2789	0'2787	0'2888	0'3291	0,2955	0,0208	0'0093	7'0504
4	0'2788	0'2233	0'2279	0'2152	0'2599	0,2411	0,0270	0'0121	11'2086
6	0'2119	0'1764	0'1892	0'1781	0'2101	0,1928	0,01723	0'0077	8'9332
8	0'1842	0'1392	0'1332	0'1369	0'1643	0,1515	0,0221	0'0098	14'5684
10	0'1463	0'1103	0'1124	0'1152	0'1302	0,1224	0,0153	0'0068	12'5132
12	0'0841	0'0868	0'0948	0'0847	0'0991	0,0899	0,0065	0'0029	7'2402

TABLA 26.- Concentraciones plasmáticas experimentales de tilosina a los diversos tiempos de extracción, expresadas en mg/L en cada perro tras la administración oral de una dosis de 5 mg/kg, junto con sus estadísticos.



GRÁFICA 13.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de tilosina obtenidas tras la administración oral de una dosis de 5 mg/kg a cada perro (A, B, C, D y E).



GRÁFICA 14.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de tilosina obtenidas en perro tras la administración oral de una dosis de 5 mg/kg.

Al igual que para la vía intravenosa se ha realizado un análisis de Kruskal-Wallis para comprobar la homogeneidad de los datos (Tabla 27).

Pruebas de homogeneidad de Varianzas para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentraciones entre perros	Valor-P	0,892
Prueba de Monte Carlo para Concentraciones entre perros	Valor-P	0,896
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentraciones entre tiempos	Valor-P	<0,001
Prueba de Monte Carlo para Concentraciones entre tiempos	Valor-P	<0,001

TABLA 27.- Test de Kruskal-Wallis y de Monte Carlo para las concentraciones plasmáticas, tras la administración oral de tilosina a dosis de 5 mg/kg, entre perros y entre tiempos de extracción.

Las concentraciones experimentales de cada animal se han ajustado a modelos compartimentales sin tiempo de latencia. A continuación, en la Tabla 28, se muestra los distintos valores de AIC obtenidos.

Valores de AIC. Administración oral

	Modelo Monocompartimental		Modelo Bicompartimental	
	Sin tiempo de latencia	Con tiempo de latencia	Sin tiempo de latencia	Con tiempo de latencia
Perro A	-9'9084	- 8'7835	-11'8714*	- 11'7676*
Perro B	-42'6209	- 40'3912	-40'6210	- 44'6632*
Perro C	-16'3612	- 16'1023	-15'2439	- 14'4523
Perro D	-25'7309	- 24'4696	-24'4780	- 23'2112
Perro E	-29'0041	- 28'5450	-24'389769	No ajusta

TABLA 28.- Valores de AIC obtenidos en el ajuste de las concentraciones plasmáticas experimentales de tilosina, a una dosis de 5 mg/kg por vía oral, a los modelos farmacocinéticos mono y bicompartimental. * La ecuación de ajuste da dos componentes negativos.

El ajuste al modelo monocompartimental sin tiempo de latencia es el más adecuado, atendiendo al AIC, en los perros C, D y E. En el perro A el AIC es menor para el ajuste bicompartimental, sin y con tiempo de latencia. Sin embargo, las ecuaciones obtenidas tienen dos componentes negativas, lo cual significa que no es posible el modelo bicompartimental, que exige dos componentes positivas y una negativa (señala un modelo monocompartimental con dos fases de absorción). En el perro B, ocurre que el AIC es menor para un hipotético modelo bicompartimental con tiempo de latencia, pero la ecuación de ajuste también tiene dos componentes negativas. Por todo ello, se puede asumir que las concentraciones plasmáticas de tilosina, tras la administración oral de una dosis de 5 mg/kg, se ajustan mejor al modelo monocompartimental sin tiempo de latencia. En las tablas 29 y 30 se muestran los parámetros farmacocinéticos monocompartimentales, junto con los estadísticos, y en las Tablas 31 y 32 los parámetros farmacocinéticos no compartimentales.

Parámetros	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E
C_{max} (mg/L)	0'3292	0'2888	0'2961	0'2919	0'3348
T_{max} (h)	1'6239	1'3508	1'3812	1'3712	1'5411
t_{1/2} Ke (h)	5'7704	5'8689	5'9206	5'7798	5'7079
t_{1/2} Ka (h)	0'3892	0'2984	0'3066	0'3063	0'3631
Ke(h⁻¹)	0'1201	0'1181	0'1171	0'1199	0'1214
Ka (h⁻¹)	1'7808	2'3231	2'2606	2'2628	1'9091
Vd (L/Kg)	1'9292	1'8281	1'6753	1'8049	1'7698

TABLA 29.- Parámetros farmacocinéticos monocompartimentales deducidos tras la administración oral de tilosina, a dosis de 5 mg/kg, a cada una de los perros a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste.

Parámetros	n	Media	SD	SE	CV (%)
C_{max} (mg/L)	5	0'3882	0'02197	0'0098	7'1286
T_{max} (h)	5	1'4536	0'1218	0'0544	8'3760
t_{1/2} Ke (h) *	5	5'8095 5'8074	- 0'0378	- 0'0846	- 14'5563
t_{1/2} Ka (h) *	5	0'3289 0'3327	- 0'0408	- 0'0183	- 12'2741
Ke(h⁻¹)	5	0'1199	0'0027	0'0012	22'6952
Ka (h⁻¹)	5	2'1073	0'2450	0'1096	11'6272
V_d (L/Kg)	5	1'8014	0'0921	0'0412	5'1132

TABLA 30.- Media de parámetros farmacocinéticos monocompartimentales deducidos tras la administración oral de tilosina, a dosis de 5 mg/kg, a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación. * Las semividas se expresan como media armónica y media aritmética.

Parámetros	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E
AUC_{0-∞} (mgxh/L)	3'3279	2'8733	2'9759	2'8744	3'3225
MRT (h)	9'3029	10'6545	11'7549	11'0384	10'1765
MAT (h)	0'5943	0'4632	0'4751	0'4747	0'5566
CL/F (L/kg/h)	1'5025	1'7402	1'6801	1'7395	1'5049
CL**	0'2318	0'2159	0'1961	0'2165	0'2149
V_z/F (L/kg)	12'5079	14'7341	14'3511	14'5045	12'3924
V_z**	1'9292	1'8281	1'6753	1'8049	1'7698
F (%)	15'4239	12'4071	11'6738	12'4438	14'2817

TABLA 31.- Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada perro tras la administración oral de tilosina a dosis de 5 mg/kg. ** El Cl y el Vz se expresan corregidos atendiendo a la biodisponibilidad (F) en tanto por uno.

Parámetros	n	Media	SD	SE	CV (%)
AUC _{0-∞} (mg×h/L)	5	3'0748	0'2323	0'1039	7'5566
MRT (h)*	5	10'5204	-	-	-
		10'5854	0'1220	0'0545	1'4555
MAT (h)*	5	0'5076	-	-	-
		0'5128	0'0589	0'0263	11'49023
CL/F (L/kg/h)	5	1'6334	0'1209	0'0541	7'4031
CL**		0'2150	0'0127	0'0057	5'9070
Vz/F (L/kg)	5	13'6980	1'1480	0'5134	8'3806
Vz**		1'8015	0'0921	0'0412	5'1124
F (%)	5	13'2461	1'5520	0'6941	11'7167

TABLA 32.- Media de parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos tras la administración oral de tilosina a dosis de 5 mg/kg, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación. * El MRT y el MAT se expresan como media armónica y media aritmética. ** El CL y el Vz se expresan corregidos atendiendo a la biodisponibilidad (F) en tanto por uno.

Igual que se hizo en la administración IV, la validez estadística de los parámetros farmacocinéticos “orales” ha sido comprobada mediante pruebas no paramétricas, los test de Kruskal-Wallis y de Monte Carlo. Las hipótesis nulas que se han establecido son:

5. los parámetros PO de tilosina no varían entre los distintos perros,
6. los parámetros POV de tilosina no varían entre ellos para un mismo animal.

Pruebas de homogeneidad de Varianzas para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para parámetros PO entre perros	Valor-P	0,446
Prueba de Monte Carlo para parámetros PO entre perros	Valor-P	1'000
Prueba de Kruskal-Wallis para parámetros en un mismo perro	Valor-P	<0,001
Prueba de Monte Carlo para parámetros en un mismo perro	Valor-P	<0,001

TABLA 33.- Test de Kruskal-Wallis y de Monte Carlo para los parámetros, tras la administración oral de tilosina a dosis de 5 mg/kg, entre perros y en un mismo perro.

Los valores de significación obtenidos (Tabla 33) en las anteriores pruebas indican que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los mismos parámetros en los distintos perros y que existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos parámetros en cada perro. Esto confirma la validez de los datos obtenidos.

4.3. INFLIXIMAB.

4.3.1. Administración intravenosa de infliximab: Evolución de las concentraciones plasmáticas de infliximab.

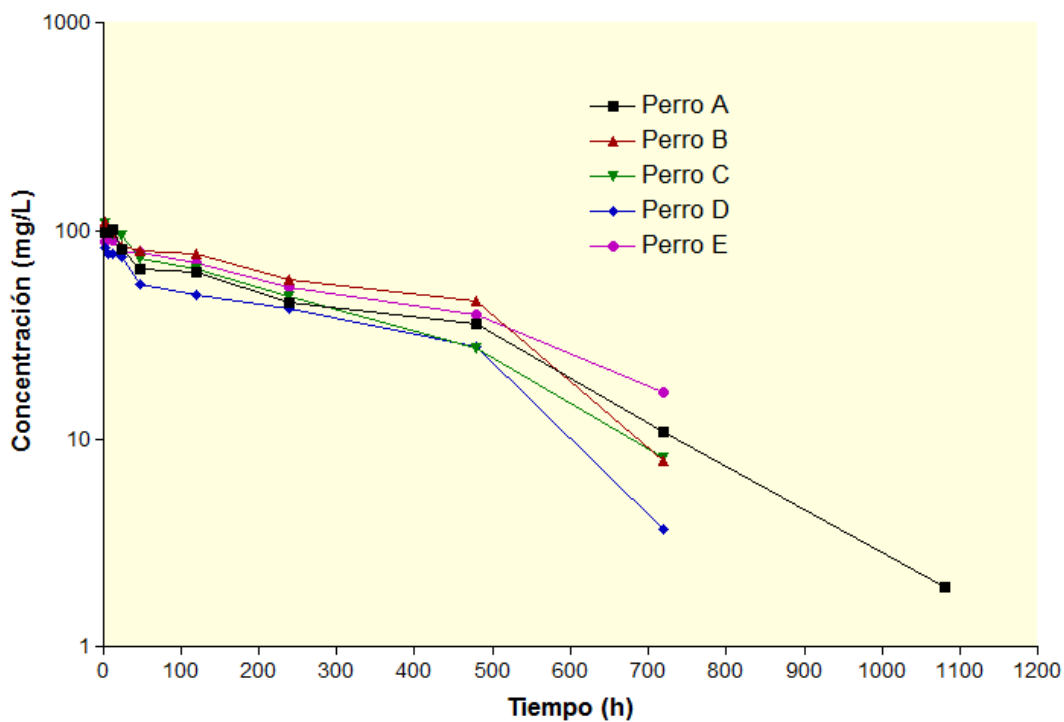
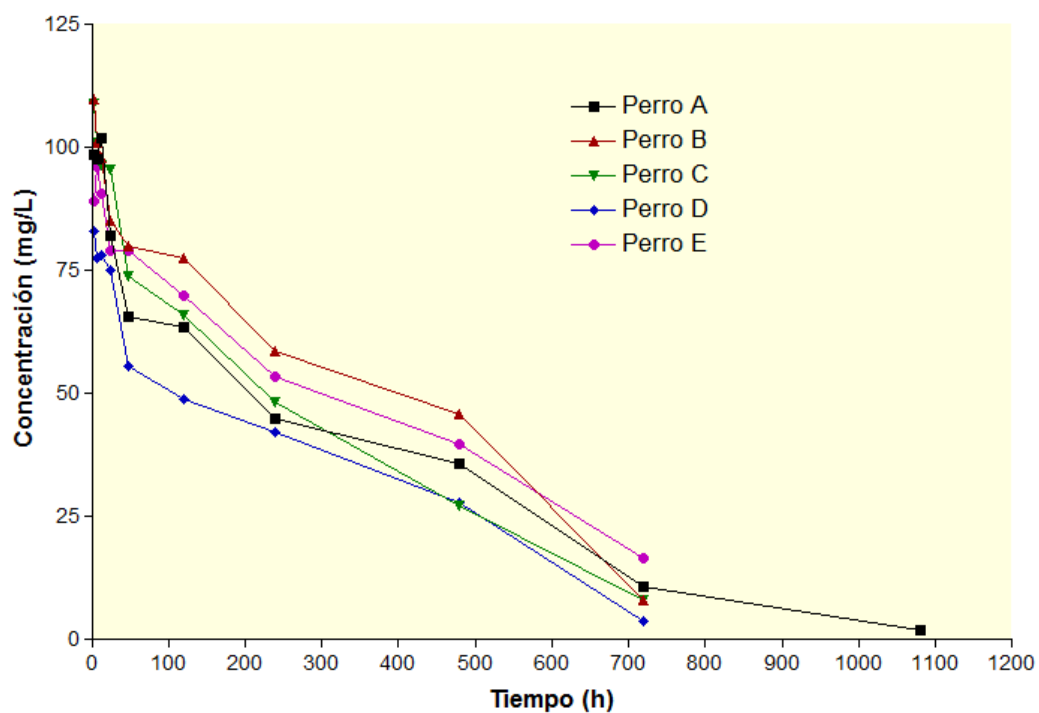
Tras la administración mediante infusión intravenosa de 5 mg/kg de infliximab durante hora y media, en 5 perros de raza Beagle, se han obtenido los valores de concentración plasmática, a los distintos tiempos de extracción, que se muestran en la Tabla 34. En todos los casos, se produce un lento descenso de las concentraciones plasmáticas durante las 24 primeras horas tras la administración, para seguir con un descenso algo menos lento a partir de entonces. Esto queda más manifiesto si se observan las Gráficas 15 (representaciones de cada perro) y 16 (representación de las concentraciones medias).

Tiempo (h)	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E
3	98'5	110'0	109'0	83'0	89'0
6	97'5	101'0	101'0	77'5	96'0
12	102'0	98'0	96'5	78'0	90'5
24	82'0	85'0	95'5	75'0	79'0
48	65'5	80'0	74'0	55'5	79'0
120	63'5	77'5	66'0	48'9	70'0
240	44'9	58'5	48'2	42'2	53'5
480	35'6	45'9	27'2	27'9	39'6
720	10'8	7'85	8'1	3'65	16'6
1080	1'95	-	-	-	-

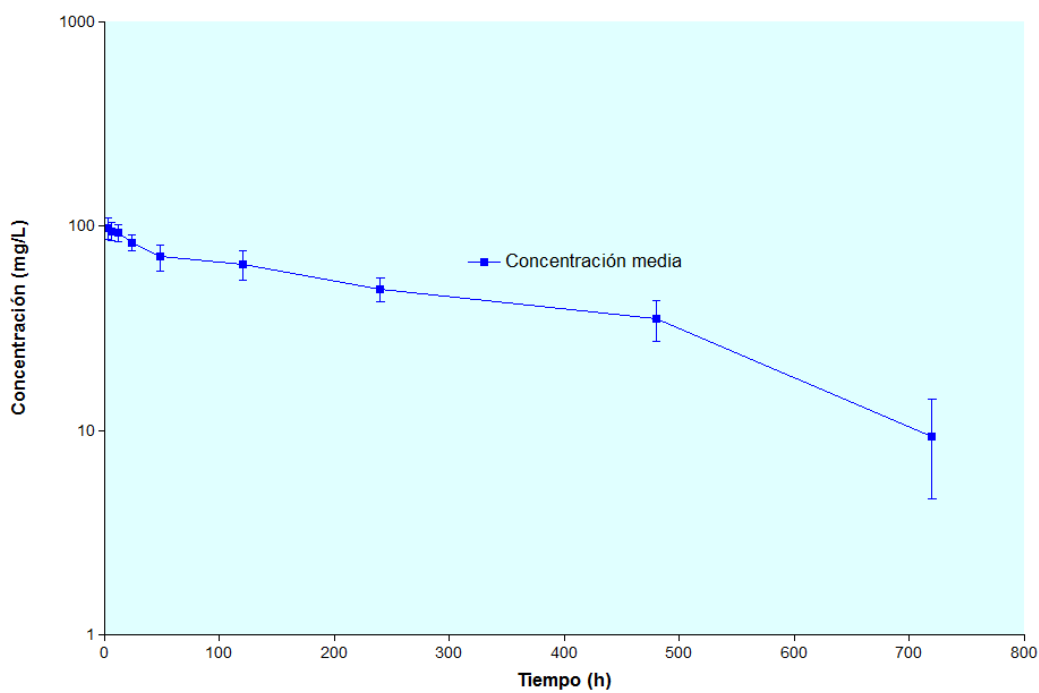
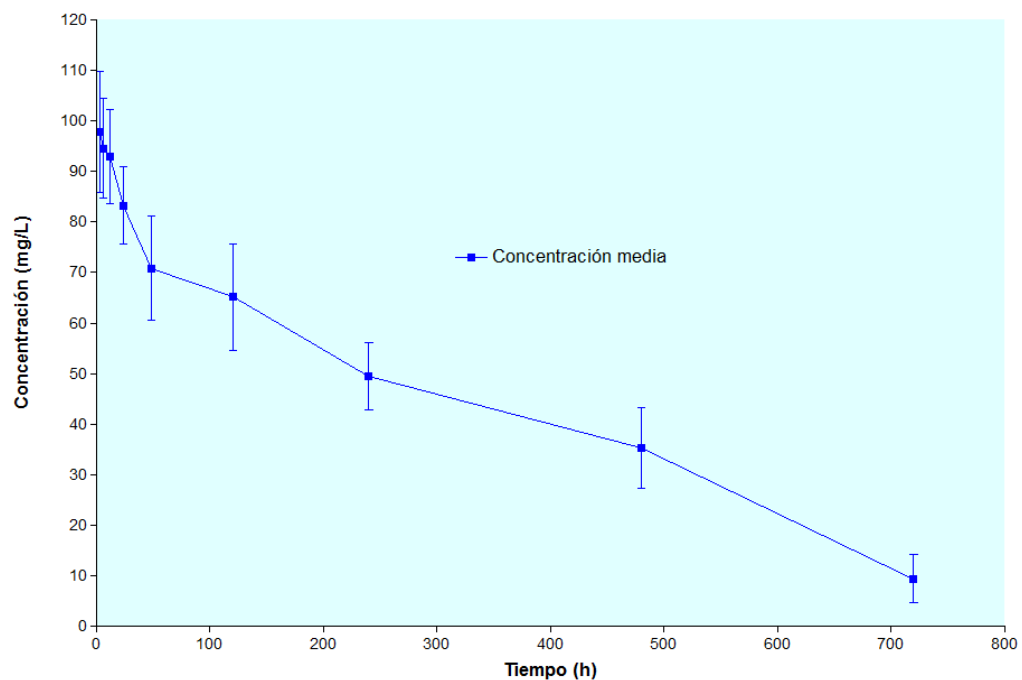
TABLA 34.- Concentraciones plasmáticas experimentales de infliximab, expresadas en mg/L, en cada perro tras la administración mediante infusión intravenosa de una dosis de 5 mg/kg, durante hora y media.

Tiempo (h)	n	Media	SD	SE	CV (%)
3	5	97,9000	11,94990	5,34416	12'2062
6	5	94,6000	9,80689	4,38577	10'3667
12	5	93,0000	9,34746	4,18031	10'0510
24	5	83,3000	7,75887	3,46987	9'3144
48	5	70,8000	10,29927	4,60597	14'5470
120	5	65,1800	10,53029	4,70929	16'1557
240	5	49,4600	6,57898	2,94221	13'3016
480	5	35,2400	7,92610	3,54466	22'4918
720	5	9,4000	4,76852	2,13255	50'7289
1080	5				

TABLA 35.- Concentraciones plasmáticas medias experimentales de infliximab, expresadas en mg/L, tras la administración mediante infusión intravenosa de una dosis de 5 mg/kg, durante hora y media, junto a su desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.



GRÁFICA 15.- Representación gráfica directa y semilogarítmica de las concentraciones experimentales de infliximab a obtenidas tras la administración mediante infusión intravenosa de una dosis de 5 mg/kg, durante hora y media, a cada perro (A, B, C, D y E).



GRÁFICA 16.- Representación gráfica directa y semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de infliximab obtenidas en perros tras la administración mediante infusión intravenosa de una dosis de 5 mg/kg, durante hora y media.

La validez estadística de dichas concentraciones ha sido comprobada mediante pruebas no paramétricas, los test de Kruskal-Wallis y de Monte Carlo. Las hipótesis nulas que se han establecido son:

7. las concentraciones de infliximab no varían entre los distintos perros,
8. las concentraciones de infliximab no varían entre los distintos tiempos de extracción.

Pruebas de homogeneidad de Varianzas para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentraciones entre perros	Valor-P	0,583
Prueba de Monte Carlo para Concentraciones entre perros	Valor-P	0'598
Prueba de Kruskal-Wallis para Concentraciones entre tiempos	Valor-P	<0,001
Prueba de Monte Carlo para Concentraciones entre tiempos	Valor-P	<0,001

TABLA 36.- Test de Kruskal-Wallis y de Monte Carlo para las concentraciones plasmáticas, tras la infusión intravenosa de infliximab a dosis de 5 mg/kg, durante hora y media, entre perros y entre tiempos de extracción.

Estas pruebas estadísticas (Tabla 36) nos dicen que debemos aceptar la hipótesis nula, es decir, que no hay diferencias estadísticamente significativas, en el primer supuesto y rechazarla, es decir, que existen diferencias estadísticamente significativas, en el segundo supuesto. Esto era lo esperado y confirma la validez de los datos obtenidos.

Con los datos experimentales, se ha llevado a cabo, un análisis farmacocinético compartimental ajustando las concentraciones de cada perro a modelos mono y bicompartimentales, sin ponderación y con ponderación al inverso de la concentración ($1/Y$) y al inverso del cuadrado de la concentración ($1/Y^2$). Tan solo en un caso se pudo ajustar al modelo bicompartimental. Para ello se ha utilizado el programa de análisis farmacocinético WINNONLIN Professional® (versión 5.0). Para discernir cual es el mejor ajuste, se ha recurrido al Criterio de Información de Akaike o AIC (Yamaoka y cols., 1978).

Los valores de AIC obtenidos en el ajuste monocompartimental según la ponderación de las concentraciones se muestran en la Tabla 37. Los parámetros farmacocinéticos monocompartimentales de cada animal aparecen en la Tabla 38, en tanto que los valores medios, junto con otros estadísticos, se muestran en la Tabla 39.

Valores de AIC. Administración IV. Modelo Monocompartimental

	Sin ponderación	Ponderación 1/Y	Ponderación 1/Y ²
Perro A	68'6785	55'5297	31'2476
Perro B	61'6195	62'0195	52'2111
Perro C	55'0359	50'1827	40'7831
Perro D	56'8622	54'3559	40'4567
Perro E	49'8220	49'3206	46'6311

TABLA 37.- Valores de AIC obtenidos en el ajuste de las concentraciones plasmáticas experimentales de infliximab, a una dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa, durante hora y media, al modelo farmacocinético monocompartimental.

Parámetros	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E
C ₀ (ug/L)	18660'8502	20721'1181	20075'8199	13234'0154	27134'3427
λ _z (h ⁻¹)	0'003448	0'003364	0'003357	0'004083	0'002231
t _{1/2} λ _z (h)	201'0505	206'0588	206'4569	169'7530	310'7186
MRT (h)	290'0545	297'2800	297'8544	244'9017	448'2722
Vd (L/kg)	0'051806	0'047820	0'049460	0'061689	0'055063
CL (L/h/Kg)	0'000179	0'000161	0'000166	0'000252	0'000123
AUC (hmg/L)	27994'2706	31083'2381	30110'7886	19849'7990	40705'2087

TABLA 38.- Parámetros farmacocinéticos monocompartimentales de infliximab, deducidos tras la administración intravenosa, a dosis de 5 mg/kg, durante hora y media, en cada uno de los perros.

Parámetros	n	Media	SD	SE	CV (%)
C ₀ (ug/L)	5	19965'2289	4974'6973	2224'7523	24'9168
λ _z (h ⁻¹)		0'003297	0'000668	0'0002987	20'2641
t _{1/2} λ _z (h) *	5	210'2630			
	5	218'8076	53'58258	23'962858	24'4884
MRT (h)*	5	303'3453			
		315'6726	77'3034	34'5711	24'4884
Vd (L/Kg)	5	0'053168	0'005486	0'0024536	10'3182
CL (L/h/Kg)	5	0'000176	0'000047	0'000021	26'7991
AUC (mg×h/L)	5	29948'6610	7463'6373	3337'8401	24'9214

TABLA 39.- Media de los parámetros farmacocinéticos monocompartimentales de infliximab, deducidos tras la administración intravenosa, a dosis de 5 mg/kg, durante hora y media, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

* Las semividas se expresan como media armónica y media aritmética.

Además, se ha llevado a cabo un ajuste no compartimental con los datos de concentración plasmática no ponderados y con los datos ponderados al inverso de la concentración ($1/Y$) y al cuadrado del inverso de la concentración ($1/Y^2$). A la hora de escoger el mejor ajuste, se han tenido en cuenta el coeficiente de determinación (R^2), que mide la proporción de variación de la variable dependiente (C) explicada por la variable independiente (t), y el de regresión (r), que mide el grado de asociación entre las dos variables (C y t). Dichos valores, aparecen en la tabla 40. Los parámetros farmacocinéticos no compartimentales, para cada animal, se muestran que en la Tabla 41. Sus estadísticos correspondientes aparecen en la Tabla 42.

Perro	Valores de r y R^2 . Administración IV.					
	Sin ponderación		Ponderación $1/Y$		Ponderación $1/Y^2$	
	r	R^2	r	R^2	r	R^2
Perro A	-0'9791	0'9586	-0'9895	0'9790	-0'9902	0'9805
Perro B	-0'9704	0'9417	-0'9704	0'9417	-0'9400	0'8835
Perro C	-0'9911	0'9824	-0'9911	0'9824	-0'9882	0'9766
Perro D	-0'9844	0'9690	-0'9844	0'9694	-0'9842	0'9624
Perro E	-0'9847	0'9696	-0'9880	0'9761	-0'9878	0'9758

TABLA 40.- Valores de r y R^2 obtenidos en el ajuste no compartimental de las concentraciones plasmáticas experimentales de infliximab, a una dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa, durante hora y media, con las distintas formas de ponderación.

Parámetros	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E
Ke (h^{-1})	0'003329	0'003616	0'003501	0'002767	0'002404
$t_{1/2}$ (h)	208'2267	191'6645	197'9997	250'4821	288'3733
AUC _{0-∞} (mg×h/L)	33171'0448	39135'1305	31746'7909	29426'7335	41479'6759
MRT (h)	315'6014	300'3688	289'9437	368'0943	413'6391
CL (L/kg/h)	0'000151	0'000128	0'000157	0'000170	0'000121
V _{ss} (L/kg)	0'047572	0'038376	0'045665	0'062544	0'049860
V _z (L/kg)	0'045282	0'035328	0'044989	0'050149	0'061402
AUMC	10493706'5376	11784323'4290	9228593'2784	10853883'6407	17188726'4053

TABLA 41.- Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada perro tras la infusión intravenosa de infliximab a dosis de 5 mg/kg, durante media hora.

Parámetros	n	Media	SD	SE	CV (%)
Ke (h ⁻¹)	5	0'003123	0'0005178	0'0002316	16'5802
t ^{1/2} (h)*	5	221'6206 227'3493	41'1082	18'3841	18'0815
AUC _{0-∞} (μg×h/L)	5	34991'8751	5100'8558	2281'1721	14'5773
MRT (h)*	5	331'5430 337'5295	52'0890	23'2949	15'4324
CL (L/h/Kg)	5	0'0001453	0'0000206	0'0000092	14'2081
V _{ss} (L/Kg)	5	0'048803	0'008804	0'003937	18'0394
V _z (L/kg)	5	0'047430	0'009482	0'004240	19'9915
AUMc		11909846'66	3089982'115	1381882'012	25'9448

TABLA 42.- Media de parámetros farmacocinéticos no compartimentales de infliximab obtenidos tras la infusión intravenosa, a dosis de 5 mg/kg, durante hora y media, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

* Las semividas y los MRT se expresan como media armónica y media aritmética.

La validez estadística de dichos parámetros ha sido comprobada mediante pruebas no paramétricas, los test de Kruskal-Wallis y de Monte Carlo. Las hipótesis nulas que se han establecido son:

9. los parámetros IV de infliximab no varían entre los distintos perros,
10. los parámetros IV de infliximab no varían entre ellos para un mismo animal.

Pruebas de homogeneidad de Varianzas para la Concentración		
Prueba de Kruskal-Wallis para parámetros IV entre perros	Valor-P	0,450
Prueba de Monte Carlo para parámetros IV entre perros	Valor-P	1'000
Prueba de Kruskal-Wallis para parámetros en un mismo perro	Valor-P	<0,001
Prueba de Monte Carlo para parámetros en un mismo perro	Valor-P	<0,001

TABLA 43.- Test de Kruskal-Wallis y de Monte Carlo para los parámetros, tras la infusión intravenosa de infliximab a dosis de 5 mg/kg, durante hora y media, entre perros y en un mismo perro.

Estas pruebas estadísticas (Tabla 43) nos dicen que debemos aceptar la hipótesis nula, es decir, que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los mismos parámetros en los distintos perros ($p > 0'05$) y rechazarla, es decir, que existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos parámetros en cada perro ($p < 0'05$). Esto era lo esperado y confirma la validez de los datos obtenidos.

4.3.2. Comparación de los ajustes compartimental y no compartimental.

4.3.2.1.- Parámetros farmacocinéticos de infliximab.

Los valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos, compartimentales y no compartimentales de infliximab para las dos vías, se resumen en la Tabla 44.

Parámetros	n	Monocompartimental	No compartimental
λ_z (h ⁻¹)	5	0'003297	0'003123
$t_{1/2} \lambda_z$ (h) *	5	210'2630*	221'6206*
	5	218'8076	227'3493
		303'3453*	331'5430*
MRT (h)*	5	315'6726	337'5295
Vd-Vss (L/Kg)	5	0'053168	0'048803
CL (L/h/Kg)	5	0'000176	0'0001453
AUC (mg×h/L)	5	29948'6610	34991'8751

TABLA 44.- Valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos en plasma tras la infusión de una dosis de 5mg/kg de infliximab por vía intravenosa durante media hora, obtenidos por ajuste compartimental y no compartimental.

En estos casos para establecer o no diferencias estadísticas, es más exacto/robusto un test paramétrico. Por ello, se ha procedido, primero a ver si los mismos parámetros están relacionados mediante un análisis de correlación, y, posteriormente, tras comprobar que así ocurre, llevar a cabo un análisis de igualdad de varianzas mediante una prueba T para muestras relacionadas (Tabla 45). Los parámetros farmacocinéticos elegidos son aquellos que obviamente resultan comparables: λ_z -Ke, $t_{1/2} \lambda_z$ - $t_{1/2} Ke$, Vss-Vd, AUC y CL.

Parámetros	Significación
Compartimental-no compartimental	
$t_{1/2} - t_{1/2}$	0'002
$\lambda_z - K_e$	< 0'001
$V_{ss} - V_d$	0'008
AUC - AUC	< 0'001
CL - CL	0'994
MRT - MRT	0'011
V_z - V_z	0'001

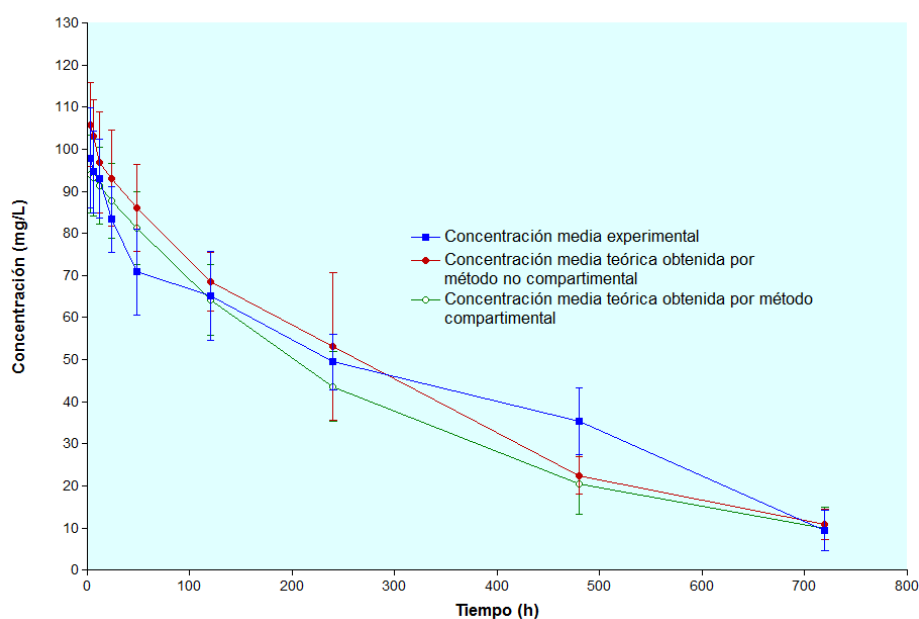
TABLA 45.- Prueba T entre los principales parámetros farmacocinéticos compartimentales y no compartimentales obtenidos tras la administración de una dosis de 5mg/kg de infliximab por vía intravenosa (IV) y oral (PO).

En todos los casos, excepto para el aclaramiento ($p > 0'05$), se observa que existen diferencias significativas entre los parámetros compartimentales y los no compartimentales ($p < 0'05$).

4.3.2.2.- Evolución de las concentraciones teóricas de infliximab.

Dado que se han obtenido diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros farmacocinéticos monocompartimentales y no compartimentales, se ha estimado conveniente ver detalladamente como predicen la evolución temporal de las concentraciones ambos ajustes. Con los datos de concentraciones teóricas obtenidos por el programa WinNonlin, tras ajuste compartimental y ajuste no compartimental, se han obtenidos las concentraciones medias para ambos ajustes. La Gráfica 17, presenta dichos valores medios (\pm SD) de concentración plasmática teórica de infliximab en perros, obtenidos por métodos compartimental y no compartimental, junto con los valores medios experimentales.

Para comprobar si existen diferencias entre las concentraciones que, a cada intervalo de tiempo, se obtienen con ambos ajustes, se ha llevado a cabo una Test de Levene. Los resultados del mismo aparecen en la tabla 46.



GRÁFICA 17. Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas medias teóricas (\pm SD) de infliximab obtenidas en perros tras la administración mediante infusión intravenosa de una dosis de 5 mg/kg, durante hora y media, obtenidas por métodos compartimentales y no compartimentales, junto a los valores medios de concentración experimentales.

	F	Significación	t	gl	Significación bilateral
Tiempo 3	0,008	0,932	1,700	6	0,140
			1,663	4,055	0,171
Tiempo 6	0,016	0,903	1,672	7	0,138
			1,686	6,758	0,137
Tiempo 12	0,181	0,682	0,819	8	0,437
			0,819	7,446	0,438
Tiempo 24	0,142	0,716	0,812	8	0,440
			0,812	7,537	0,442
Tiempo 48	0,053	0,823	0,812	8	0,440
			0,812	7,759	0,441
Tiempo 120	0,082	0,782	0,901	8	0,394
			0,901	7,735	0,395
Tiempo 240	1,525	0,252	1,096	8	0,305
			1,096	5,717	0,317
Tiempo 480	0,255	0,628	0,551	8	0,597
			0,551	6,754	0,600
Tiempo 720	0,224	0,649	0,387	8	0,709
			0,387	7,169	0,710
Tiempo 1080	.	.	-0,213	4	0,842

TABLA 46. Resultado del test de Levene al comparar las concentraciones teóricas que se obtienen con ajuste monocompartimental y ajuste no compartimental.

Por tanto, no existen diferencias entre las concentraciones predichas por ambos métodos de ajuste farmacocinético, las diferencias en los parámetros quizá sean debidas a la pequeña magnitud de las mismas. Como puede observarse, no existen diferencias entre las concentraciones teóricas que se obtienen con ambos métodos de ajuste farmacocinético. Sin embargo, se aprecia claramente en la Gráfica 17, que ambos ajustes, prevén concentraciones ligeramente superiores a las experimentales hasta las 180 h, concentraciones más igualadas en torno a las 240 h, y concentraciones ligeramente inferiores a las experimentales a partir de las 480 h. Los valores de obtenidos mediante ajuste compartimental son, en todo momento, inferiores a los obtenidos por ajuste no compartimental.

4.3.3. Ajuste monocompartimental.

4.3.3.1. Concentraciones plasmáticas de infliximab

La ecuación que define las concentraciones plasmáticas de un fármaco, tras su infusión intravenosa durante un periodo de tiempo (TI) es la siguiente:

$$C = (D/TI) (1/VKe) (e^{-KeTstar} - e^{-Ket}),$$

Donde TI es la duración de la infusión (en este caso 1'5 h);

Tstar el tiempo desde instante 0, de forma que: si $t > TI$, $Tstar = t - TI$

si $t < TI$, $Tstar = 0$

En el presente caso, estas ecuaciones adquieren, para cada perro, los siguientes valores:

Perro A: $C = 18660'8502 (e^{-0'003448Tstar} - e^{-0'003448t})$ mg/L

Perro B: $C = 20721'1181 (e^{-0'003364Tstar} - e^{-0'003364t})$ mg/L

Perro C: $C = 20075'8199 (e^{-0'003357Tstar} - e^{-0'003357t})$ mg/L

Perro D: $C = 13234'0154 (e^{-0'004083Tstar} - e^{-0'004083t})$ mg/L

Perro E: $C = 27134'3427 (e^{-0'002231Tstar} - e^{-0'002231t})$ mg/L

La ecuación media, que puede ser considerada la ecuación que rige la evolución de las concentraciones plasmáticas de infliximab en función del tiempo, tras la infusión

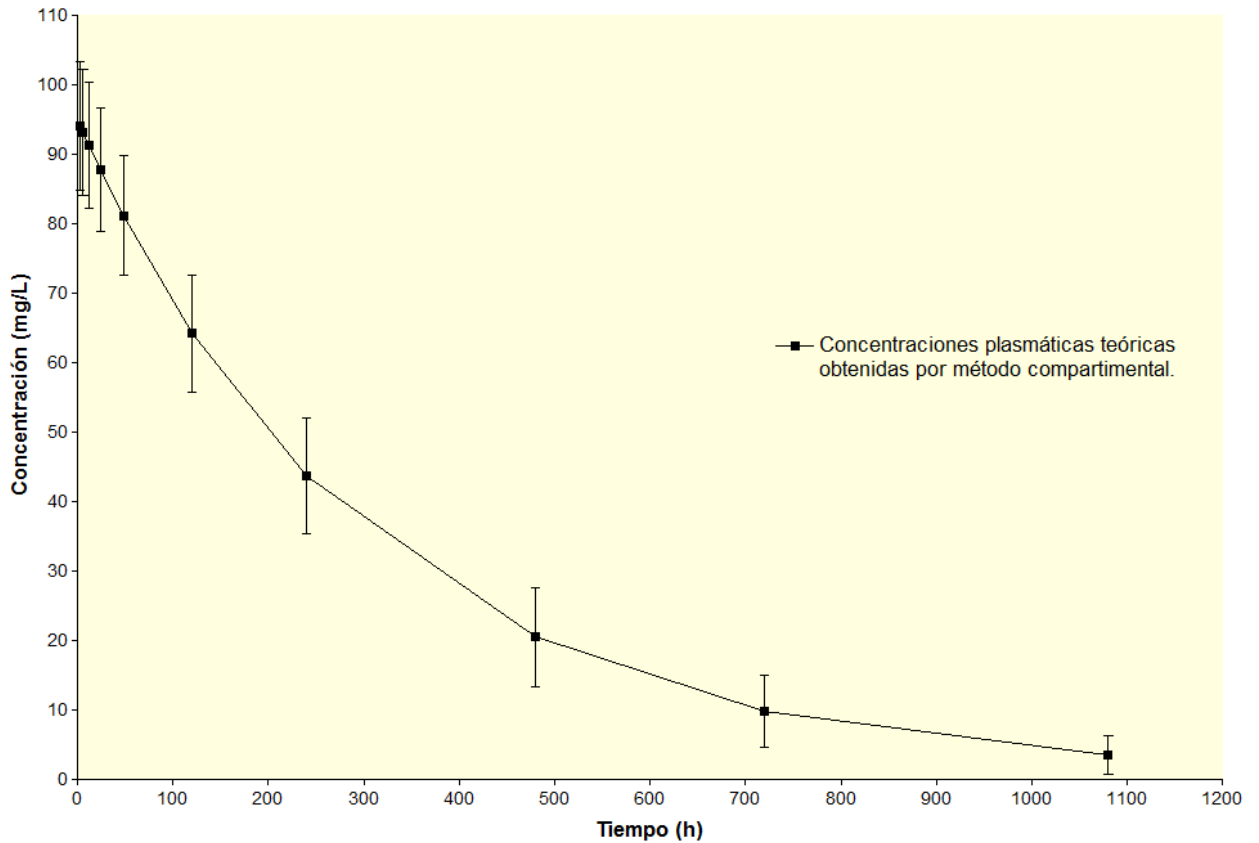
intravenosa de una dosis de 5mg/Kg durante hora y media en perro de raza beagle, es la siguiente:

$$C = 19965'2289 (e^{-0'003297Tstar} - e^{-0'003297t}) \text{ mg/L}$$

Las concentraciones teóricas de infliximab, a lo largo del tiempo en cada perro, así como la media y otros estadísticos de las mismas, se muestran en la Tabla 47. En la Gráfica 18 se muestra la evolución de las concentraciones medias experimentales de infliximab en el perro.

Tiempo (h)	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E	Media	SD	SE
3	95'6031	103'7705	100'3316	80'3110	90'3501	94'0733	9'2033	4'1158
6	94'6194	102'7286	99'3262	79'3332	89'7474	93'1509	9'1452	4'0898
12	92'6822	100'6760	97'3454	77'4132	88'5542	91'3342	9'0380	4'0419
24	88'9261	96'6930	93'5014	73'7114	86'2151	87'8094	8'8580	3'9614
48	81'8642	89'1936	86'2630	66'8305	81'7206	81'1744	8'6128	3'8518
120	63'8689	70'0083	67'7397	49'8074	69'5948	64'2038	8'4057	3'7592
240	42'2294	46'7565	45'2766	30'5136	53'2499	43'6052	8'3521	3'7351
480	18'4615	20'8558	20'2272	11'4523	31'1747	20'4343	7'0736	3'1634
720	8'0708	9'3028	9'0364	4'2982	18'2509	9'7918	5'1358	2'2968
1080	2'3329	2'7714	2'6983	0'9883	8'1754	3'3933	2'7680	1'2379

TABLA 47. Concentraciones plasmáticas teóricas de infliximab en cada uno de los perros y valores medios, a lo largo del tiempo.



GRÁFICA 18. Representación gráfica de las concentraciones plasmáticas medias teóricas (\pm SD) de infliximab obtenidas en perros tras la administración mediante infusión intravenosa de una dosis de 5 mg/kg, durante hora y media.

4.3.3.2. Evolución de las cantidades de infliximab en el organismo

Con los parámetros farmacocinéticos monocompartimentales se han obtenido las ecuaciones que describen la evolución de las cantidades totales de infliximab en el organismo en cada perro. Dichas ecuaciones son las siguientes:

Perro A: $A = 966'7440 (e^{-0'003448Tstar} - e^{-0'003448t})$ mg/kg

Perro B: $A = 990'8839 (e^{-0'003364Tstar} - e^{-0'003364t})$ mg/kg

Perro C: $A = 992'9501 (e^{-0'003357Tstar} - e^{-0'003357t})$ mg/kg

Perro D: $A = 816'3932 (e^{-0'004083Tstar} - e^{-0'004083t})$ mg/kg

Perro E: $A = 1494'0983 (e^{-0'002231Tstar} - e^{-0'002231t})$ mg/kg

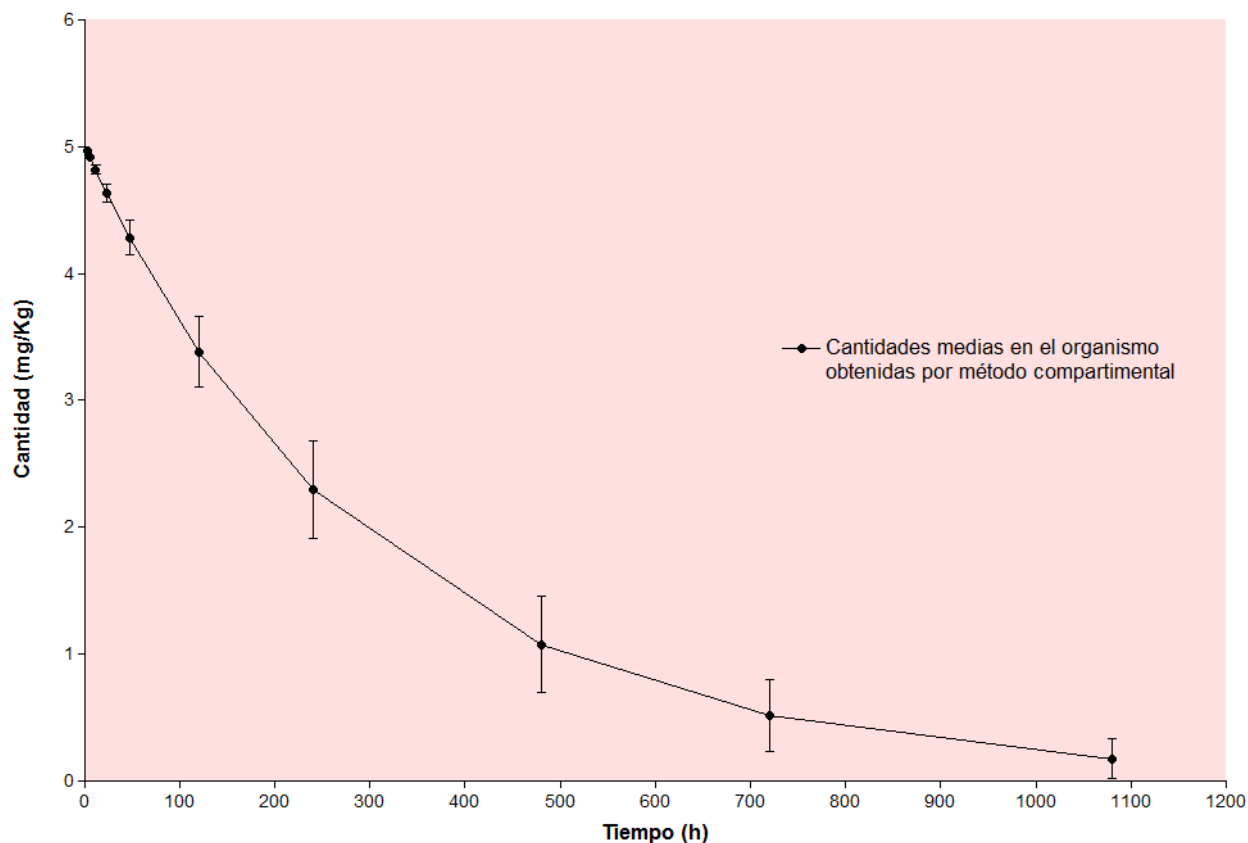
La ecuación media, que puede ser considerada la ecuación que rige la evolución de las cantidades plasmáticas de infliximab en función del tiempo, tras la infusión intravenosa de una dosis de 5mg/Kg durante hora y media, es la siguiente:

$$A = 1061'5113 (e^{-0'003297Tstar} - e^{-0'003297t}) \text{ mg/kg}$$

Utilizando las anteriores ecuaciones, se han calculado las cantidades totales de infliximab en el organismo de cada animal, cuyos valores aparecen en la Tabla 48. La representación gráfica de las cantidades medias en el organismo de los perros, se muestra en la Gráfica 19.

Tiempo (h)	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E	Media	SD	SE
3	4.9528	4.9623	4.9624	4.9543	4.9749	4.9613	0.0087	0.0039
6	4.9018	4.9125	4.9127	4.8940	4.9418	4.9126	0.0181	0.0081
12	4.8015	4.8143	4.8147	4.7755	4.8761	4.8164	0.0370	0.0165
24	4.6069	4.6239	4.6246	4.5472	4.7473	4.6300	0.0728	0.0326
48	4.2411	4.2652	4.2666	4.1227	4.4998	4.2791	0.1369	0.0612
120	3.3088	3.3478	3.3504	3.0726	3.8321	3.3823	0.2765	0.1237
240	2.1877	2.2359	2.2394	1.8824	2.9321	2.2955	0.3854	0.1724
480	0.9564	0.9973	1.0004	0.7065	1.7166	1.0754	0.3785	0.1693
720	0.4181	0.4449	0.4469	0.2652	1.0049	0.5160	0.2834	0.1268
1080	0.1209	0.1325	0.1335	0.0610	0.4502	0.1796	0.1542	0.0689

TABLA 48. Cantidades totales de infliximab, en mg/kg, en el organismo de cada perro tras la infusión intravenosa, de una dosis de 5 mg/kg durante hora y media, junto con sus medias, desviación típica y error de la media.



GRÁFICA 19. Representación gráfica de las cantidades medias (\pm SD) de infliximab obtenidas en perros tras la administración mediante infusión intravenosa de una dosis de 5 mg/kg, durante hora y media.

De igual manera, se han obtenido las ecuaciones que describen la evolución de las cantidades de infliximab eliminadas del organismo a lo largo del tiempo en cada animal. Dichas ecuaciones son las siguientes:

Perro A: $Ae = 966'7440 ((1-e^{-0'003448Tstar}) - (1-e^{-0'003448t}))$ mg/kg

Perro B: $Ae = 990'8839 ((1-e^{-0'003364Tstar}) - (1-e^{-0'003364t}))$ mg/kg

Perro C: $Ae = 992'9501 ((1-e^{-0'003357Tstar}) - (1-e^{-0'003357t}))$ mg/kg

Perro D: $Ae = 816'3932 ((1-e^{-0'004083Tstar}) - (1-e^{-0'004083t}))$ mg/kg

Perro E: $Ae = 1494'0983 ((1-e^{-0'002231Tstar}) - (1-e^{-0'002231t}))$ mg/kg

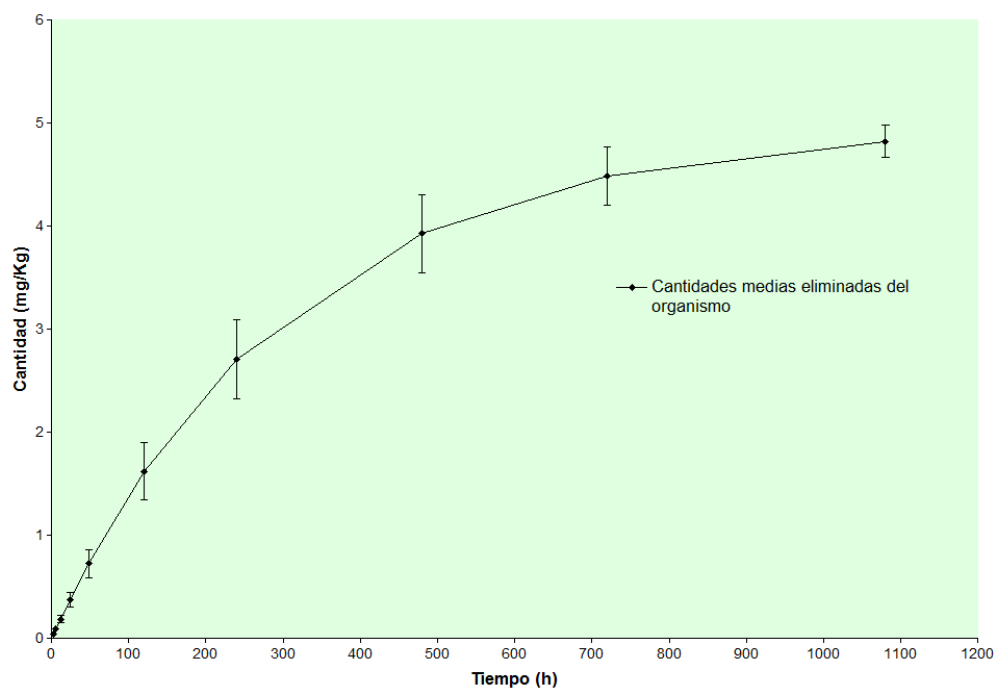
La ecuación media, que puede ser considerada la ecuación que rige la evolución de las cantidades de infliximab eliminadas en función del tiempo, tras la infusión intravenosa de una dosis de 5mg/Kg durante hora y media en perro de raza beagle, es la siguiente:

$$Ae = 1061'5113 ((1-e^{-0'003297Tstar}) - (1 - e^{-0'003297t})) \text{ mg/kg}$$

Con ellas se han calculados los valores correspondientes a cada tiempo y cada perro, cuyos valores se muestran en la Tabla 49. Las cantidades medias de infliximab eliminadas a lo largo del tiempo se representan en la Gráfica 20.

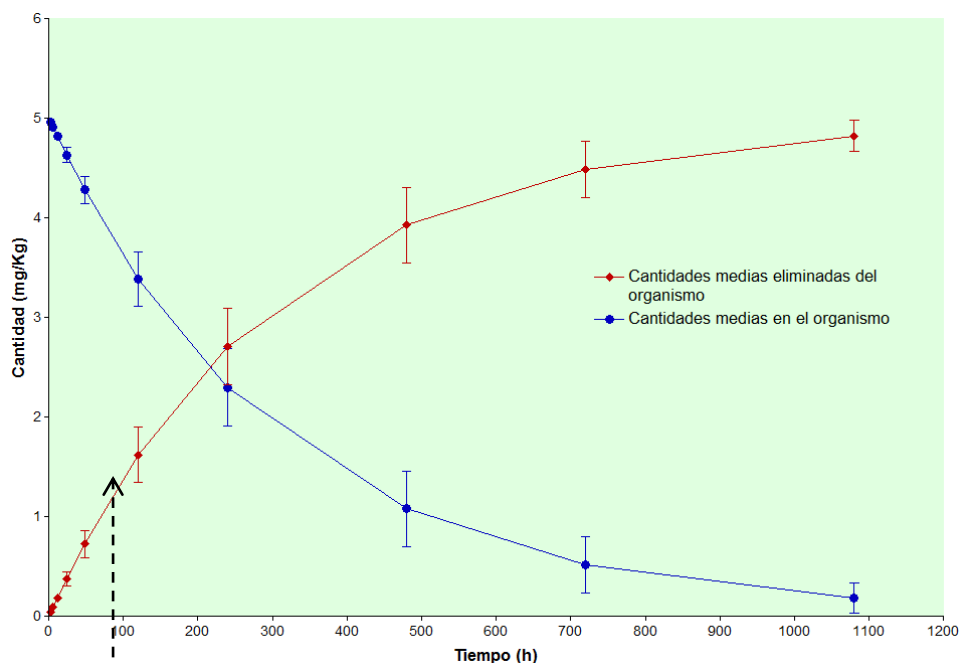
Tiempo (h)	Perro A	Perro B	Perro C	Perro D	Perro E	Media	SD	SE
3	0.0472	0.0377	0.0376	0.0457	0.0251	0.03866	0.0088	0.0039
6	0.0982	0.0875	0.0873	0.1060	0.0582	0.08744	0.0181	0.0081
12	0.1985	0.1857	0.1853	0.2245	0.1239	0.18358	0.0370	0.0165
24	0.3931	0.3761	0.3754	0.4528	0.2527	0.37002	0.0728	0.0326
48	0.7589	0.7348	0.7334	0.8773	0.5002	0.72092	0.1369	0.0612
120	1.6912	1.6522	1.6496	1.9274	1.1679	1.61766	0.2765	0.1237
240	2.8123	2.7641	2.7606	3.1176	2.0679	2.7045	0.3854	0.1724
480	4.0436	4.0027	3.9996	4.2935	3.2834	3.92456	0.3785	0.1693
720	4.5819	4.5551	4.5531	4.7348	3.9951	4.484	0.2834	0.1268
1080	4.8791	4.8675	4.8665	4.9390	4.5498	4.82038	0.1542	0.0689

TABLA 49. Cantidades eliminadas de infliximab, en mg/kg, en cada perro tras la infusión intravenosa, de una dosis de 5 mg/kg durante hora y media, junto con sus medias, desviación típica y error de la media.



GRÁFICA 20. Representación gráfica de las cantidades medias eliminadas (\pm SD) de infliximab en perros tras la administración mediante infusión intravenosa de una dosis de 5 mg/kg, durante hora y media.

En la gráfica 21 se muestran las cantidades totales medias de infliximab en el organismo, junto con las cantidades eliminadas en los mismos tiempos. En dicha gráfica se observa como la cantidad eliminada tiende a la dosis administrada (5 mg/kg) y como los valores de cantidad total existente y cantidad eliminada se igualan alrededor de las 220 horas (entre las 200 y 240 horas).



GRÁFICA 21.- Evolución de las cantidades totales medias de infliximab en el organismo y de las cantidades medias eliminadas de infliximab, en mg/kg, en perros tras la administración mediante infusión intravenosa de una dosis de 5 mg/kg, durante hora y media.

4.3.4. Tolerancia de los perros al infliximab.

La tolerancia al fármaco se ha contratados mediante análisis hematológicos seriados y analíticas sanguíneas (ver material y métodos, epígrafe 3.8.). El resultado de las mismas se muestra a continuación (hemograma: Tablas 50, 51 y 52 y Gráfica 22; y bioquímica: Tabla 53 y Gráfica 23).

Parámetro (unidades)	Ref. Range	Día 0 Week 0	Día 10 Week 2	Día 30 Week 5	Día 45 Week 7	Día 60 Week 9	Valor de p
Hematocrito (%)	37-55	50.20±4.27	51.80±3.96	50.00±3.81	50.20±2.68	56.00±6.74	0.31
Eritrocitos (x 10 ⁶ /mm ³)	5.5-8.5	7.504±0.49	7.834±0.62	7.188±0.52	7.134±0.35	8.614±1.00	0.33
Hb (g/dL)	12-18	16.34±1.24	17.34±1.51	16.62±1.22	19.92±0.73	18.62±2.09	0.44
VCM (fL)	60-72	66.58±1.40	66.00±0.44	69.30±0.52	70.54±0.36	64.88±0.62	0.08
HCM (pg)	22-27	21.76±0.27	22.12±0.22	23.12±0.16	23.72±0.28	21.60±0.16	0.90
CHCM (g/dL)	31-37	32.70±0.45	33.52±0.29	33.38±0.25	33.62±0.49	33.30±0.43	0.61
RDW (%)	12.5-16	12.38±0.20	12.90±0.23	13.30±0.14	12.84±0.23	14.06±0.46	0.22

TABLA 50. Valores medios (\pm SD) de los parámetros hemáticos de la serie roja, más importantes, en los diferentes días de muestreo (antes de la administración de infliximab, y a los 10, 30, 45 y 60 días de la administración) y valor de significación del test de Levene.

No hay alteración en el hematocrito ni en el recuento de glóbulos rojos, lo que indica que no existe anemia y que la función de la médula ósea es normal. De igual forma, la hemoglobina permanece a niveles normales. Estos parámetros, durante todo el tiempo, se distribuyen normalmente.

El VCM (volumen corpuscular medio) se mantienen en límites normales, al no ser menores de 60 no hay microcitososis ni anemia y al no ser superiores a 72 no se ha producido déficit de vit B ni de ácido fólico y no cabe esperar trastornos del hígado.

Existen diferencias entre el día 0 y los días 30, 45 y 60 (Bonferroni/Dunn $p < 0.05$)

El HCM (hemoglobina corpuscular media) muestra una ligera hipocromía en la semana 0 (antes de la administración del infliximab) y en la semana 9. Sin embargo es muy ligera y dado que los índices anteriores son correctos, no cabe esperar que existiera una anemia ferropénica, ya que, entre otras cosas, la CHCM (concentración hemoglobínica corpuscular media) se mantiene en todo momento en niveles normales y el RDW (índice de distribución de hematíes) se mantiene en todo momento en niveles normales (valores superiores al 16%, serían índice de que hay anisocitososis, una respuesta a una anemia ferropénica).

El día 60 se obtuvieron los valores más elevados de hematocrito, recuento eritrocitario, RDW, CHDW (con un valor prácticamente igual al de los 30 días) y HDW. Los valores de hemoglobina, VCM, HCM, CHCM, CHCML y CH resultaron más elevados el día 45. Todo esto indica que no existe una tendencia en el cambio cuantitativo de los valores de estos parámetros, lo que ocurriría en el caso de que todos ellos hubiesen mostrado un incremento o una disminución en las mismas semanas.

Parámetro (x 10 ³ /mm ³)	Ref. Range	Día 0 Week 0	Día 10 Week 2	Día 30 Week 5	Día 45 Week 7	Día 60 Week 9	Valor de p
Leucocitos	5.5-16.9	10,946±1,99	5,984±1,09	6,790±2,29	15,070±4,83	10,002±1,38	0.14
Segmentados	3-12	6.966±1.63	3.46±0.75	4.07±1.49	8.704±0.79	6.012±0.65	0.20
Linfocitos	1-4.9	2.712±0.37	1.812±0.36	1.902±0.63	3.136±0.59	3.044±0.79	0.66
Monocitos	0.1-1.4	0.946±.28	0.378±0.11	0.366±0.18	0.754±0.05	0.528±0.09	0.17
Eosinófilos	0.1-1.0	0.302±0.10	0.318±0.05	0.442±0.13	0.444±0.08	0.402±0.09	0.13
Basófilos	0.0-0.05	0.014±0.01	0.018±0.01	0.012±0.01	0.034±0.02	0.018±0.01	0.19

TABLA 51. Valores medios (\pm SD) de los parámetros hemáticos de la serie blanca, más importantes, en los diferentes días de muestreo (antes de la administración de infliximab, y a los 10, 30, 45 y 60 días de la administración) y valor de significación del test de Levene.

Los niveles de leucocitos, segmentados, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos se mantienen en todo momento dentro de los límites admitidos como normales. Los valores de estos parámetros a lo largo de todo el tiempo, se distribuyen normalmente, por lo que no existen diferencias estadísticamente significativas en ninguno de ellos a lo largo del tiempo. Los valores más elevados de leucocitos, segmentados, linfocitos, eosinófilos y basófilos se obtuvieron el día 45. El valor más elevado de los monocitos se obtuvo el día 0.

Parámetro	Ref. Range	Día 0 Week 0	Día 10 Week 2	Día 30 Week 5	Día 45 Week 7	Día 60 Week 9	p- value
Nº de Plaquetas (x 10 ³ /mm ³)	175-500	255.40±69.17	223.00±22.10	335.40±69.17	317.8±40.84	228.6±16.26	0.58
PCT (%)	0.00<0.00 0.1-1.6	0.278±0.06	0.228±0.03	0.326±0.07	0.330±0.06	0.288±0.03	0.22
MPC (g/dL)	>21	22.78±1.44	23.62±0.59	23.66±0.98	23.58±0.54	23.42±0.66	0.31

TABLA 52. Valores medios (\pm SD) de los parámetros hemáticos plaquetarios, más importantes, en los diferentes días de muestreo (antes de la administración de infliximab, y a los 10, 30, 45 y 60 días de la administración) y valor de significación del test de Levene.

Los parámetros plaquetarios se mantienen en todo momento dentro de los límites admitidos como normales, y se distribuyen normalmente a lo largo de todo el tiempo, por lo que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las distintas semanas de muestreo. El valor más elevado de recuento plaquetario se obtuvo el día 30.

Parámetro	Ref. Range	Día 0 Week 0	Día 10 Week 2	Día 30 Week 5	Día 45 Week 7	Día 60 Week 9	p-value
Urea (mg/dL)	20-40	27.54±13.37	22.52±14.33	22.00±13.17	20.44±11.26	36.58±9.52	0.96
Creatinina (mg/dL)	0.5-1.6	0.752±0.12	0.758±0.16	0.756±0.11	0.750±0.14	0.786±0.11	0.71
AST (UI/L)	15-66	20.68±7.19	23.26±6.26	25.50±5.51	20.64±4.51	22.34±6.87	0.44
ALT (UI/L)	12-118	69.52±25.43	60.62±47.36	85.82±66.83	64.02±34.17	49.54±23.65	0.49
GGT (UI/L)	1-12	4.44±0.59	4.66±0.47	4.34±1.05	4.16±0.55	3.88±0.70	0.32
ALP (UI/L)	5-131	122.48±102.22	109.12±64.76	121.60±73.79	115.36±57.19	113.64±75.85	0.88
CK (UI/L)	59-895	123.42±49.40	98.84±15.27	144.30±75.07	106.48±19.18	102.86±37.87	0.18
Glucosa (mg/dL)	70-138	144.66±60.93	86.60±11.40	98.96±15.99	91.56±15.31	86.20±3.69	0.02*
Colesterol (mg/dL)	92-324	166.46±29.12	188.98±30.13	194.12±32.84	184.73±42.19	187.73±43.69	0.61
Triglicéridos (mg/dL)	29-291	31.66±12.25	42.49±15.81	59.01±21.97	32.02±8.62	75.32±32.21	0.002**
Proteínas totales (g/dL)	5.0-7.4	5.91±0.56	6.344±0.66	6.63±0.53	6.76±0.53	6.364±0.64	0.83
Albumina (g/dL)	2.7-4.4	2.958±0.23	3.114±0.33	3.232±0.17	3.344±0.29	3.144±0.30	0.46
Globulinas (g/dL)	1.6-3.6	2.952±0.55	3.23±0.53	3.398±0.53	3.416±0.51	3.22±0.54	0.99
Bilirrubina (mg/dL)	0.2-0.7	0.1660±0.02	0.20±0.03	0.188±0.02	0.168±0.04	0.166±0.01	0.19

* Cuando se realiza el test de Bonferroni (Dunn) como prueba *post hoc*, se comprueba que al comparar todas los valores de este parámetro entre parejas de semanas, no se hayan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

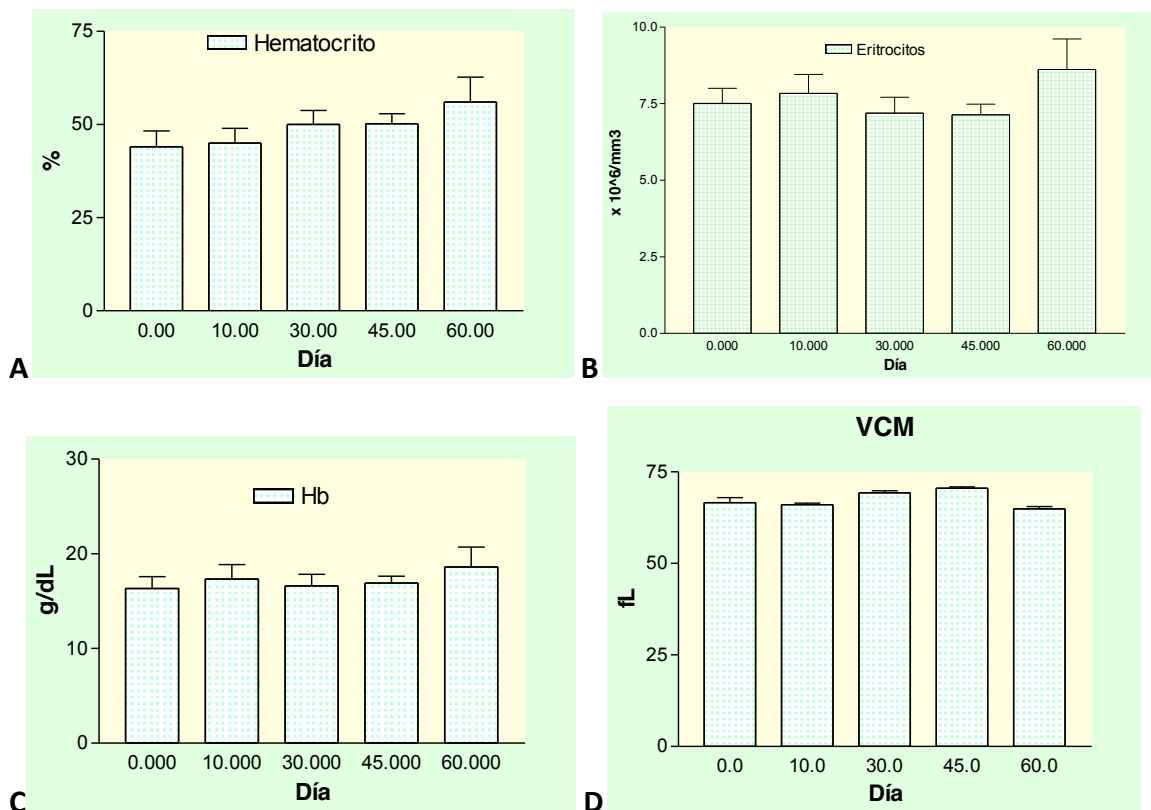
** Cuando se realiza el test de Bonferroni (Dunn) como prueba *post hoc*, se comprueba que, al comparar todos los valores de este parámetro entre parejas de semanas, tan solo hay diferencias entre los valores de la 9 semana y de las semanas 0 y 7, lo que quizá sea debido a la gran homogeneidad y similitud de los valores de los 5 animales en cada semana de muestreo.

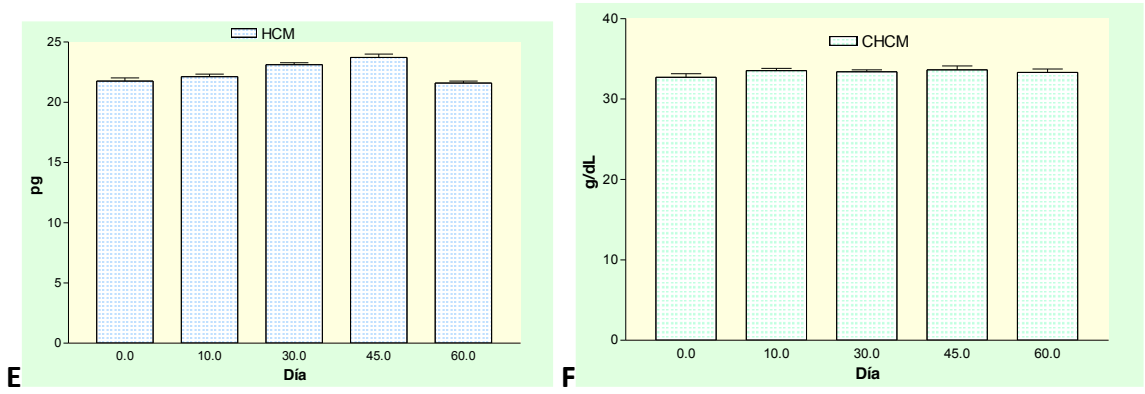
TABLA 53. Valores medios (\pm SD) de los parámetros bioquímicos más importantes, en los diferentes días de muestreo (antes de la administración de infliximab, y a los 10, 30, 45 y 60 días de la administración) y valor de significación del test de Levene.

Todos los parámetros bioquímicos ensayados permanecen dentro de los rangos aceptados como normales durante toda la experiencia, excepto los niveles de glucosa que presentaban los perros inmediatamente antes de la experiencia, que resultaron ligeramente elevados, aunque sin significancia clínica. Algunos parámetros tienen su valor máximo la semana 0 (ALP, glucosa), otros en la semana 2 (GGT, bilirrubina), otros la

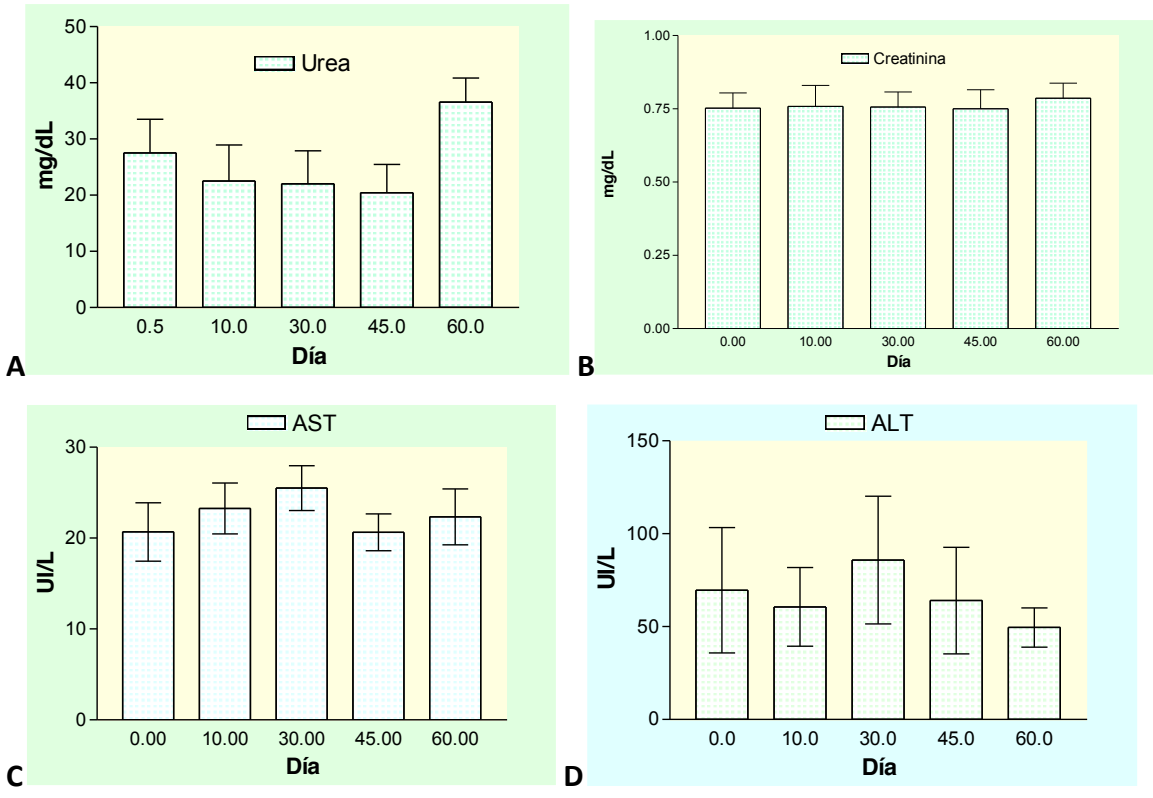
semana 5 (AST, ALT, CK, colesterol), otros la semana 7 (proteínas totales, albúmina, globulinas) y otros en la semana 9 (urea, creatinina, triglicéridos), por tanto, no existe una tendencia de los parámetros a aumentar o disminuir a lo largo del tiempo. De esto se infiere que el tratamiento no afectó, al menos de forma sensible, a la función hepática, pancreática y renal.

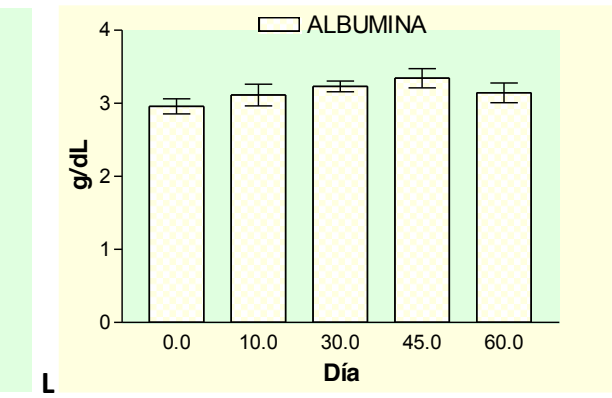
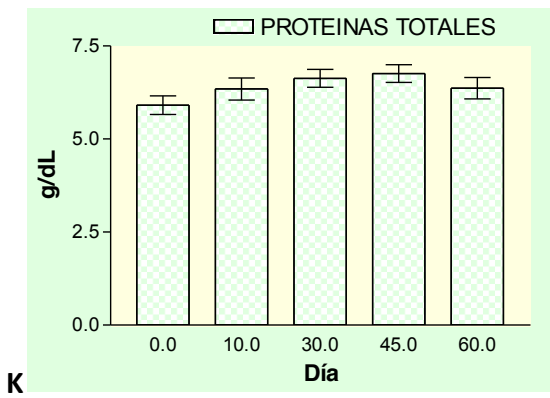
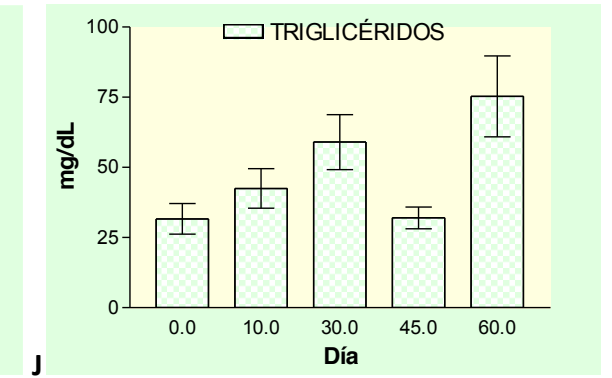
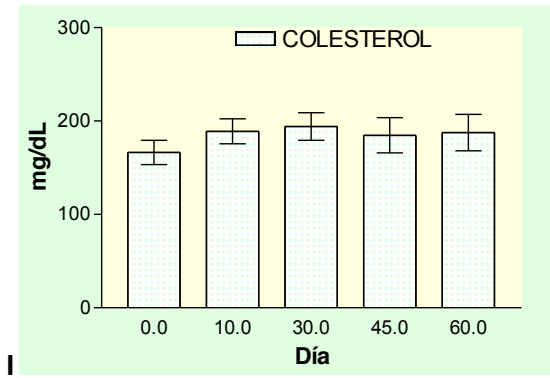
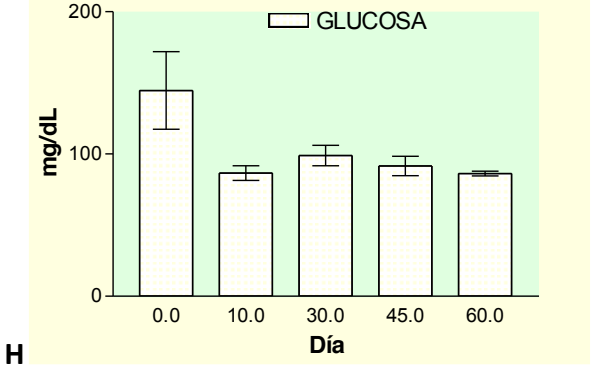
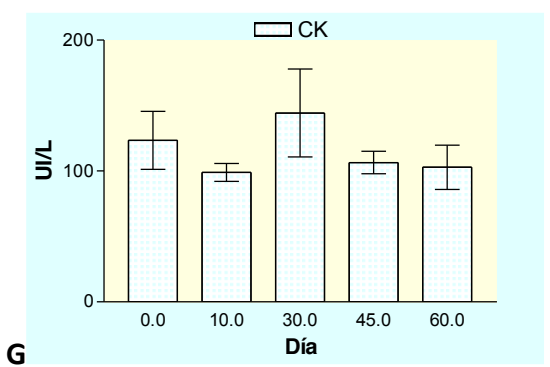
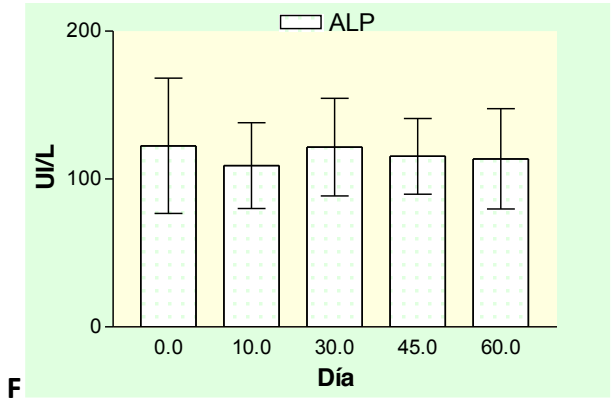
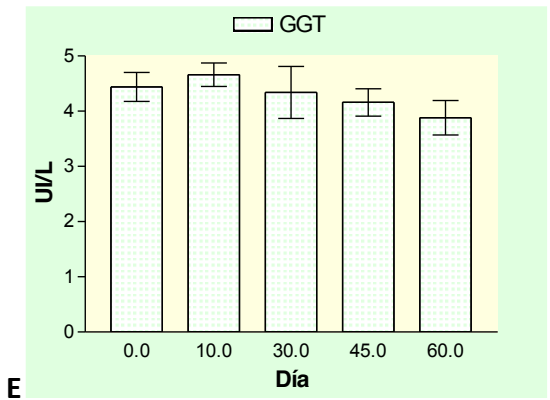
Los niveles más altos de bilirrubina y GGT se obtuvieron el día 10. El día 30 se obtuvieron los valores más elevados de AST, ALT, CK y colesterol. El día 45 se obtuvieron los valores más elevados de proteínas totales, albúmina y globulinas. El valor más alto de urea se produjo a los 60 días, igual ocurrió con la creatinina, aunque en este último caso el valor es muy próximo a los de días anteriores. Este mismo día se obtuvo el valor más alto de triglicéridos. En tanto que el valor más alto de glucosa se obtuvo el día 0, antes de la administración del infliximab.

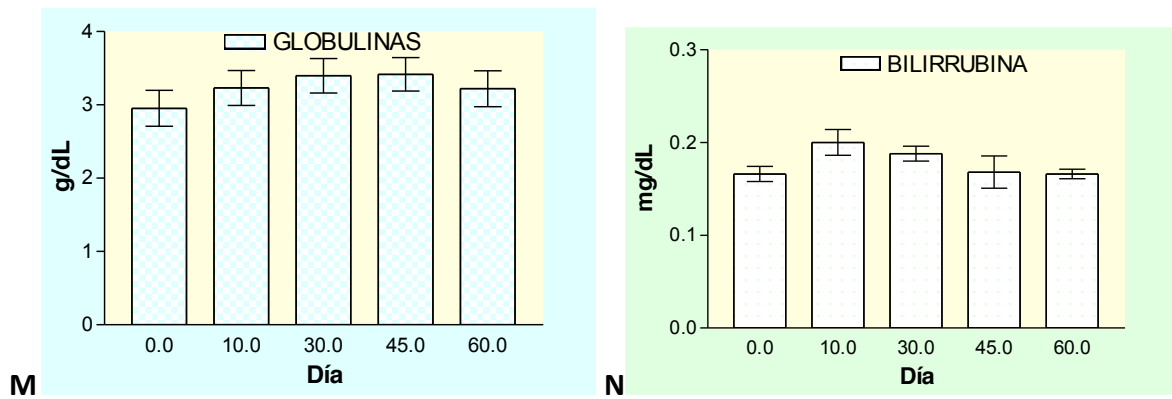




GRÁFICA 22: Representación gráfica de la evolución de los valores medios (\pm SD) de los distintos parámetros hemáticos, de la serie roja, blanca y plaquetarios en los distintos días de muestreo (antes de la administración de infliximab, y a los 10, 30, 45 y 60 días de la administración).







GRÁFICA 23: Representación gráfica de la evolución de los valores medios (\pm SD) de los distintos parámetros bioquímicos en los distintos días de muestreo (antes de la administración de infliximab, y a los 10, 30, 45 y 60 días de la administración).

5. DISCUSIÓN

5.1. TRASPLANTE FECAL

Los procesos diarreicos que afectan al perro, tanto agudos como crónicos, pueden conducir a estados graves y potencialmente mortales y pueden tener muchas causas, incluyendo agentes infecciosos, tales como bacterias, parásitos y virus, aparte de etiología metabólica, neoplásica, por causas físicas, etc. (Pinto *et al.*, 2012). Independientemente de la etiología, la detección temprana y el manejo de la enfermedad son importantes para disminuir las tasas de mortalidad, que pueden ser muy elevadas, especialmente en animales jóvenes (Spibey *et al.*, 2008). El tracto gastrointestinal de los perros es colonizado por una inmensa población de microorganismos, denominado microbiota, que se compone de bacterias, arqueas, hongos, virus y protozoos (Suchodolski, 2016). La microbiota intestinal beneficia al anfitrión, de modo que actúa como una barrera de defensa contra enteropatógenos, además regula el sistema inmunológico, participa en la digestión de fibra, proporcionando soporte nutricional para los enterocitos y estimula la motilidad gastrointestinal (Karst, 2016; Sunvold *et al.*, 1995). Debido a que las alteraciones de la microbiota se han asociado con diversas enfermedades gastrointestinales, se han desarrollado medidas para restaurar u optimizar dicha microbiota. Probióticos y prebióticos se han utilizado con éxito limitado y actualmente se está prestando mucha atención al trasplante de la microbiota fecal (TMF) utilizado en esta investigación, de modo que suspensiones fecales de un donante sano se administran a un individuo enfermo, con el fin de restaurar la microbiota dañada. Los cambios específicos en la composición de la microbiota intestinal, denominados disbiosis, se han asociado no sólo con muchas enfermedades gastrointestinales (GI), sino también con enfermedades metabólicas, enfermedades autoinmunes, trastornos alérgicos, y trastornos neuropsiquiátricos en el hombre (Xu *et al.*, 2015).

En los últimos años, se ha ensayado en la especie humana en la infección recurrente por *Clostridium difficile* y el TMF ha obtenido altas tasas de curación (Gough, Shaikh y Manges, 2011; Jalanka *et al.*, 2016; Khanna *et al.*, 2017; Weingarden *et al.*, 2015;).

En nuestro estudio se sometió a TMF a 10 animales, divididos en dos grupos de 5 animales cada uno. El grupo 1 fue realizado en el Hospital Veterinario de la Univeridad de Murcia mientras que el segundo se realizó en la clínica veterinaria Hinckley Vets4Pets en Leicestershire, Reino Unido.

En el primer grupo formado por 5 animales para 6 casos clínicos (ya que el caso 2 y 6 pertenecen al mismo animal), de los cuales había 2 casos de enteritis linfoplasmocitaria eosinofílica grado II, 2 de enterocolitis eosinofílica grado II (pertenecen al mismo animal), 1 caso de gastroenterocolitis linfoplasmocitaria grado II y 1 caso de gastroileocolitis linfoplasmocitaria grado I.

En el segundo grupo no se realizaron biopsias intestinales, fueron pacientes diagnosticados con diarreas responsivas a antibióticos, en especial a metronidazol, donde todos los estudios sanguíneos y fecales fueron negativos antes de iniciar el tratamiento con tilosina y posteriormente el TMF. La transferencia de heces se hizo por protocolo 3 días post 21 días de tratamiento con tilosina, y además se realizó por partida doble, repitiendo la transferencia fecal tres días después de la primera dosis.

Para valorar la evolución de los distintos parámetros en los animales tras el recibir el tratamiento de TMF se utilizaron los índices CIBDAI y Walthan. En el caso del índice CIBDAI, todos los animales tuvieron una mejora clínica tras el trasplante (100%) en ambos grupos. En el caso del índice Walthan la mejora se produce también en el 100% de los animales. Si bien, apenas existen estudios sobre el TMF en perros, o los que existen tienen las mismas limitaciones que este estudio, es decir, el número de casos es bastante limitado y los resultados dispares y con una significación también limitada, los resultados obtenidos en nuestro estudio para los dos índices están en línea con otros estudios de TFM en perros donde también se produjo una disminución del índice CIBDAI (Burton et al., 2016). Bottero *et al.* (2017) utilizaron el índice CCECAI que con ligeras variaciones es similar al utilizado en nuestro estudio (CIBDAI), donde también se produjo una disminución del mismo, y por tanto, una mejora de los animales tras el TMF. Niina et al. (2019) publicó un caso clínico de un perro de 10 años de edad en el que el índice CIBDAI mejoró ostensiblemente. Sin embargo, es conveniente destacar de nuevo, que la cantidad de estudios, casos clínicos o series de casos publicados no llegan a una decena de los mismos, de forma que hay diferencias importantes entre los distintos estudios y casos en cuanto al procedimiento, cantidad de heces trasplantadas, índices utilizados, tratamiento antibiótico concomitante y repetición o no del TFM en varios días sucesivos.

Otro parámetro importante a tener en cuenta es la pérdida/ganancia de peso en los animales tratados. En nuestro estudio, si bien todos los animales sufrían de diarreas intensas, de los 6 casos del grupo 1 en 3 se observó pérdida de peso antes del tratamiento, y ninguno de los animales sufrió pérdida de peso después del tratamiento.

En el grupo 2 además la mayoría de pacientes recuperaron total o parcialmente su peso siendo muy evidente la mejoría en el caso 2 del grupo 2 donde el paciente no solo recuperó su peso sino que continuó incrementándolo posteriormente. Si bien, este es un parámetro que aporta información valiosa sobre la evolución del animal tras la realización del TFM, no se han encontrado datos sobre la evolución del peso en los estudios analizados.

En el caso de la frecuencia de las deposiciones, los resultados fueron muy satisfactorios, todos los animales mejoraron disminuyendo la frecuencia de las deposiciones antes y después de la TFM en el grupo 1 mientras que en el grupo 2 todos mejoraron excepto un caso. Este hallazgo también se ha descrito en otros estudios, como es el caso de un estudio en el que se trataron 11 cachorros (Burton *et al.*, 2016). Sin embargo, hay que tener en cuenta que en nuestro estudio se utilizaron otras terapias para tratar la diarrea de los animales, de forma que los resultados pueden estar influenciados por la administración de antibióticos que se realizó a la vez que el TFM. Aunque esta circunstancia también se da en otros estudios, normalmente con la administración concomitante de metronidazol, en otros casos se comparó el tratamiento solo de TFM frente al tratamiento único con metronidazol, de forma que, aunque en los dos casos mejoraron (Chaitman *et al.*, 2020), en el caso del TFM fue más duradero que en el caso de la administración de metronidazol.

En este punto, es importante destacar que no se debe administrar TFM sin realizar un adecuado diagnóstico de la patología que está produciendo la diarrea, de forma que si se administran simultáneamente antibióticos al mismo tiempo que la TFM tendrá un efecto negativo sobre el microbioma y limitará de forma amplia los posibles efectos beneficiosos del mismo.

Otro de los parámetros que más información aportan sobre el éxito o no del TFM es la evolución de la consistencia de las heces. En nuestro estudio, los resultados han sido bastante positivos de forma que el 100% de los casos ha presentado un aumento de la consistencia de las mismas. En la misma línea, se normalizó la consistencia de las heces en el caso publicado por Sugita *et al.* (2019) en el que tras 4 meses de duración de la diarrea el TFM normalizó entre otros parámetros, la consistencia de las heces.

Por otro lado, es importante considerar aspectos como el apetito y la evolución del comportamiento del animal. En nuestro estudio, tanto el apetito como la actitud en los casos 1 y 3 del primer grupo en que se hallaban gravemente disminuido y moderadamente disminuido, respectivamente, mejoraron notablemente. Si bien, este aspecto no está recogido en los estudios que hemos revisado en esta tesis, se considera que es un aspecto que indirectamente genera información sobre el éxito y la progresión de la enfermedad en el animal. En el grupo 2 también mejoraron todos los pacientes teniendo que hacer mención especial al caso número dos donde la mejora fue tan evidente que los propietarios mencionaban que el paciente “era un perro nuevo”, no solamente se vio incrementada la ingesta de alimento y el nivel de actividad, sino que en consulta fue muy relevante el hecho de que el animal siempre se había mostrado con dolor leve a la palpación abdominal hasta que se realizó la primera transferencia fecal.

Por último, en la evaluación de las heces procedentes del donante utilizadas para realizar el TMF en nuestro estudio, se han utilizado heces congeladas para el TMF todos los pacientes del grupo 2 mientras que en el grupo 1 tan solo se utilizaron heces congeladas en dos de los animales y heces frescas en los cuatro restantes. Si bien, hay que volver a resaltar que el número de casos es muy limitado, en este caso se precisaron dos donantes, un donante para cada grupo. Utilizando de esta manera el mismo donante para todos los casos del grupo 1 y lo mismo para el grupo 2, por lo que no se ha podido estudiar el efecto de la utilización de heces de distintos donantes dentro de un mismo grupo de pacientes. En nuestro estudio, según el animal se utilizaron entre 1-2 trasplantes por animal, en general, muy por debajo del número de trasplantes realizados en otros estudios en los que en algunos casos se estuvieron realizando trasplantes durante varios meses hasta la mejora del animal. Es de interés indicar que excepto en el caso 1, todos los propietarios se han mostrado satisfechos con los resultados obtenidos en sus animales tras haber realizado el TMF.

Debido al pequeño tamaño de la muestra tampoco se pudo estudiar si hay diferencias significativas entre el uso de materia fecal fresca o congelada pero Fiona Fouhy et al. (2015) sugieren en un estudio sobre los efectos del congelamiento de microbiota fecal que no había diferencias significativas en los cultivos con heces frescas o heces congeladas a menos 80 °C, lo cual justificaría el usar tanto microbiota previamente congelada como fresca.

Por último, para comprobar si hay diferencias significativas en los índices CIBDAI y Waltham antes y después de haber realizado el TMF una comparación por el método Shapiro-Wilk, que se utiliza para contrastar la normalidad de un conjunto de datos. Se ha podido comprobar que en lo que se refiere al índice CIBDAI, el resultado en el grupo 1 es no paramétrico, es decir, no sigue una distribución normal ($p < 0'05$), mientras que en el caso del índice Waltham el resultado es paramétrico ($p > 0'05$). Además, nuestros análisis muestran que en el caso del índice Waltham si hay diferencias significativas ($p < 0'05$) entre los resultados antes y después de haber realizado el TMF. En cuanto al índice CIBDAI, al obtener un resultado no paramétrico, se decide realizar un test de Wilcoxon, que es una prueba no paramétrica para comparar el rango medio de dos muestras relacionadas y determinar si existen diferencias entre ellas. Se utiliza para comparar dos mediciones relacionadas y determinar si la diferencia entre ellas se debe al azar o no (en este último caso, que la diferencia sea estadísticamente significativa). El resultado muestra diferencias significativas ($p < 0'05$).

Es importante, para finalizar la discusión de esta sección del estudio relativa al TMF resaltar las numerosas limitaciones de este estudio. En primer lugar, el número de animales ha sido pequeño, si bien, está en línea con los pocos estudios realizados (el más amplio se ha realizado con 16 animales), no deja de ser un factor limitante para sacar unas conclusiones robustas. Por otro lado, otra limitación ha sido el hecho de realizarse en dos centros distintos, y el hecho de que en el caso del centro del Reino Unido no se dispusiera de la posibilidad de realizar endoscopia. Y, por último, tanto los animales como las patologías productoras de las diarreas han sido bastante heterogéneas de forma que los resultados obtenidos deberían ser contrastados en un futuro con más animales.

5.2.- TILOSINA

5.2.1.- Administración intravenosa

5.2.1.1. Modelo farmacocinético.

Tras la administración intravenosa de 5 mg/kg de tilosina en 5 perros de raza Beagle, se han obtenido los valores de concentración plasmática, a los distintos tiempos de extracción, que se muestran en la Tabla 15 del apartado de resultados, en tanto que en la Tabla 16 se muestran los valores medios junto a otros estadísticos. En todos los casos, se produce un rápido descenso de las concentraciones plasmáticas durante las dos primeras horas tras la administración, para seguir con un descenso más lento a partir de entonces.

En primer lugar, se ha realizado un análisis compartimental de los datos obtenidos. Para escoger el modelo farmacocinético compartimental, se ha utilizado el Criterio de Información de Akaike (AIC) que permite escoger una función lo más sencilla posible pero manteniendo un ajuste adecuado. De forma que el mejor modelo es el que presenta menor valor de AIC ya que este valor es directamente proporcional al número de parejas de datos, a la suma de cuadrados ponderados y al número de parámetros de ajuste. En nuestro estudio, el análisis se realizó intentando ajustar los datos a modelos mono, bi y tricompartmentales, de forma que no se pudieron ajustar datos al modelo tricompartmental, quedando este modelo descartado, y en el ajuste a los modelos mono y bicompartimentales, el AIC obtenido fue claramente más bajo en el caso del modelo bicompartimental abierto sin absorción para todos los animales del estudio. Por tanto, se puede afirmar que la distribución de tilosina en perros se ajusta a un modelo bicompartimental tras la administración intravenosa de 5 mg/kg del fármaco. Este resultado está en línea con los 2 únicos estudios sobre farmacocinética de tilosina en perros. En el caso del estudio realizado por Kim et al. (2011), si bien tilosina se administró en combinación con florfenicol, los datos se ajustaron también a un modelo bicompartimental, al igual que en otro estudio en perros beagles sanos (Weisel et al., 1977).

5.2.1.2.- Constantes híbridas de disposición rápida y lenta.

Las constantes λ_1 y λ_z se denominan constantes híbridas de disposición rápida y lenta por englobar los procesos de distribución y eliminación del fármaco (Doménech y cols., 1997), si bien la primera participa preferentemente en la distribución mientras que la segunda lo hace en la eliminación. Ambas son de primer orden (Pla y del Pozo, 1974).

En el presente estudio, los valores medios de estas constantes para la tilosina han sido de 0.53 h^{-1} y 0.08 h^{-1} para λ_1 y λ_z , respectivamente. Al comparar nuestros datos con los de otros estudios, valores similares en los que la constante de disposición rápida fue también mayor que la de disposición lenta en perros tras la administración intravenosa de tilosina (Kim et al., 2011).

5.2.1.3.- Microconstantes.

Las constantes λ_1 y λ_z , no son las verdaderas constantes de distribución y eliminación, ya que ambas participan en los dos procesos, las denominadas microconstantes son las que realmente los regulan.

En el modelo bicompartimental, considerando que la eliminación del fármaco se produce desde el compartimento central, existen tres microconstantes: la constante de transferencia del compartimento central al compartimento periférico (k_{12}), la constante de retorno del compartimento periférico al central (k_{21}) y la constante de eliminación desde el compartimento central (k_{10}). Podemos observar esquemáticamente en la figura 11, los procesos de transferencia del fármaco entres los dos compartimentos, central y periférico, y el de eliminación desde el central.

En este modelo, el fármaco se distribuye instantáneamente en el compartimento central, desde el cual pasa al compartimento periférico de acuerdo con un proceso cinético de primer orden, regido por la constante de velocidad k_{12} y retorna hacia el compartimento central regido por la constante k_{21} . Desde el compartimento central se produce la eliminación, también regida por una constante de primer orden la constante k_{10} (Doménech y cols., 1997).

Los valores medios obtenidos para dichas constantes, en el caso de tilosina en el perro en la cabra, son $k_{12}=0,2 \text{ h}^{-1}$, $k_{21}=0,21 \text{ h}^{-1}$ y $k_{10}=0,19 \text{ h}^{-1}$. Esto pone de manifiesto que para cada animal la constante de eliminación desde el compartimento central (k_{12}) adquiere valores similares al retorno desde el compartimento periférico. Este hecho parece indicar que el fármaco tiene buen acceso al compartimento periférico, si bien, y aunque los ajustes han dado un mejor ajuste al modelo bicompartimental, la tilosina no tiene un marcado componente bicompartimental tras la administración IV en perros, y por tanto, tampoco hay una retención significativa.

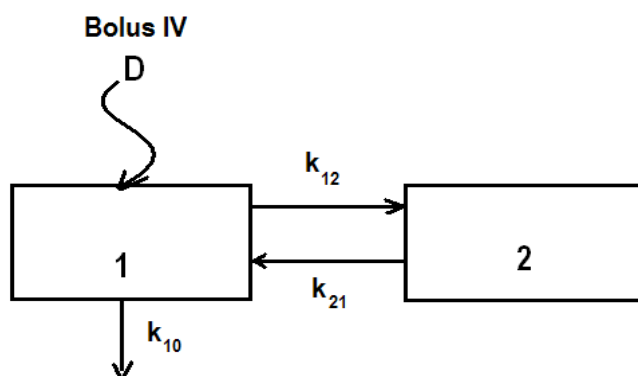


Figura 11.- Representación esquemática del modelo bicompartimental abierto tras la administración intravenosa de un fármaco.

Este hecho que acabamos de señalar, en relación al carácter poco bicompartimental del fármaco tras la administración IV queda patente al realizar y establecer las relaciones de interés, como la relación λ_z/k_{10} , que alcanza un valor por debajo de 1, y señala una eliminación global del antibacteriano desde todo el organismo, regida por una constante k_{10} que siempre es mayor a la verdadera constante de eliminación λ_z , lo que confirma de nuevo la adecuación de la disposición de tilosina a un modelo bicompartimental.

Del estudio de la relación k_{12}/k_{10} , se obtiene un valor de $1,43 (\pm 1,79)$. Como se puede observar, este valor es superior a 1 y k_{12} casi duplica el valor de k_{10} lo vuelve a corroborar con esta relación el carácter bicompartimental de ceftiofur tras su administración IV en la cabra.

Si estudiamos la relación entre la constante de transferencia y retorno, desde el compartimento periférico k_{12}/k_{21} , esta adquiere el valor de 1,05. Este resultado indica que

el acceso del fármaco desde el compartimento central al periférico es casi el mismo que su distribución en el compartimento central.

Estas relaciones muestran claramente que no existe retención de tilosina en el compartimento periférico en perros tras la administración IV.

5.2.1.4.- Semivida

La semivida de la fase de disposición rápida ($t_{1/2\lambda_1}$) para tilosina, ha sido de 1.3 horas, y la de la fase de disposición lenta ($t_{1/2\lambda_z}$) de 8.89 horas (tabla 20). Esta última se considera como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982, Rowland y Tozer, 2011).

El valor de la semivida de la fase de disposición lenta ($t_{1/2\lambda_z}$) de nuestro estudio (8.91 h) es muy similar al obtenido para el mismo fármaco también en perros Beagle (8.52 h; por Kim et al. 2011), sin embargo, estos dos valores difieren enormemente del valor aportado por el único estudio de tilosina en perros publicado, junto con el de Kim y cols., (2011) en el que se aporta un valor de 0.9 h de semivida (Weisel et al., 1977).

Si comparamos con otros estudios de administración de tilosina en otras especies, en general, la vida media obtenida en nuestro estudio es mayor que la obtenida por ejemplo en ratas (Duthu et al., 1985) y ovejas (Taha et al., 1999), aunque en el caso de los cerdos la semivida de eliminación suele exceder de 24 horas (Prats et al., 2002).

5.2.1.5.- Tiempo medio de residencia.

El tiempo medio de residencia o MRT es un parámetro farmacocinético que tiene una significación similar al tiempo de semivida ya que equivale a la inversa de una constante de eliminación y se obtiene dividiendo el área bajo la curva tiempo-concentración plasmática (AUMC) entre el área bajo la curva (AUC). Ambas áreas pueden obtenerse por integración entre cero e infinito de las curvas compartimentales, o bien como hemos señalado para el AUC mediante análisis no compartimental por medio del cálculo de las áreas trapezoidales como es nuestro caso. Se corresponde con el momento estadístico uno (Yamaoka y cols., 1978b)

En el presente estudio se ha obtenido un valor de MRT de 10,07 horas (tabla 22). Este resultado es prácticamente igual al obtenido para el mismo fármaco también en perros Beagle (10,72 h; por Kim et al. 2011), sin embargo, estos dos valores difieren enormemente del valor aportado por el único estudio de tilosina en perros publicado, junto con el de Kim y cols., (2011) en el que se aporta un valor por debajo de 1 horas de MRT (Weisel et al., 1977).

Si comparamos con otros estudios de administración de tilosina en otras especies, en general, la vida media obtenida en nuestro estudio es mayor que la obtenida por ejemplo en ovejas y cabras (Taha, *et al.*, 1999).

5.2.1.6.- Aclaramiento plasmático.

El aclaramiento plasmático (Cl) puede calcularse a partir de las curvas de niveles plasmáticos, recurriendo a métodos modelo-dependientes, basados en los modelos compartimentales y fisiológicos, o utilizando métodos modelo-independientes basados en la estimación del AUC (Doménech y cols., 1997). En nuestro estudio, se ha calculado el Cl en función del área bajo la curva mediante análisis no compartimental. El valor obtenido ha sido de 0,21 L/kg/h (tabla 22) que es muy parecido al obtenido por Kim y cols. (2011) de 0,23 L/kg/h, de 197 ml/min también en perros beagle (Weisel y cols., 1977).

5.2.1.7.- Volúmenes de distribución.

Hemos obtenido dos valores de los volúmenes de distribución para tilosina (tabla 22), el volumen de distribución en estado estacionario (V_{ss}) adquiere un valor de 2,15 L/kg, en tanto que el de distribución aparente en función del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (V_z), alcanza un valor de 2,77 L/kg. Como se puede observar estos valores indican que el fármaco tiene una distribución amplia, aunque limitada en tejidos y fluidos en la especie objeto de nuestro estudio. Las diferencias obtenidas entre los volúmenes de distribución son consecuencia de los métodos empleados para su cálculo. En general, el volumen de distribución es útil para transformar concentraciones en cantidades de fármaco en el organismo y viceversa. El V_{ss} es válido en aquellos momentos en que la curva de nivel plasmático está en zonas próximas a la inflexión y, por supuesto, durante la misma ($V_{ss} = V_c + V_p$) al considerar un equilibrio estacionario en la distribución, en tanto que el V_z es válido en una zona más amplia de la curva de nivel plasmático y, de alguna manera, minusvalora la fase inicial ya que asume una pérdida de fármaco en

función de λ_z , asimilándose a lo que sería equivalente a un modelo monocompartimental (Doménech y cols., 1997).

No todas las publicaciones señalan estos dos volúmenes de distribución aparente, siendo tal vez el V_{ss} el que más aparece. Así, Kim y cols. (2011) describen un valor de 1,98 L/kg para V_{ss} . Weisel y cols. (1977) solamente ofrecen el valor del V_z en perros beagle (1.7 L/kg).

Los resultados obtenidos en perros son similares a los obtenidos en otras especies: 2.2 L/kg en ratas (Duthu, 1985), 1.1-2.27 L/kg en vacas (Ziv and Sulman, 1973) o en ovejas (Taha et al., 1999).

5.2.2. Administración oral de tilosina

5.2.2.1.- Modelo farmacocinético

Tras la administración oral de 5 mg/kg de tilosina en 5 perros de raza Beagle, se han obtenido los valores de concentración plasmática, a los distintos tiempos de extracción, que se muestran en la Tabla 26. Se observa en todos los animales un aumento de los niveles plasmáticos hasta aproximadamente 1,5 h descendiendo con posterioridad hasta las 12 h. En la Gráfica 13 del apartado de resultados se muestra la representación semilogarítmica individual para cada una de los cinco perros, y en la Gráfica 14 las concentraciones medias de los mismos.

Al igual que para la vía intravenosa se ha realizado un análisis de Kruskal-Wallis para comprobar la homogeneidad de los datos y las concentraciones experimentales de cada animal se han ajustado a modelos compartimentales sin tiempo de latencia. El ajuste al modelo monocompartimental sin tiempo de latencia es el más adecuado, atendiendo al AIC, en los perros C, D y E. En el perro A el AIC es menor para el ajuste bicompartimental, sin y con tiempo de latencia. Sin embargo, las ecuaciones obtenidas tienen dos componentes negativas, lo cual significa que no es posible el modelo bicompartimental, que exige dos componentes positivas y una negativa (señala un modelo monocompartimental con dos fases de absorción). En el perro B, ocurre que el AIC es menor para un hipotético modelo bicompartimental con tiempo de latencia, pero la ecuación de ajuste también tiene dos componentes negativas. Por todo ello, se puede asumir que

las concentraciones plasmáticas de tilosina, tras la administración oral de una dosis de 5 mg/kg, se ajustan mejor al modelo monocompartimental sin tiempo de latencia.

Hasta la fecha, el presente estudio es el primero que administra tilosina por vía oral a perros, por tanto, no tenemos referencias para comparar lo sucedido en otras especies, a lo que se puede añadir la tendencia de los últimos años a obviar el análisis compartimental en la bibliografía y realizar únicamente análisis no compartimental. Sin embargo, sí que podemos afirmar que el ajuste de la vía oral en este estudio a un modelo compartimental se parece a lo sucedido en otras especies en las que al administrar la tilosina vía IV y por otra vía, también en el caso de otros antibióticos de distintos grupos terapéuticos, es frecuente que no coincida el modelo y que vía IV se obtenga un modelo bicompartimental y en la vía extravascular se obtenga un modelo monocompartimental.

5.2.3.- Parámetros farmacocinéticos.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental y no compartimental para tilosina, se muestran en las tablas 30 y 31, respectivamente, junto con los valores medios y estadísticos asociados.

5.2.3.1.- Semivida.

Al igual que en la vía intravenosa, se ha calculado el tiempo de semivida de la fase de eliminación ($t_{1/2ke}$), considerado este último valor como tiempo de semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982). El valor obtenido ha sido de 5.8 h. Este valor es inferior al obtenido tras la administración intravenosa, lo cual, puede ser indicativo de que, *a priori*, el proceso de absorción estaría actuando como factor limitante de la eliminación como en los modelos *flip-flop*.

Como hemos señalado anteriormente, no existe apenas literatura científica sobre la administración de tilosina vía oral en perros. Solamente Kowalski, *et al.*, 2002 administran tilosina vía oral a pollos obteniendo una vida media de 2.07 h, más de la mitad del obtenido en nuestro estudio.

Es importante señalar, que la ausencia de estudios por esta vía se debe fundamentalmente a que la vía oral no es preferible a otras vías extravasculares como la intramuscular, que en el caso de la tilosina es la más ampliamente utilizada.

En este punto, cabe destacar que el estudio y elección de la vía oral en nuestro estudio responde a las especiales características de utilización de la misma en la enfermedad inflamatoria intestinal en perros.

5.2.3.2.- Tiempo máximo y concentración máxima.

El T_{\max} ha resultado ser 1,45 h. Si comparamos el valor obtenido para esta formulación con el valor obtenido en ratas (1-2 h) por Van Leewen et al., (1994) vemos que los valores son similares, sin embargo, hay que tener en cuenta que la dosis utilizada en ratas es sensiblemente superior (20-100 mg/kg) frente a los 5 mg/kg de nuestro estudio. Van de Leewen et al., (1994) también estudio la tilosina oral en perros, y si bien no aportó análisis farmacocinético de los resultados, sí ofrece el T_{\max} (2-5 horas), si bien, como en el caso de las ratas con unas dosis de 100 mg/kg, aunque en los dos casos el T_{\max} es parecido al obtenido en nuestro estudio con una rápida absorción de tilosina en perros tras la administración oral.

Por otro lado, el valor de la C_{\max} obtenido en nuestro estudio (0,39 mg/L). Si lo comparamos con el obtenido también en perros tras la administración de 100 mg/kg (2,7-4,6 mg/L), sensiblemente superior al obtenido en nuestro estudio, que teniendo en cuenta que C_{\max} es un parámetro dosis dependiente es lógico esa gran diferencia.

A priori, teniendo en cuenta el carácter tiempo-dependiente de tilosina en cuanto a su eficacia clínica, en nuestro estudio, este factor cobra menos relevancia, ya que la administración vía oral, como se ha mencionado anteriormente está dirigida a la acción antiinflamatoria a nivel gastrointestinal en perros con EII.

5.2.3.3.- Constante de absorción y semivida de absorción.

Tras la administración de tilosina en formulación oral a perros de raza beagle, se ha obtenido un valor aparente de la constante de absorción (K_a) de $2,11 \text{ h}^{-1}$ (tabla 30) y de la semivida asociada a la misma ($t_{1/2ka}$) de 0,33 h (tabla 30). No existen datos en la literatura disponible sobre estos valores tras la administración oral en perros, pero en el caso de la administración intramuscular (Kim et al., 2011) el valor obtenido fue de 1,54 h, valor sensiblemente inferior al obtenido en nuestro estudio, pero que tiene lógica ya que la

administración intramuscular es más eficiente que la oral, además de poseer una mayor biodisponibilidad, como veremos más adelante.

5.2.3.4.- Biodisponibilidad.

La biodisponibilidad obtenida ha sido del $13,25 \pm 1,5\%$ (tabla 32). Como podemos observar, la biodisponibilidad obtenida es realmente baja, si bien en la bibliografía no hay datos disponibles de biodisponibilidad vía oral de tilosina en perros, los únicos datos en perros se obtienen tras la administración intramuscular, que ofrece un valor del 92% (Kim et al., 2011). En otras especies, apenas hay tampoco datos, solamente en pollos vía oral se aporta una biodisponibilidad del 30% (Kowalsky et al., 2002).

Es importante señalar que, en cuanto a la biodisponibilidad, es relevante señalar que siempre se espera obtener una alta biodisponibilidad en cualquier ensayo realizado, de forma que la dosis a administrar sea lo más ajustada posible, además de otras importantes ventajas que presenta obtener una alta biodisponibilidad. Sin embargo, en el caso de este estudio, la baja biodisponibilidad obtenida podría resultar beneficiosa, ya que el efecto de la tilosina esperamos encontrarlo a nivel local en las partes más distales del tracto gastrointestinal donde puede ser efectiva y beneficiosa para los perros que se vean afectados de enfermedad inflamatoria intestinal. Además, otro aspecto importante de nuestro estudio es que la dosis utilizada no es una dosis alta (5 mg/kg) en relación a las altas dosis utilizadas en otros estudios de hasta 100 mg/kg, evitando así posibles efectos adversos derivados de esas altas dosis. En este sentido, hay que destacar que ninguno de los animales sometidos al estudio presentó problemas de efectos adversos a la tilosina oral, y que su tolerancia fue muy satisfactoria en todos los perros.

5.2.3.5.- Tiempo medio de residencia (MRT) y tiempo medio de residencia de absorción (MAT).

El valor medio del MRT alcanza las 10,52 h. Este parámetro es 1,06 veces superior al descrito tras la administración intravenosa (9,9 h). El valor del tiempo medio de residencia de absorción se obtiene mediante la diferencia entre el tiempo medio de residencia extravascular y el intravenoso ($MAT_{oral} = MRT_{oral} - MRT$) de forma que el valor de MAT obtenido en nuestro estudio para la vía oral ha sido de 0,5 horas. A la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos parámetros en los distintos animales, se puede apreciar como en todos los perros el valor de MAT es inferior al del MRT intravenoso. De los

resultados obtenidos en la medición del MAT y MRT se deduce que la tilosina vía oral tiene dificultades para absorberse, como se ha podido ver anteriormente en el caso de la biodisponibilidad, y que la absorción podría estar limitando la eliminación de tilosina presentando un fenómeno flip-flop.

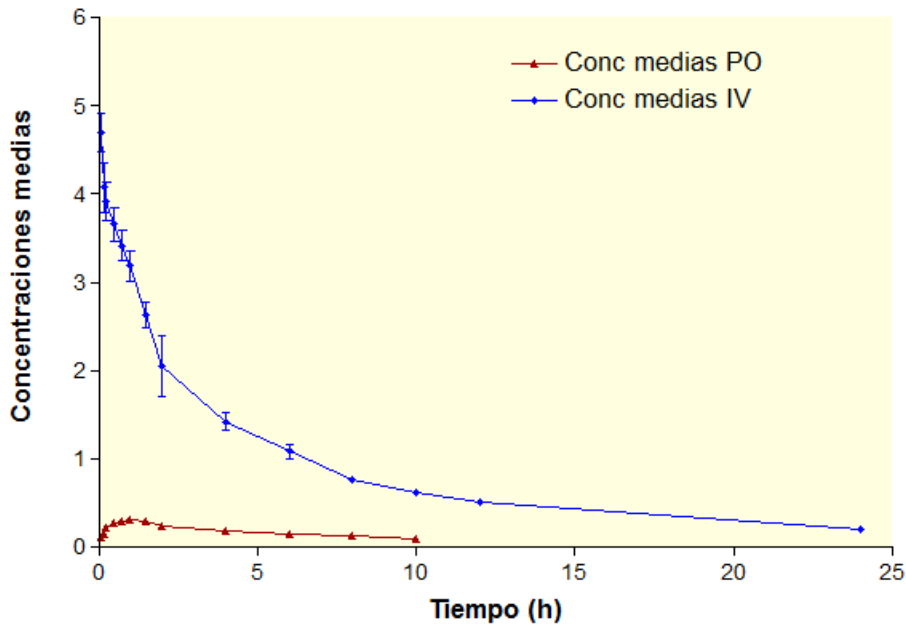
5.2.4.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos de tilosina tras su administración intravenosa y oral.

Los valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos, compartimentales y no compartimentales de tilosina para las dos vías, se resumen en la Tabla 54.

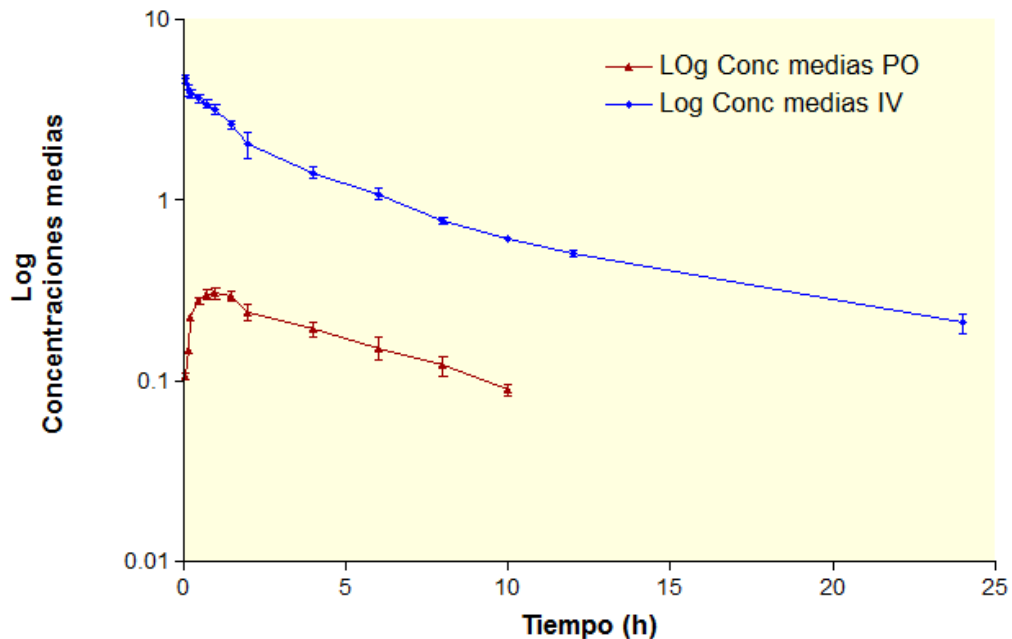
Parámetros	n	IV	PO
$t_{1/2} \lambda_1$ (h) *	5 5	1'3008 1'3641	
$t_{1/2} \lambda_z$ (h) *	5 5	8'8990* 9'0124	5'8095* 5'8074
A (ug/L)	5	3'1626	
λ_1 (h ⁻¹)	5	0'5329	
B (ug/L)	5	1'3339	
λ_z (h ⁻¹)	5	0'0779	0'1199
k ₁₀ (h ⁻¹)	5	0'1938	
k ₁₂ (h ⁻¹)	5	0'2031	
k ₂₁ (h ⁻¹)	5	0'2137	
V _c (L/Kg)	5	1'1169	
V _p (L/Kg)	5	1'0396	
V _{ss} (L/Kg)	5	2'1566	1'8014
C _{max} (mg/L)	5		0'3882
T _{max} (h)	5		1'4536
$t_{1/2} K_a$ (h) *	5		0'3289 0'3327
K _a (h ⁻¹)	5		2'1073
AUC _{0-∞} (mg×h/L)		23'3180	3'0748
MRT (h)*	5 5	9'9956 10'0727	10'5204 10'5854
MAT (h)	5		0'5076 0'5128
CL (L/h/Kg)	5	0'2150	0'2150
V _z (L/kg)	5	2'7799	1'8015

TABLA 54.- Valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos en plasma tras la administración de una dosis de 5mg/kg de tilosina por vía intravenosa (IV) y oral (PO).

En la Gráfica 24 se representan los valores experimentales medios (\pm SD) de concentración obtenidos a los distintos tiempos de extracción tras la administración de tilosina por las vías IV y PO, y en la Gráfica 25 esos mismos valores en escala semilogarítmica.



GRÁFICA 24.- Representación gráfica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de tilosina obtenidas en perros, tras la administración de una dosis de 5 mg/kg, por vía intravenosa (IV) y oral (PO).



GRÁFICA 25.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales (\pm SD) de tilosina obtenidas en perros, tras la administración de una dosis de 5 mg/kg por vía intravenosa (IV) y oral (PO).

A la hora de comparar estadísticamente los parámetros farmacocinéticos obtenidos por vía intravenosa (IV) y vía oral (PO), se ha comprobado previamente, mediante un test de K-S, que, en todos los casos, dichos parámetros se ajustan a una distribución normal (K-S de parámetros). En estos casos, para establecer o no diferencias estadísticas, es más exacto/robusto un test paramétrico. Por ello, se ha procedido, primero a ver si los mismos parámetros están relacionados mediante un análisis de correlación, y, posteriormente, tras comprobar que así ocurre, llevar a cabo un análisis de igualdad de varianza mediante una prueba T para muestras relacionadas (Tabla 55). Los parámetros farmacocinéticos elegidos son aquellos que obviamente resultan comparables: λ_z - K_e , $t_{1/2}$ λ_z - $t_{1/2}$ K_e , V_{ss} - V_d , AUC_{iv} - AUC_{po} , MRT_{iv} - MRT_{po} , CL_{iv} - CL_{po} , V_{ziv} - V_{zpo} . En los dos últimos casos (CL y V_z), se han utilizado los valores obtenidos multiplicados por “su” biodisponibilidad, es decir, corregidos, a fin de poder compararlos. De no hacer esto, obviamente darían diferencias entre los parámetros IV y PO.

Parámetros	Significación
$t_{1/2iv} - t_{1/2po}$	0'002
$\lambda_z - K_e$	< 0'001
$V_{ss} - V_d$	0'008
$AUC_{iv} - AUC_{po}$	< 0'001
$CL_{iv} - CL_{po}$	0'994
$MRT_{iv} - MRT_{po}$	0'011
$V_{ziv} - V_{zpo}$	0'001

TABLA 55.- Prueba T entre los principales parámetros farmacocinéticos compartimentales y no compartimentales obtenidos tras la administración de una dosis de 5mg/kg de tilosina por vía intravenosa (IV) y oral (PO).

En todos los casos, excepto para el aclaramiento ($p > 0'05$), se observa que existen diferencias significativas entre los parámetros intravenosos y los orales ($p < 0'05$). Puede ser debido a la baja disponibilidad que hace que a partir de las 12 h no podamos cuantificar concentraciones, quizá si pudiésemos, la semivida sería mayor y los volúmenes de

distribución también (relación entre semivida y volumen de distribución cuando CL no varía, es necesario que aumente el Vd para que aumente la semivida)

5.3. INFLIXIMAB.

5.3.1. Administración intravenosa de infliximab: Evolución de las concentraciones plasmáticas de infliximab.

5.3.1.1.- Modelo farmacocinético.

Con los datos experimentales obtenidos tras la administración IV de infliximab en los animales, se ha llevado a cabo, un análisis farmacocinético compartimental ajustando las concentraciones de cada perro a modelos mono y bicompartimentales, sin ponderación y con ponderación al inverso de la concentración ($1/Y$) y al inverso del cuadrado de la concentración ($1/Y^2$). Tan solo en un caso se pudo ajustar al modelo bicompartimental. Los valores de AIC obtenidos en el ajuste monocompartimental parecen ser los que mejor ajustan al modelo respecto al ajuste bicompartimental. Si bien el infliximab es un fármaco del que solamente existen referencias en la bibliografía para su administración en humanos, en nuestro caso el ajuste al modelo monocompartimental difiere del obtenido en la especie humana en el que infliximab se ajusta mejor a un modelo bicompartimental (Fasanmade et al., 2011).

5.3.1.2.- Constante de eliminación y semivida.

La semivida de la fase de disposición ($t_{1/2\lambda_z}$) para infliximab, ha sido de 210 horas con una constante de eliminación λ_z de $0,003 \text{ h}^{-1}$. En el caso de la semivida se considera como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982, Rowland y Tozer, 2011).

El valor de la semivida de nuestro estudio (210 h) es bastante más corto que el obtenido para el mismo fármaco en humanos (297,6 horas; Fasanmade et al., 2011). No podemos comparar el valor obtenido con otras especies, ya que es la primera vez que se realiza un estudio sobre infliximab en medicina veterinaria. Sin embargo, cabe destacar que la elevada semivida obtenida, aunque menor que en humanos, permitiría pautas de

dosificación largas de hasta 6 semanas en el caso de que se pueda tratar animales afectados de enfermedad inflamatoria intestinal.

5.3.1.3.- Tiempo medio de residencia.

El tiempo medio de residencia o MRT es un parámetro farmacocinético que tiene una significación similar al tiempo de semivida ya que equivale a la inversa de una constante de eliminación y se obtiene dividiendo el área bajo la curva tiempo-concentración plasmática (AUMC) entre el área bajo la curva (AUC). Ambas áreas pueden obtenerse por integración entre cero e infinito de las curvas compartimentales, o bien como hemos señalado para el AUC mediante análisis no compartimental por medio del cálculo de las áreas trapezoidales como es nuestro caso. Se corresponde con el momento estadístico uno (Yamaoka y cols., 1978b).

En el presente estudio se ha obtenido un valor de MRT de 331 horas (tabla 42). Este resultado es superior a la semivida obtenida de 210 horas. No es posible comparar este MRT con otras especies ya que no se ha encontrado ningún dato en la bibliografía científica consultada,

5.3.1.4.- Aclaramiento plasmático.

El aclaramiento plasmático (Cl) puede calcularse a partir de las curvas de niveles plasmáticos, recurriendo a métodos modelo-dependientes, basados en los modelos compartimentales y fisiológicos, o utilizando métodos modelo-independientes basados en la estimación del AUC (Doménech y cols., 1997). En nuestro estudio, se ha calculado el Cl en función del área bajo la curva mediante análisis no compartimental. El valor obtenido ha sido de 0,0001 L/kg/h (tabla 42) que es muy parecido al obtenido por otros autores en humanos (Fasanmade et al., 2011), y cuyo valor entra dentro de lo esperable para un fármaco que se elimina de forma tan lenta, también en el caso de la especie canina.

5.3.1.5.- Volúmenes de distribución.

Hemos obtenido dos valores de los volúmenes de distribución para infliximab, el volumen de distribución en estado estacionario (V_{ss}) adquiere un valor de 0,049 L/kg, en tanto que el de distribución aparente en función del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (V_z), alcanza un valor de 0,047 L/kg. Como se puede observar estos

valores indican que el fármaco tiene una distribución muy baja y muy limitada, lo cual está ampliamente descrito para este tipo de fármacos, que en definitiva son anticuerpos, y por tanto proteínas de un gran tamaño de forma que su distribución se verá prácticamente limitada al plasma sanguíneo. El V_{ss} es válido en aquellos momentos en que la curva de nivel plasmático está en zonas próximas a la inflexión y, por supuesto, durante la misma ($V_{ss} = V_c + V_p$) al considerar un equilibrio estacionario en la distribución, en tanto que el V_z es válido en una zona más amplia de la curva de nivel plasmático y, de alguna manera, minusvalora la fase inicial ya que asume una pérdida de fármaco en función de λ_z , asimilándose a lo que sería equivalente a un modelo monocompartimental (Doménech y cols., 1997), por tanto, teniendo en cuenta que en nuestro caso, es el modelo monocompartimental el que mejor se ha ajustado, podemos observar que ambos valores son prácticamente idénticos.

5.3.2. Comparación de los ajustes compartimental y no compartimental.

La comparación de los valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos, compartimentales y no compartimentales de infliximab para las dos vías, se ha realizado mediante un test paramétrico, una prueba T para muestras relacionadas. Las diferencias en λ_{z-Ke} , $t_{1/2 \lambda_z} - t_{1/2 Ke}$, $V_{ss}-V_d$, AUC y CL en todos los casos, excepto para el aclaramiento ($p>0'05$), han sido significativas entre los parámetros compartimentales y los no compartimentales ($p<0'05$). Dado que se han obtenido diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros farmacocinéticos monocompartimentales y no compartimentales, se ha estimado conveniente ver detalladamente como predicen la evolución temporal de las concentraciones ambos ajustes. Con los datos de concentraciones teóricas obtenidos por el programa WinNonlin, tras ajuste compartimental y ajuste no compartimental, se han obtenidos las concentraciones medias para ambos ajustes. La gráfica 17 del apartado de resultados, presenta dichos valores medios (\pm SD) de concentración plasmática teórica de infliximab en perros, obtenidos por métodos compartimental y no compartimental, junto con los valores medios experimentales.

Para comprobar si existen diferencias entre las concentraciones que, a cada intervalo de tiempo, se obtienen con ambos ajustes, se ha llevado a cabo una Test de Levene.

Por tanto, no existen diferencias entre las concentraciones predichas por ambos métodos de ajuste farmacocinético, las diferencias en los parámetros quizá sean debidas a la pequeña magnitud de las mismas. Como puede observarse, no existen diferencias entre las concentraciones teóricas que se obtienen con ambos métodos de ajuste farmacocinético. Sin embargo, se aprecia claramente en la Gráfica 17, que ambos ajustes, prevén concentraciones ligeramente superiores a las experimentales hasta las 180 h, concentraciones más igualadas en torno a las 240 h, y concentraciones ligeramente inferiores a las experimentales a partir de las 480 h. Los valores de obtenidos mediante ajuste compartimental son, en todo momento, inferiores a los obtenidos por ajuste no compartimental.

5.3.3. Tolerancia de los perros al infliximab.

La tolerancia al fármaco se ha contratados mediante análisis hematológicos seriados y analíticas sanguíneas. No se observó alteración en el hematocrito ni en el recuento de glóbulos rojos, lo que indica que no existe anemia y que la función de la médula ósea es normal. De igual forma, la hemoglobina permaneció en niveles normales. Estos parámetros, durante todo el tiempo, se distribuyen normalmente. El VCM (volumen corpuscular medio) se mantienen en límites normales, al no ser menores de 60 no hay microcitosis ni anemia y al no ser superiores a 72 no se ha producido déficit de vitamina B ni de ácido fólico y no cabe esperar trastornos del hígado. Existen diferencias entre el día 0 y los días 30, 45 y 60 (Bonferroni/Dunn $p < 0.05$). El HCM (hemoglobina corpuscular media) muestra una ligera hipocromía en la semana 0 (antes de la administración del infliximab) y en la semana 9. Sin embargo, es muy ligera y dado que los índices anteriores son correctos, no cabe esperar que existiera una anemia ferropénica, ya que, entre otras cosas, la CHCM (concentración hemoglobínica corpuscular media) se mantiene en todo momento en niveles normales y el RDW (índice de distribución de hematíes) se mantiene en todo momento en niveles normales (valores superiores al 16%, serían índice de que hay anisocitosis, una respuesta a una anemia ferropénica).

El día 60 se obtuvieron los valores más elevados de hematocrito, recuento eritrocitario, RDW, CHDW (con un valor prácticamente igual al de los 30 días) y HDW. Los valores de hemoglobina, VCM, HCM, CHCM, CHCML y CH resultaron más elevados el día 45. Todo esto indica que no existe una tendencia en el cambio cuantitativo de los valores de estos parámetros, lo que ocurriría en el caso de que todos ellos hubiesen mostrado un

incremento o una disminución en las mismas semanas. Los niveles de leucocitos, segmentados, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos se mantienen en todo momento dentro de los límites admitidos como normales. Los valores de estos parámetros a lo largo de todo el tiempo, se distribuyen normalmente, por lo que no existen diferencias estadísticamente significativas en ninguno de ellos a lo largo del tiempo. Los valores más elevados de leucocitos, segmentados, linfocitos, eosinófilos y basófilos se obtuvieron el día 45. El valor más elevado de los monocitos se obtuvo el día 0. Los parámetros plaquetarios se mantienen en todo momento dentro de los límites admitidos como normales, y se distribuyen normalmente a lo largo de todo el tiempo, por lo que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las distintas semanas de muestreo. El valor más elevado de recuento plaquetario se obtuvo el día 30.

Teniendo en cuenta todos los valores obtenidos a nivel hematológico, de nuevo la única referencia disponible para comparar son los datos de administración de infliximab en humanos, donde se han notificado casos de pancitopenia, leucopenia, neutropenia y trombocitopenia en pacientes que recibieron antagonistas del TNF. Por tanto, podemos inferir que la tolerancia a nivel hematológico de infliximab en perros es aceptable y comparable a la obtenida en humanos (AEMPS, 2009).

En el caso de los parámetros bioquímicos ensayados, todos permanecen dentro de los rangos aceptados como normales durante toda la experiencia, excepto los niveles de glucosa que presentaban los perros inmediatamente antes de la experiencia, que resultaron ligeramente elevados, aunque sin significancia clínica. Algunos parámetros tienen su valor máximo la semana 0 (ALP, glucosa), otros en la semana 2 (GGT, bilirrubina), otros la semana 5 (AST, ALT, CK, colesterol), otros la semana 7 (proteínas totales, albúmina, globulinas) y otros en la semana 9 (urea, creatinina, triglicéridos), por tanto, no existe una tendencia de los parámetros a aumentar o disminuir a lo largo del tiempo. De esto se infiere que el tratamiento no afectó, al menos de forma sensible, a la función hepática, pancreática y renal. Los niveles más altos de bilirrubina y GGT se obtuvieron el día 10. El día 30 se obtuvieron los valores más elevados de AST, ALT, CK y colesterol. El día 45 se obtuvieron los valores más elevados de proteínas totales, albúmina y globulinas. El valor más alto de urea se produjo a los 60 días, igual ocurrió con la creatinina, aunque en este último caso el valor es muy próximo a los de días anteriores. Este mismo día se obtuvo el valor más alto de triglicéridos. En tanto que el valor más alto de glucosa se obtuvo el día 0, antes de la administración del infliximab. Si bien, los únicos trastornos en forma de reacciones adversas descritas en la bibliografía en cuanto a parámetros bioquímicos alterados indican como reacciones adversas frecuentes las

alteraciones de la función hepática y transaminasas elevadas, en nuestro caso podemos inferir que los animales tratados no han sufrido alteraciones clínicamente relevantes. Es importante señalar que el estudio tiene una importante limitación en cuanto al número de animales tratados, y que serían necesarios más animales para establecer con mayor significación estos datos de seguridad.

5. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1- El trasplante fecal en perros con enfermedad inflamatoria intestinal resultó beneficioso cuantificado mediante la medición de distintos parámetros, entre ellos del índice CIBDAI y Walthan. El 100% de los animales tratados con TMF obtuvieron un beneficio clínico.
- 2- La administración de tilosina en nuestro estudio en perros Beagle sanos a dosis de 5 mg/kg vía intravenosa y oral presenta un comportamiento farmacocinético bicompartimental, lo cual está en consonancia con otros estudios realizados con tilosina en otras especies.
- 3- El análisis de los parámetros farmacocinéticos para las dos vías ensayadas para tilosina indican una distribución amplia ($V_z = 2.77$ L/kg) y suficiente para el posible tratamiento de afecciones en perros con enfermedad inflamatoria intestinal.
- 4- La permanencia del fármaco tilosina en esta especie tras la administración IV y oral atendiendo a la semivida plasmática obtenida ha sido de 8.89 h (IV) y 5.8 h (oral), y que puede permitir establecer unos regímenes de dosificación lo suficientemente amplios para el tratamiento de los procesos intestinales inflamatorios.
- 5- La biodisponibilidad de la tilosina tras la administración oral es del 13.25% para la vía oral, un valor bajo que sin embargo en el caso de la administración de tilosina para tratar afecciones intestinales aporta altas concentraciones en el tracto gastrointestinal que podrían ser beneficiosas en el tratamiento de animales enfermos.+
- 6- La administración de infliximab en nuestro estudio en perros Beagle sanos a dosis de 5 mg/kg vía intravenosa presenta un comportamiento farmacocinético bicompartimental, lo cual está en consonancia con otros estudios realizados con infliximab en otras especies como la humana.
- 7- El análisis de los parámetros farmacocinéticos para infliximab indican una distribución limitada ($V_z = 0.047$ L/kg) para el posible tratamiento de afecciones en perros con enfermedad inflamatoria intestinal, distribución en consonancia con la descrita en otras especies.
- 8- La permanencia del fármaco infliximab en esta especie tras la administración IV atendiendo a la semivida plasmática obtenida ha sido de 210 h (IV), y que puede permitir establecer unos regímenes de dosificación lo suficientemente amplios para el tratamiento de los procesos intestinales inflamatorios.

6. RESUMEN

Para la realización del estudio mediante transferencia de microbiota fecal, se utilizaron dos grupos siguiendo el mismo protocolo. Un grupo constituido por pacientes del Hospital Veterinario de la Universidad de Murcia: perros con enteropatías crónicas (más de 3 semanas de duración), diagnosticados de IBD a diferentes niveles (estomago, duodeno o colon principalmente) mediante biopsia endoscópica. Un segundo grupo constituido con pacientes de la clínica veterinaria para pequeñas especies Hinckley Vets4pets (Inglaterra): perros con diarrea crónica con respuesta parcial al tratamiento con antibióticos inicialmente tratados con metronidazol y que sufrieron recaída. En todos los casos, los dueños autorizaron la realización de uno o dos TMF y suministraron información sobre la evolución clínica del animal.

Se llevo a cabo una clasificación por puntos de la enfermedad inflamatoria intestinal, siguiendo el “Canine Inflammatory Disease Activity Index” (índice CIBDAI descrito por Jergens et al. (2003)). Para la gradación de las heces, se usó el sistema de puntuación “Waltham® faeces scoring system”.

Los trasplantes se realizaron, tras pasar 48h desde la administración de la tilosina, por medio de un enema, a dosis de 5 mL/kg, tras dejar descongelar el excremento a temperatura ambiente durante la noche previa a la administración. Tras la primera transferencia se realizaron otras dos con dos días de intervalo entre ellas. Tras la tercera se realizó la última clasificación de la consistencia fecal, observando si existe mejoría clínica. Se realizó a continuación un seguimiento telefónico con el dueño para seguir la evolución del animal y se citó, cuando al paciente cuando se consideró oportuno.

En el estudio farmacocinético de la tilosina se utilizaron 5 perros, todos ellos sanos, machos castrados, de raza Beagle cuyos pesos oscilaban entre los 15'6 y 24 Kg. Los animales tenían entre 2 y 3 años de edad. El estudio fue de tipo cruzado en 2 fases, con intervalos entre cada fase de 15 días para asegurar la ausencia de interferencias entre cada uno de los estudios.

El antibiótico mencionado se administró a dosis de 5 mg/kg en solución acuosa por vía intravenosa (IV) en la vena cefálica derecha, y por vía oral (PO) mediante la administración de la dosis en polvo pesada e individualizada en cápsulas. Las muestras de sangre (1 mL) se recogieron de la vena cefálica izquierda hasta las 24h desde la administración IV y hasta las 96 h desde la administración PO del fármaco.

La determinación analítica de tilosina en las muestras de plasma se ha realizado mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), utilizando el método de Abu-Basha et al. (2012), ligeramente modificado.

En el estudio farmacocinético del Infliximab se utilizaron 5 perros, a los que se administró mediante infusión intravenosa lenta, durante 1'5 horas, una dosis de 5 mg/kg, y se mantuvieron en condiciones de hospitalización, durante las primeras 24 horas para después volver a sus perreras de origen. Para evaluar la tolerancia de los perros a la dosis de infliximab administrada, se han realizado análisis sanguíneos, hematológicos y bioquímicos.

La determinación analítica de infliximab en las muestras de suero se ha realizado utilizando el kit Promitor IFX[®] (Grifols, España), un método comercial validado de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).

En el estudio farmacocinético de la tilosina y el infliximab, se ha realizado mediante análisis compartimental y no compartimental.

Respecto a los resultados obtenidos con los TFM, el índice CIBDAI tuvo una mejora clínica, tras el trasplante, del 100% en ambos grupos. En el caso del índice Walthan, la mejora se produjo también en el 100%. Además, ninguno de los animales sufrió pérdida de peso después del tratamiento y, en el caso 2 del grupo 2, el paciente no solo recuperó su peso, sino que continuó incrementándolo posteriormente. Todos los animales mejoraron disminuyendo la frecuencia de las deposiciones antes y después de la TFM en el grupo 1, mientras que en el grupo 2 todos mejoraron excepto un caso. Otro de los parámetros que más información aportan sobre el éxito o no del TFM es la evolución de la consistencia de las heces. En nuestro estudio, los resultados han sido bastante positivos de forma que el 100% de los casos ha presentado un aumento de la consistencia de las mismas.

La distribución de tilosina en perros se ajusta a un modelo bicompartimental tras la administración intravenosa de 5 mg/kg del fármaco. La semivida de la fase de disposición rápida ($t_{1/2\lambda_1}$) para tilosina, ha sido de 1.3 horas, y la de la fase de disposición lenta ($t_{1/2\lambda_2}$) de 8.89 horas y se ha obtenido un valor de MRT de 10,07 horas. El CI obtenido ha sido de 0,21 L/kg/h, el V_{ss} adquiere un valor de 2,15 L/kg, en tanto que V_z alcanza un valor de 2,77 L/kg.

Tras la administración de tilosina en formulación oral, se ha obtenido una K_a de 2,11 h⁻¹ y una $t_{1/2ka}$ de 0,33 h. La biodisponibilidad obtenida ha sido del 13,25±1,5%.

En cuanto al infliximab, tras su infusión IV, sus concentraciones plasmáticas se ajustan a un modelo monocompartimental. Su $t_{1/2\alpha}$ ha sido de 210 horas y su MRT de 331 horas. Cabe destacar que la elevada semivida obtenida, aunque menor que en humanos, permitiría pautas de dosificación largas de hasta 6 semanas en el caso de que se pueda tratar animales afectados de enfermedad inflamatoria intestinal. Su CI ha sido de 0,0001 L/kg/h, el V_{ss} adquiere un valor de 0,049 L/kg y el V_z alcanza un valor de 0,047 L/kg. Respecto a la tolerancia de los perros al infliximab, no se observó alteración en el hematocrito ni en el recuento de glóbulos rojos, lo que indica que no existe anemia y que la función de la médula ósea es normal. No se ha producido déficit de vitamina B ni de ácido fólico y no cabe esperar trastornos del hígado. Los niveles de leucocitos, segmentados, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos se mantienen en todo momento dentro de los límites admitidos como normales. En el caso de los parámetros bioquímicos ensayados, todos permanecen dentro de los rangos aceptados como normales durante toda la experiencia.

En conclusión, el 100% de los animales con IBD tratados con TMF obtuvieron un beneficio clínico. El análisis de los parámetros farmacocinéticos para las dos vías ensayadas para tilosina indican una distribución amplia ($V_z = 2.77$ L/kg) y suficiente para el posible tratamiento de afecciones en perros con enfermedad inflamatoria intestinal. La permanencia del fármaco infliximab en el perro, tras su infusión IV, atendiendo a la semivida plasmática obtenida ha sido de 210 h (IV), puede permitir establecer unos regímenes de dosificación lo suficientemente amplios para el tratamiento de los procesos intestinales inflamatorios.

7. SUMMARY

For FMT study, two groups were used following the same protocol. One group consisted of patients from the Veterinary Hospital of the University of Murcia: dogs with chronic enteropathies (more than 3 weeks of duration), diagnosed with IBD at different levels (stomach, duodenum or colon mainly) by endoscopic biopsy. A second group consisted of patients from the veterinary clinic for small species Hinckley Vets4pets (England): dogs with chronic diarrhea with partial response to antibiotic treatment initially treated with metronidazole and that relapsed. In all cases, the owners authorized the performance of one or two TMF and provided information on the clinical evolution of the animal.

A point-based classification of inflammatory bowel disease was performed, following the "Canine Inflammatory Disease Activity Index" (CIBDAI index described by Jergens et al. (2003)). For stool grading, the "Waltham faeces scoring system" was used.

Transplants were performed, 48h after tylosin administration, by enema, at a dose of 5 mL/kg, after allowing the feces to thaw at room temperature overnight prior to administration. After the first transfer, two other transfers were performed two days apart. After the third transfer, the last classification of fecal consistency was performed, observing whether there was clinical improvement. A telephone follow-up was then carried out with the owner to follow the evolution of the animal and the patient was summoned when it was considered appropriate.

In the pharmacokinetic study of tylosin, 5 dogs were used, all of them healthy, neutered male Beagles weighing between 15.6 and 24 kg. The animals were between 2 and 3 years of age. The study was a 2-phase crossover study, with intervals between each phase of 15 days to ensure the absence of interference between each of the studies.

The aforementioned antibiotic was administered at a dose of 5 mg/kg in aqueous solution intravenously (IV) in the right cephalic vein, and orally (PO) by administration of the weighed and individualized powder dose in capsules. Blood samples (1 mL) were collected from the left cephalic vein up to 24h from IV administration and up to 96 h from PO administration of the drug.

Analytical determination of tylosin in plasma samples was performed by high performance liquid chromatography (HPLC), using the method of Abu-Basha et al. (2012), slightly modified.

In the pharmacokinetic study of Infliximab, 5 dogs were used, which were administered by slow intravenous infusion, during 1'5 hours, a dose of 5 mg/kg, and were kept under hospitalized conditions, during the first 24 hours and then returned to their home kennels. To evaluate the tolerance of the dogs to the dose of infliximab administered, blood, hematological and biochemical analyses were performed.

The analytical determination of infliximab in serum samples was performed using the Promitor IFX© kit (Grifols, Spain), a validated commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method.

The pharmacokinetic study of tylosin and infliximab was performed by compartmental and non-compartmental analysis.

Regarding the results obtained with FMT, the CIBDAI index showed a 100% clinical improvement after transplantation in both groups. In the case of the Waltham index, the improvement was also 100%. In addition, none of the animals suffered weight loss after treatment and, in case 2 of group 2, the patient not only regained his weight, but continued to increase it afterwards. All animals improved by decreasing stool frequency before and after FMT in group 1, while in group 2 all improved except one case. Another of the parameters that provide the most information on the success or otherwise of FMT is the evolution of stool consistency. In our study, the results have been quite positive, with 100% of the cases presenting an increase in stool consistency.

The distribution of tylosin in dogs follows a bicompartmental model after intravenous administration of 5 mg/kg of the drug. The half-life of the fast disposition phase ($t_{1/2\lambda_1}$) for tylosin, has been 1.3 hours, and that of the slow disposition phase ($t_{1/2\lambda_z}$) 8.89 hours and an MRT value of 10.07 hours has been obtained. The Cl obtained was 0.21 L/kg/h, the V_{ss} acquired a value of 2.15 L/kg, while V_z reached a value of 2.77 L/kg.

After administration of tylosin in oral formulation, a K_a of 2.11 h⁻¹ and a $t_{1/2ka}$ of 0.33 h were obtained. The bioavailability obtained was 13.25±1.5%.

As for infliximab, after IV infusion, its plasma concentrations conform to a monocompartmental model. Its $t_{1/2\lambda_z}$ was 210 hours and its MRT was 331 hours. It should be noted that the high half-life obtained, although shorter than in humans, would allow long dosing schedules of up to 6 weeks in the case that animals affected by inflammatory bowel disease can be treated. Its Cl has been 0.0001 L/kg/h, the V_{ss} acquires a value of 0.049 L/kg and the V_z reaches a value of 0.047 L/kg. Regarding the tolerance of dogs to infliximab, no alteration in hematocrit or red blood cell count was observed, indicating no anemia and normal bone marrow function. There was no vitamin B or folic acid deficiency and no liver disorders are to be expected. The levels of leukocytes, segmented, lymphocytes, monocytes, eosinophils and basophils remain at all times within the limits admitted as normal. In the case of the biochemical parameters tested, all remain within the ranges accepted as normal during the whole experience.

In conclusion, 100% of the animals with IBD treated with TMF obtained a clinical benefit. Analysis of the pharmacokinetic parameters for the two pathways tested for tylosin indicate a wide distribution ($V_z = 2.77$ L/kg) and sufficient for potential treatment of conditions in

dogs with inflammatory bowel disease. The permanence of the drug infliximab in the dog, after its IV infusion, according to the plasma half-life obtained was 210 h (IV), may allow establishing dosage regimens sufficiently broad for the treatment of inflammatory intestinal processes.

8. BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA.

ABDUL-KARIM, B.G. (2006a). Study No. T1G1010402. Pre-clinical laboratory study: pharmacokinetics of tylosin in cattle and calves. *Elanco Animal Health, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Sponsor submitted.*

ABDUL-KARIM, B.G. (2006b). Study No. T1G1010403. Pre-clinical laboratory study: pharmacokinetics of tylosin in chicken. *Elanco Animal Health, a Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Sponsor submitted.*

ABU-BASHA, E.A., AL-SHUNNAQ, A.F. Y GEHRING, R. (2012). Comparative pharmacokinetics and bioavailability of two tylosin formulations in chickens after oral administration. *Journal Hellenic Veterinary Medical Society*, 63(2): 159-166.

ABU-BASHA, E.A., IDKAIDEK, N., AL-SHUNNAQ, A.F. (2007). Pharmacokinetics of Tilmicosin (Provitil Powder and Pulmotil Liquid AC) Oral Formulations in Chickens. *Veterinary Reseach Communications*, 31(4):477-85.

AEET, B., JOHNSON, D.P. Y KIRSHMAUM, A. (1971). Outline of details for microbiological assays of antibiotics: Second revision. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 60, 1689-1694.

AGNOLETTI, F., FERRO, T., GUOLO, A., MARCON, B., COCCHI, M., DRIGO, I., MAZZOLINI, E., BANO, L. (2009). A survey of *Clostridium spiroforme* antimicrobial susceptibility in rabbit breeding. *Veterinary Microbiology*, 36, 188–191.

ALFREDSON, D.A. Y KOROLIK, V. (2007). ANTIBIOTIC resistance and resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *FEMS Microbiology Letters* 277(2), 123-132.

AL-MOMANI, W., NICHOLAS, R.A.J., JANAKAT, S., ABU-BASHA, E., AYLING, R.D. (2006). The in vitro effect of six antimicrobials against *Mycoplasma putrefaciens*, *Mycoplasma mycoides* subsp. *Mycoides* LC and *Mycoplasma capricolum* subsp. *Capricolum* isolated from sheep and goats in Jordan. *Tropical Animal Health and Production* 38, 1–7.

AL-WABEL, N. A. (2008). The pharmacokinetics and milk residual behaviour of tylosin in lactating Najdi ewes. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz

University, 9 (2): 138-143.

ADAMS, R.H. (2003). *Farmacología y Terapéutica veterinaria*. 2ª ed. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España. Pág 937-943.

ADEDOKUN, O.J., SANDBORN, W.J., FEAGAN, B.G., RUTGEERTS, P., XU, Z., MARANO, C.W., JOHANNIS, J., ZHOU, H., DAVIS, H.M., CORNILLIE, F., REINICH, W. (2014). Association between serum concentration of infliximab and efficacy in adult patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 47:1296-307.

ANADÓN, A. Y MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M.R. (1999). Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects. *Livestock Production Science* 59, 183-198.

ANDERSON, R.C. (1960) Tylosin absorption and excretion studies. Unpublished report No. 893/FAANIM/AM from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA. 123.

ANDERSON, R.C., HARRIS, P.N., LEE, C.C., MAZE, N., SMALL, R.M. & WORTH, H.M. (1966a). The toxicology and pharmacology of tylosin, an antibiotic, and some salts of tylosin. Study No. VAR.100/c/9. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Co, Indianapolis, Indiana, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health.

ANDERSON, J., EDNEY, R. Y WHELAN, K. (2012). Systematic review: Faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 36(6): 503-516.

ANDERSON, R.C., WORTH, H.M., SMALL, R.M. Y HARRIS, P.N. (1966b). Toxicological studies on tylosin: its safety as a food additive. *Food and Cosmetics Toxicology* 4, 1-15.

ANDERSON, R.C. Y WORTH, H.M. (1961). The acute toxicity of tylosin phosphate. Study No. 893/TACUTE/AM. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Co, Indianapolis, Indiana, USA.

APOQUEL, Ficha Técnica del producto. (ANEXO I).

ATEF, M., AABO EL-SOUD, K., NAHED, E. Y TAWFIK, M. (1999). Elimination of tilmicosin in lactating ewes. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 106, 291-294.

ATEF, M., YOUSSEF, S.A., ATTA, A.H. Y EL-MAAZ, A.A. (1991). Disposition of tylosin in goats. *British Veterinary Journal* 147, (3): 207-215.

Bibliografía

AUBOURG A, PICON L, LECOMTE T, BEJAN-ANGOULVANT T, PAINTAUD G, TERNANT D. A. (2015). Robust estimation of infliximab pharmacokinetic parameters in Crohn's disease. *European Journal Clinical Pharmacology*, 71(12):1541-2.

AVCI T. Y ELMAS M. (2014). Milk and Blood Pharmacokinetics of Tylosin and Tilmicosin following Parenteral Administrations to Cows. Hindawi Publishing Corporation, The Scientific World Journal, 1-6.

AWJI, E.G., DAMTE, D., LEE, S., LEE, J., KIM, PARK, S. (2012). THE IN VITRO ACTIVITY OF 15 ANTIMICROBIAL AGENTS AGAINST BACTERIAL ISOLATES FROM DOGS. *JOURNAL OF VETERINARY MEDICAL SCIENCE* 74 (8), 1091–1094.

BAERT, F., NOMAN, M., VERMEIRE, S., VAN ASSCHE, G., D'HAENS, G., CARBONEZ, A., RUTGEERTS, P. (2003). Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *The New England Journal of Medicine.*, 348:601-8.

BAGGOT, J. D. (1974). Principles of Drug Distribution. *Australian Veterinary Journal* 50, 111-119.

BAGGOT, J.D. (1977). Principles of drug disposition: the basis of veterinary clinical pharmacology. 1st Ed., Philadelphia, W. B. Saunders Co., PA. Pp 1-34.

BAGGOT, J.D. (1978). Some aspects of clinical pharmacokinetics in veterinary medicine: principles of pharmacokinetics. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1, 111-118. 124.

BAGGOT, J.D. Y GINGERICH, D.A. (1976). Pharmacokinetic interpretation of erythromycin and tylosin activity in serum after intravenous administration of a single dose to cows. *Research in Veterinary Science* 21, 318-323.

BALLOW, C.H. Y AMSDEN, G.W. (1992). Azithromycin: the first azalide antibiotic. *The Annals of Pharmacotherapy Journal* 26 (10), 1253-1261.

BALTZ, R.H. Y SENO, E.T. (1988). Genetics of *Streptomyces fradiae* and tylosin biosynthesis. *Annual Review of Microbiology* 42, 547-574.

Bibliografía

BALTZ, R.H., SENO, E.T., STONESIFER, J. Y WILD, G.M. (1983). Biosynthesis of the macrolide antibiotic tylosin. A preferred pathway from ty lactone to tylosin. *Journal of Antibiotics* 36, 131-141.

BARCIA-MACAY, M., SERAL, C., MINGEOT-LECLERCQ, M.P., TULKENS, P.M. Y VAN BAMBEKE, F. (2006). Pharmacodynamic evaluation of the intracellular activities of antibiotics against *Staphylococcus aureus* in a model of THP-1 macrophages. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50 (3), 841-851.

BARTLETT, J., CHANG, T., GURWITH, M., GORBACH, S. Y ONDERDONK, A. (1978). Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. *New England Journal of Medicine*, 298(10): 531-534.

BENNET, J. Y BRINKMAN, M. (1989). Treatment of ulcerative colitis by implantation of normal colonic flora. *The Lancet*, 333(8630): 164.

BENNET, J.V., BRODIE, J.L., BENNER, E.J., KIRBY, W.M.M. (1966). Simplified accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. *Applied Microbiology* 14, 170-177.

BENDTZEN, K., GEBOREK, P., SVENSON, M., LARSSON, L., KAPETANOVIC, M.C., SAXNE, T. (2006). Individualized monitoring of drug bioavailability and immunogenicity in rheumatoid arthritis patients treated with the tumor necrosis factor a inhibitor infliximab. *Arthritis Rheumatoid*. 54:3782-9.

BERGER, A. (2005). Dose intensification with infliximab in patients with rheumatoid arthritis. *Annals of Pharmacotherapy*, 39:2021-5.

BERKMAN, R.N., BRANSCUM, A., RICHARDS, E.A.(UNDATED). Tylosin residue studies in chickens. *Experiment No. VPR-41-418. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana, USA. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co.*

BERKMAN, R.N. Y VAN DUYN, R.L. (UNDATED). Tylosin toxicity study in poultry. *Unpublished study No. VPR-53-418 from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.* 125.

Bibliografía

BONNIER, M., DORÉ, C., AMÉDÉO, J., GURÉRIÉRN-FAUBLÉE, V. (2006). In vitro activity of tylosin and tilmicosin against cocci isolated from bovine mastitis. *Revue de Médecine Vétérinaire* 157 (10), 486-489.

BOOTH, B.P., GOBBURU, J.V. (2003). Considerations in analyzing single-trough concentrations using mixed-effects modeling. *Journal Clinical Pharmacology*, 43:1307-15.

BORODY, T., FINLAYSON, S. y PARAMSOTHY, S. (2014). Is Crohn's Disease Ready for Fecal Microbiota Transplantation, *Journal of Clinical Gastroenterology*, 48(7): 582-583.

BORODY, T.J., GEORGE, L., Y ANDREWS, P. (1989). Bowel-flora alteration: A potential cure for inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome? *The Medical Journal of Australia*, 150: 604.

BRANDSE, J.F., WILDENBERG, M.E., DE BRUYN, J.R., WOLBINK, G., LOWENBERG, M., PONSIOEN, C.Y., VAN DEN BRINK, G.R., D'HAENS, G.R. M. (2013), P500 Fecal loss of infliximab as a cause of lack of response in severe inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, 7: S210.

BRANDSE, J.F., VAN DEN BRINK, G.R., WILDENBERG, M.E., VAN DER KLEIJ, D., RISPENS, T., JANSEN, J.M., MATHOT, R.A., PONSIOEN, C.Y., LEOWENBERG, M., D'HAENS, G.R. (2015). Loss of infliximab into feces is associated with lack of response to therapy in patients with severe ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 149:350-5.E2.

BRANSON, E. (2003). RAINBOW TROUT GASTRO-ENTERITIS (RTGE): FIRST DIAGNOSIS IN THE UK. *FISH VETERINARY JOURNAL* 7, 71-76.

BRYSKIER, A. (2000). Ketolides-telithromycin, an example of a new class of antibacterial agents. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 6 (12), 661-669.

BRYSKIER, A., AGOURIDAS, C., GASC, J. (1993). Classification of macrolide antibiotics. In: *BRYSKIER, A., BUTZLER, J.P., NEU, H.C., TULKENS, M.P., eds. Macrolides: chemistry, pharmacology and clinical use. Oxford, England: Blackwell*, pp 5-66.

BRYSKIER, A., BUTZLER, J.P. (2003). MACROLIDES. In: *Antibiotic and Chemotherapy: Anti-infective agents and their use in therapy*.

Bibliografía

BRISSENO-NOEL, A., TRIEU-COUT, P., COURVALIN, P. (1988). Mechanism of action of spiramycin and other macrolides. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 22, 13-23.

BRODDLE, W.D., GOSSETT, F.O., ADAMS, E.R., HOFFMAN, D.G., GRIES, C.L., GIBSON, W.R., MORTON, D.M. (1978a). Chronic toxicity of tylosin fed to rats for one year. *Unpublished study No. R-307 from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

BRODDLE, W.D., GOSSETT, F.O., ADAMS, E.R., HOFFMAN, D.G., GRIES, C.L., GIBSON, W.R., MORTON, D.M., KITCHEN, D.N., GIBSON, W.R., MORTON, D.M. (1978B). A study of a parental population of rats bred to produce offspring assigned to one- and two years dietary studies of tylosin. *Unpublished study No. R-1176 from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

BURCH, D.G.S. (2005). Pharmacokinetic, Pharmacodynamic and clinical correlations relating to the therapy of colonic infections in the pig and breakpoint determinations. *The Pig Journal*, 56, 8-24.

BURROWS, G.E., BARTO, P.B., MARTIN, B. (1986). Antibiotic disposition in experimental pneumonic pasteurellosis: gentamicin and tylosin. *Canadian Journal of Veterinary Research* 50, 193-199.

BURROWS, G., BARTO, P., MARTIN, B. & TRIPP, M. (1983). Comparative pharmacokinetics of antibiotics in newborn calves: chloramphenicol, lincomycin, and tylosin. *American Journal of Veterinary Research*, 44, 1053.

BURTON, E.N., O'CONNOR, E., ERICSSON, A.C. Y FRANKLIN, CL. (2016). Evaluation of Fecal Microbiota Transfer as Treatment for Postweaning Diarrhoea in Research-Colony Puppies. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 55(5): 582-587.

BUURMAN, D. J., MAURER, J. M., KEIZER, R.J., KOSTERINK, J.G.W., DIJKSTRA, G. (2015). Population pharmacokinetics of infliximab in patients with inflammatory bowel disease:

potential implications for dosing in clinical practice. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 42: 529–539.

CALDWELL, D.B., WANG., LIN, J. (2008). Development, stability, and molecular mechanisms of macrolide resistance in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52(11), 3947-3954.

CAMERON, D.M. (1990a). Tylosin (Tylan Soluble) dose tolerance study in broiler chickens. *Unpublished study No. LLY 24/90799 from the Department of Animal Science, Huntingdon Research Centre, Huntingdon, Cambridgeshire, England. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

CAMERON, D.M. (1990b). Tylosin (Tylan Soluble) dose tolerance study in turkeys. *Unpublished study No. LLY 25/90800 from the Department of Animal Science, Huntingdon Research Centre, Huntingdon, Cambridgeshire, England. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

CAMERON, D.M. (1990c). Tylosin (Tylan Soluble) dose tolerance study in pigs. *Unpublished study No. LLY 22/90797 from the Department of Animal Science, Huntingdon Research Centre, Huntingdon, Cambridgeshire, England. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

CAMERON, D.M. (1990d). Tylosin (Tylan Soluble) dose tolerance study in calves. *Unpublished study No. LLY 23/90798 from the Department of Animal Science, Huntingdon Research Centre, Huntingdon, Cambridgeshire, England. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.* 127.

CARBON, C. (1998). Pharmacodynamics of Macrolides, Azalides and Streptogramins: Effect on Extracellular Pathogens. *Clinical Infectious Diseases* 27, 28-32.

CARLETTI, M., GUSSON, F., ZAGHINI, A., DACASTO, M., MARVASI, L., NEBBIA, C. (2003). In vitro formation of metabolic-intermediate cytochrome p450 complexes in rabbit liver microsomes by tiamulin and various macrolides. *Veterinary Research* 34, 405-411.

Bibliografía

CARLIER, M.B., ZENEBERGH, A., TULKENS, P.M. (1987). Cellular uptake and subcellular distribution of roxthromycin and erythromycin in phagocytic cells. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 20, 47-56.

CARTER, K.K., HIETALA, S., BROOKS, D.L., BAGGOT, J.D. (1987). Tylosin concentrations in rat serum and lung tissue after administration in drinking water. *Laboratory Animal Science* 37, 468-470.

CE, COMISIÓN EUROPEA (2015). Comunicación de la comisión. Directrices para una utilización prudente de los antimicrobianos en la medicina veterinaria (2015/C 299/04). *Diario Oficial de la Unión Europea* 7-23.

CESTER, C.C., GANIERE, J.P., TOUTAIN, P.L. (1993). Effect of stage of oestrous cycle on tylosin disposition in genital tract secretions of cows. *Research in Veterinary Science* 54, 32-39.

CHAITMAN, J., GASCHEN, F. (2021). Fecal Microbiota Transplantation in Dogs. *Veterinary Clinic of North America Small Animal Practice*, 51: 219–233.

CHAITMAN, J., JERGENS, A.E., GASCHEN, F., GARCIA-MAZCORRO, J.F., MARKS, S.L., MARROQUIN-CARDONA, A.G., RICHTER, K., ROSSI, G., SUCHODOLSKI, J.S. Y WEESE, S. (2016). Commentary on key aspects of fecal microbiota transplantation in small animal practice. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 7: 71-74.

CHAITMAN, J., ZIESE, A.L., PILLA, R., MINAMOTO, Y., BLAKE A.B., GUARD, B.G., ISAIAH, A., LIDBURY, J.A., Steiner, J.M., Unterer, S., Suchodolski, J.S. (2020). Fecal Microbial and Metabolic Profiles in Dogs With Acute Diarrhea Receiving Either Fecal Microbiota Transplantation or Oral Metronidazole. *Frontiers in Veterinary Science*, 20: 192.

CHAMBERLAND, S. (1993). Intracellular accumulation of tylosin in primary swine and bovine alveolar macrophages. Unpublished study from the Département de Microbiologie, Centre de Recherche du CHUL, Université Laval, Ste-Foy, Québec, Canada. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

CHAN, W., GERHARDT, G.C., SALISBURY, C.D.C. (1994). Determination of tylosin and tilmicosin residues in animal tissues by reversed-phase liquid chromatography. *Journal of AOAC International* 77, 331-333. 128.

CHEE, NG., C.M., BRUNO, R., COMBS, D., DAVIES, B. (2005). Population pharmacokinetics of rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) in rheumatoid arthritis patients during a phase II clinical trial. *Journal Clinical Pharmacology*, 45:792-801.

CHERLET, M., DE BAERE, S., CROUBELS, S., DE BACKER, P. (2002). Quantitation of tylosin in swine tissues by liquid chromatography combined with electrospray ionization mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 473, 167-175.

CHOI, H. Y CHO, Y. (2016). Fecal Microbiota Transplantation: Current Applications, Effectiveness, and Future Perspectives. *Clinical Endoscopy*, 49(3): 257-265.

CHOI, C., HAM, H., KWON, D., KIM, J., CHEON, D., MIN, K., CHO, W., CHUNG, H., JUNG, T., JUNG, K. & CHAE, C. (2002). Antimicrobial Susceptibility of Pathogenic *Escherichia coli* Isolated from Pigs in Korea. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64 (1), 71–73.

COCHRANE, R.L., THOMSON, T.D. (1990). The determination of tylosin residues in lung and serum following administration of Tylan® 200 by intramuscular injection to pigs. *Unpublished study T1Z769002 from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Sponsor submitted.*

Codony, R., Compañó, R., Granados, M., García-Regueiro, J.A., Prat, M.D. (2002). Residue analysis of macrolides in poultry muscle by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 959, 131-141.

CORNILLIE, F., HANAUER, S.B., DIAMOND, R.H., WANG, J., TANG, K.L., XU, Z., RUTGEERTS, P., VERMEIRE, S. (2014). Postinduction serum infliximab trough level and decrease of C-reactive protein level are associated with durable sustained response to infliximab: a retrospective analysis of the ACCENT I TRIAL. *Schoolars Northwester University, Medicine gastroenterology division, Feinber School of Medicine*. 63:1721-7.

COSTELLO, S., CONLON, M., VUARAN, M., ROBERTS-THOMSON, I. Y ANDREWS, J. (2015). FAECAL MICROBIOTA TRANSPLANT FOR RECURRENT *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFECTION USING LONG-TERM FROZEN STOOL IS EFFECTIVE: CLINICAL EFFICACY AND BACTERIAL VIABILITY DATA. *ALIMENTARY PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS*, 42(8):1011-1018.

Bibliografía

CRAIG, W.A. (1998). Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical Infectious Diseases* 26, 1-10.

CUNDLIFFE, E., BATE, N., BUTLER, A., FISH, S., GANDECHA, A. Y MERSON-DAVIES, L. (2001). THE TYLOSIN-BIOSYNTHETIC GENES OF *STREPTOMYCES FRADIAE*. *REVIEW ANTONIE VAN LEEUWENHOEK*, 79(3-4):229-34.

CYTOPOINT, Ficha Técnica del producto. (ANEXO II).

DE LIGUORO, M., ANDOSSO, P., ANGELETTI, R., MONTESISSA, C. (1998). Determination of tylosin residues in pig tissues using high-performance liquid chromatography. *Analyst* 123, 1279-1282.

DEBONO, M., WILLARD, K.E., KIRST, H. A., WIND, J.A., CROUSE, G.D., TAO, E.V., VICENZI, J.T., COUNTER, F.T., OTT, J.L., OSE, E.E. (1989). Synthesis and antimicrobial evaluation of 20-deoxo-20-(3,5-dimethylpiperidine-1-yl)desmicosin (Tilmicosin, EL-870) and related cyclic amino derivatives. *Journal of Antibiotics (Tokyo)* 42, 1253-1267. 129.

DEL-POZO, J., CRUMLISH, M., FERGUSON, H.W., TURNBULL, J.F. (2009). A retrospective cross-sectional study on “*Candidatus arthromitus*” associated rainbow trout gastroenteritis (RTGE) in the UK. *Aquaculture* 290, 22–27.

DEL-POZO, J., CRUMLISH, M., FERGUSON, H.W., TURNBULL, J.F GREEN, D.M., TURNBULL, J.F. (2010). A prospective longitudinal study of “*Candidatus arthromitus*” associated rainbow trout gastroenteritis in the UK. *Preventive Veterinary Medicine* 94, 289-300.

Delépine, B., Hurtaud, D., Sanders, P. (1994). Identification of tylosin in bovine muscle at the maximum residue limit level by liquid chromatography-mass spectrometry, using a particle beam interface. *Analyst* 119, 2717-2721.

DELÉPINE, B., HURTAUD, D., SANDERS, P. (1996). Multiresidue method for confirmation of macrolide antibiotics in bovine muscle by liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 79, 397-404.

DOTAN, I. RON, Y., YANAI, H., BECKER, S., FISHMAN, S., YAHAV, L., BEN YEHOYADA, M., MOULD, D.R. (2014). Patient factors that increase infliximab clearance and shorten half-life

Bibliografía

in inflammatory bowel disease: a population pharmacokinetic study. *Inflammatory Bowel Disease*, 20(12):2247-59.

DOUTHWAITE, S. (2001). Structure-Activity Relationships of Ketolides vs. Macrolides. *Clinical Microbiology and Infection*, 7: 11-17.

DOUTHWAITE, S. Y CHAMPNEY, S., (2001). Structures of ketolides and macrolides determine their mode of interaction with the ribosomal target site. *Journal of Antimicrobial Therapy*. 48(1):1-8. 130.

DREKONJA, D., REICH, J. Y GEZAHEGN, S. (2015). Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: A systematic review. *Annals of Internal Medicine*, 162: 630-638.

DOWLING, P.M., WILSON, R.C., TYLER, J.W., DURAN, S.H. (1995). Pharmacokinetics of ciprofloxacin in ponies. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 18, 7-12.

DOWNS, O.S., NEGILSKI, D.S. (1985a). The acute oral, dermal, and ocular toxicity of granulated tylosin concentrate. *Unpublished studies Nos R-0-365-79, R-0-366-79, BD- 109-79 and B-E-94-79 from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

DOWNS, O.S., NEGLISKI, D.S. (1985b). The acute oral, dermal, ocular and inhalation toxicity of Tylan 200 Injection. *Unpublished studies Nos R-0-344-79, R-0- 343-79, B-D-103-79, B-E-87-79 and R-H-39-79 from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

DRAISCI, R., PALLESCHI, L., FERRETTI, E., ACHENE, L., CECILIA, A. (2001a). Confirmatory method for macrolide residues in bovine tissues by micro-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 926, 97- 104.

DREWS, J., GEORGOPOULOS, A., LABER, G., SCHUTZE, E., UNGER, J. (1975). Antimicrobial activities of 81.723 hfu, a new pleuromutilin derivative. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 7(5), 507-516.

Bibliografía

DRUSANO, G. (2001). Pharmacodynamic and pharmacokinetic considerations in antimicrobial selection: focus on telithromycin. *Clinical Infectious Diseases* 7(3), 24- 29.

DRUSANO, G.L., CRAIG, W.A. (1997). Relevance of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the selection of antibiotics for respiration tract infections. *Journal of Chemotherapy* 9(Suppl. 3), 38-44.

DUBOIS, M., FLUCHARD, D. SIOR, E., DELAHAUT, P. (2001). Identification and quantification of five macrolide antibiotics in several tissues, eggs and milk by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 753, 189-202.

DUCOURAU, E., MULLEMAN, D., PAINTAUD, G., MIOW LIN, D.C., LAUFERON, F., TERNANT, D., WATIER, H., GOUPILLE, P. (2011). Antibodies toward infliximab are associated with low infliximab concentration at treatment initiation and poor infliximab maintenance in rheumatic diseases. *Arthritis Research & Therapy*, 13:105.

DUDRIKOVÁ, E. Y LEHOTSKÝ, J. (1998). A comparison of liquid chromatographic and microtitre test procedures for determining the depletion of tylosin in healthy lactating cows. *Milchwissenschaft* 53, 90-92.

DUNNING, M. (2017). Improving IBD in dogs through exercise. *Veterinary Records*, 222-223.

DUTHU, G. S. (1985). Interspecies correlation of the pharmacokinetics of erythromycin, oleandomycin, and tylosin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 74: 943–946.

EDLUND H, MELIN J, PARRA-GUILLEN ZP, KLOFT C. (2015). Pharmacokinetics and pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships of monoclonal antibodies in children. *Clinical Pharmacokinetics*, 54:35-80.

AEMPS. (2009). Ficha técnica REMICADE.

https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/99116001/FT_99116001.pdf

EHRENPREIS, E. (2017). Pharmacokinetic Effects of Antidrug Antibodies Occurring in Healthy Subjects After a Single Dose of Intravenous Infliximab. *Drugs in R&D*. 17:607–613.

Bibliografía

El-Sayed, M.G.A., El-attar, H.M., Atef, M., Yousif, M. (1986). Pharmacokinetic profile of tylosin in mastitic cows. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 93, 326-328. 131.

EMA, European Medicines Agency. *Infliximab. Summary of product characteristics*.

EMA, European Medicines Agency (2009). Reflection paper on the use of macrolides, lincosamides and streptogramins (MLS) in food-producing animals in the European Union: development of resistance and impact on human and animal health EMA/CVMP/SAGAM/741087/2009, pp. 2-42, London U.K.

EMA, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. (1997). Tylosin. Summary report (3). EMEA/MRL/205/97-FINAL, pp. 2-8, London, U.K.

EMA, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. (2000). Tylosin (Extension to eggs). Summary report (4). EMEA/MRL/732/00-FINAL, pp.1-3, London U.K.

EMA, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. (2001). Note for guidance on the risk analysis approach for residues of veterinary medicinal products in food of animal origin. EMEA/CVMP/187/00-FINAL, pp.2-11, London, U.K.

EMA, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. (2002a). Tylosin (Extension to all food producing species). Summary report (5). EMEA/MRL/829/02-FINAL, pp.1-2. London, U.K.

EMA, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. (2002b). Note for Guidance: Approach Towards Harmonisation of Withdrawal Periods- Update application software. EMEA/CVMP/563/02-FINAL, London, UK.

EMA, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. (2008). *Guideline on demonstration of target animal safety and efficacy of veterinary medicinal products intended for use in farmed finfish*. EMEA/CVMP/EWP/459868/2008- CONSULTATION, London, UK.

ESAKI, H., ASAI, T., KOJIMA, A., ISHIHARA, K., MORIOKA, A., TAMURA, Y., TAKAHASHI, T. (2005). *Antimicrobial susceptibility of Mannheimia haemolytica isolates from cattle in Japan from 2001 to 2002*. *Journal of Veterinary Medical Science* 67 (1), 75-77.132.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 5.0 (2004). Tylosin for veterinary use. Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe, Council of Europe, Strasbourg, vol. 2, pp. 2647-2648. FAO/WHO, Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization. (1969). Specifications for the Identity and Purity of Food Additives and their Toxicological Evaluation: Some antibiotics (Twelfth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), FAO Nutrition Meetings Report Series No. 45; WHO Technical Report Series No. 430.

FASANMADE, A.A., ADEDOKUN, O.J., BLANK, M., ZHOU, H., DAVIS, H.M. (2011). Pharmacokinetic properties of infliximab in children and adults with Crohn's disease: A retrospective analysis of data from 2 phase III clinical trials. *Journal Clinical Therapeutics*, 33(7): 946-64.

FASANMADE, A.,A., ADEDOKUN, O.J., FORD J., HERNANDEZ, D., JOHANNIS J., HU, C., DAVIS, H.M., ZHOU, H. (2009). Population pharmacokinetic analysis of infliximab in patients with ulcerative colitis. *European Journal Clinical Pharmacology*, 65:1211-28.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2008). Tylosin. First draft prepared by Lewicki, J., Reeves, P.T. and Swan, G.E. Addendum to the monograph prepared by the 38th Meeting of the Committee and published in FAO Food and Nutrition Paper 41/4.

FAO/WHO, Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization (1991). Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues in Foods (Thirty-Eighth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series No. 815.

FDA, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. (2013). Infliximab label information.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/103772s5359lbl.pdf

FDA, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. (2005). Tylan (tylosin tartrate) soluble. In: NADA 013-076. Freedom of Information Summary, Supplemental New Animal Drug Application, pp. 1-12. Available at the website of the Center for Veterinary Medicine, US Food and Drug Administration, at: <http://www.fda.gov/cvm/foi/013-076s101705.pdf>.

Bibliografía

FERNÁNDEZ-VARÓN, E. (2015). Antibióticos inhibidores de la síntesis de proteínas. En Farmacología Veterinaria. *Fundamentos y aplicaciones terapéuticas*. Ed Médica Panamericana. Madrid. España.

FINCH, R.G., GREENWOOD, D., NORRBY, S.R. AND WHITLEY, R.J. EDINBURGH, CHURCHILL LIVINGSTONE. BRROWS, G.E. (1980). Pharmacotherapeutics of macrolides, lincomycins, and spectinomycin. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 176, 1072- 1077. 126.

FISCHER, S.K., YANG, J., ANAND, B., COWAN, K., HENDRICKS, R., LI, J., NAKAMURA, G., SONG, A. (2012). The assay design used for measurement of therapeutic antibody concentrations can affect pharmacokinetic parameters: Case studies. *Mabs*, 4:623-31.

GAD, W., HAUCK, R., KRÜGER, M., HAFEZ, H.M. (2011). Determination of antibiotic sensitivities of *Clostridium perfringens* isolates from commercial turkeys in Germany in vitro. *Archiv Fur Geflugelkunde* 2, 80-83.

GARRIOTT, M.L., MICHAELIS, K.C., GRIES, C.L. (1991). The effect of tylosin on the induction of forward mutation at the HGPRT+ locus of Chinese hamster ovary cells. Unpublished study No. 910612CHO3279 from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA. 133.

GAYNOR, M. Y MANKIN, A.S. (2005). Macrolide antibiotics: binding site, mechanism of action, resistance. *Frontiers in Medicinal Chemistry* 2, 21-35.

GEDON, N.K.Y., Y MUELLER, R.S., (2018). Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners. *Clinical and Translational Allergy*, (8):41.

GERMAN, A.J., HALL, E.J., DAY, M.J. (2001). Immune cell populations within the duodenal mucosa of dogs with enteropathies. *Journal Veterinary Internal Medicine*. 15: 14-25.

GHARAIBEH, S., AL-RIFAI, R. Y AL-MAJALI, A. (2010). Molecular typing and antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* from broiler chickens. *Anaerobe* 16, 586-589.

Bibliografía

- GIBALDI, M., NAGASHIMA, R., LEVY, G. (1969). Relationship between drug concentration in plasma or serum and amount of drug in the body. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 58, 193-197.
- GIBREEL, A., TAYLOR, D.E. (2006). Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 58(2), 243-255.
- GIGUÉRE, S. (2006). Macrolides, azalides, and ketolides. In: *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine (4th edition)*, ed. Giguère S., Prescott J.F., Baggot J.D., Dowling P.M., Blackwell Publishing, pp. 191-205.
- GINER, S., CANÓS, M., RODILLA, F., FERRER, C. (1995). Nuevos macrólidos ¿superan a eritromicina?. *Farmacia Hospitalaria* 19 (4), 259-265.
- GINGERICH, D.A., BAGGOT, J.D., KOWALSKI, J.J. (1977). Tylosin antimicrobial activity and pharmacokinetics in cows. *The Canadian Veterinary Journal*, 18(4): 96-100.
- GONZÁLEZ DE LA HUEBRA,, M.J. VINCENT, U. (2005). Analysis of macrolide antibiotics by liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39: 376–398.
- GONZÁLEZ, J., BARRETO, J., RODRÍGUEZ, M., PINO, P., LIM, N. (1998). Macrólidos. *Acta Médica* 8 (1), 71-74.
- GORDON, H. Y HARBORD, M. (2014). A patient with severe Crohn's colitis responds to Faecal Microbiota Transplantation. *Journal of Crohn's and Colitis*, 8(3): 256-257.
- GOUGH, E., SHAIKH, H. Y MANGES, A. (2011). Systematic Review of Intestinal Microbiota Transplantation (Fecal Bacteriotherapy) for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Infectious Diseases*, 53(10): 994-1002.
- GRATACÓS, J., COLLADO, A., FILELLA, X., SANMARTÍ, R., CAÑETE, J., LLENA, J., MOLINA, R., BALLESTA, A., MUÑOZ-GÓMEZ, J. (1994). Serum cytokines (IL-6, TNF- α , IL-1 b and IFN- γ) in ankylosing spondylitis: a close correlation between serum IL-6 and disease activity and severity. *British Journal Rheumatology*. 33:927-31.
- GRIES, C.L. (1980). Compound 27892 (tylosin), studies R-287 and R-297. Unpublished memorandum to Dr M.E. Amundson from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and

Bibliografía

Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

GRIES, C.L., DOWNS, O.S., NEGILSKI, D.S. (1985a). The acute oral, dermal and ocular toxicity of granulated tylosin concentrate. Unpublished report dated April, 1985, 134 with studies R-O-365-79, R-366-79, B-D-109-79, and B-E-94-79 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to WHO by Lilly Research Centre Ltd., Windlesham, Surrey, England.

GRIES, C.L., DOWNS, O.S., NEGILSKI, D.S. (1985b). The acute oral, dermal, ocular and inhalation toxicity of tylan 200 injection. Unpublished report dated September 1985 with studies R-O-344-79, R-O-343-79, B-D-103-79, B-E-87-79, and R-H-39-79 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to WHO by Lilly Research Centre Ltd., Windlesham, Surrey, England.

GRIES, C.L., NEGILSKI, D.S., DOWNS, O.S. (1985c). The acute oral, dermal, ocular and inhalation toxicity of tylan soluble. Unpublished report dated September 1985 with studies R-O-367-79, R-O-368-70, B-D-94-79, B-E-90-79, and R-H-40-79 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to WHO by Lilly Research Centre Ltd. Windlesham, Surrey, England.

GRIES, C.L., PARTON, J.W., GARRIOTT, M.L. (1990). The effect of tylosin (compound 027892) on the in vivo induction of micronuclei in bone marrow of ICR mice. Unpublished study No. 891212MNT3279 from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

GRIES, C.L. Y YOUNG, S.S. (1982). Positive correlation of body weight with pituitary tumor incidence in rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 2(3), 145–148.

GUTIÉRREZ, C.B., RODRÍGUEZ, E.F. (1993). In vitro susceptibility of *Pasteurella multocida* subspecies multocida strains isolated from swine to 42 antimicrobial agents. *Enthalblatt für Bakteriologie*, 279, 387-393.

HALL, E.J. (2011). Antibiotic-responsive diarrhoea in small animals. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, 41(2): 273-86.

Bibliografía

HAMILL, R.L., M.E., HANEY, M. STAMPER & P.F. WILEY. (1961). Tylosin, a new Antibiotic: II. Isolation, properties, and preparation of desmycosin, a microbiologically active degradation product. *Antibiotics & Chemotherapy* 11, 328-334. 135.

HAMILL, R.L. & STARK, W.M. (1964). Macrocin, a new antibiotic, and lactenocin, an active degradation product. *Journal of Antibiotics* 17, 133-139.

HAMILTON-MILLER, J.M. & SHAH, S. (2002). Activity of ketolide ABT-773 (cethromycin) against erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae*: Correlation with extended MLSK phenotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50 (6), 907-913.

HAMILTON, M., WEINGARDEN, A., SADOWSKY, M. Y KHORUTS, A. (2012). Standardized Frozen Preparation for Transplantation of Fecal Microbiota for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *The American Journal of Gastroenterology*, 107(5): 761-767.

HAMSCHER, G., LIMSUWAN, S., RANSAKUL, N., KIETZMANN, M. (2006). Quantitative analysis of tylosin in eggs by high performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry: residue depletion kinetics after administration via feed and drinking water in laying hens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 9017-9023.

HANDY, P.R., MATSUOKA, T. (1978). Tylosin tissue residues in calves following oral feeding of tylosin tartrate. *Experiment No. 659-G-128-45. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co.*

HARDY, D.J., HENSEY, D.M., BEYER, J.M., VOJTKO, C., MCDONALD, E.J., FERNANDES, P.B. (1988). Comparative in vitro activities of new 14-, 15-, and 16- membered macrolides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 32 (11), 1710-1719.

HARRIS, P.N. (1961). Chronic toxicity study R3-59. *Unpublished study No. R3-59 from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

HAWES, M., RIDDLE, A., KIRK, J., JERGENS, A., ALLENSPACH, K. (2018). Interleukin-1 β expression is increased in the duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Veterinary Records*, 1-3.

Bibliografía

HELLER, D.N., NOCHETTO, C.B. (2004). DEVELOPMENT OF MULTICLASS METHODS FOR DRUG RESIDUES IN EGGS: SILICA SPE CLEANUP AND LC-MS/MS ANALYSIS OF IONOPHORE AND MACROLIDE RESIDUES. *JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY* 52, 6848-6856.

HIDALGO, A., CARVAJAL, A., GARCÍA-FELIZ, C., OSORIO, J., RUBIO, P. (2009). Antimicrobial susceptibility testing of Spanish field isolates of *Brachyspira hyodysenteriae*. *Research in Veterinary Science* 87, 7–12.

HJERPE, C.A. (1979). A comparison of serum antibiotic concentrations achieved in calves with intratracheal administration of procaine penicillin G, ampicillin trihydrate, tylosin, oxytetracycline hydrochloride, chloramphenicol sodium succinate, 136 dihydrostreptomycin sulfate and neomycin sulfate with those achieved with intravenous, intramuscular and subcutaneous administration. *Bovine Practice* 14, 18-26.

HJERPE, C.A., ROUTEN, T.A. (1976). Practical and theoretical considerations concerning treatment of bacterial pneumonia in feedlot cattle, with special reference to antimicrobial therapy. In: *Proceedings of the American Association of Bovine Practitioners. Annual Meeting, San Francisco, USA.* pp. 97–140.

HONG, J., LEE, Y., LEE, C., EO, S., KIM, S. LEE, N., PARK, J., PARK, S., SEO, D, JEON, M. LEE, Y., YEON, S., BOU-ASSAF, G., SOSIC, Z., ZHANG W., JAQUEZ, O. (2017). Physicochemical and biological characterization of SB2, a biosimilar of Remicade® (infliximab)Infliximab. *MABs*, 9(2): 365-383.

HORIE, M., SAITO, K., ISHII, R., YOSHIDA, T., HARAMAKI, Y., NAKAZAWA, H. (1998). Simultaneous determination of five macrolide antibiotics in meat by highperformance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 812, 95-302.

HORIUCHI, T., MITOMA, H., HARASHIMA, S., TSUKAMOTO, H., SHIMODA, T. (2010). Transmembrane TNF- α : structure, function and interaction with MABS 1415 anti-TNF agents. *Rheumatology*, 49:1215-28.

HOYT, J.A., HIGDON, G.L. (1991). A reproduction study of rats fed diets containing tylosin: Data tables for reproduction and progeny indices. *Unpublished report No. R- 1176 from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

- HRANJEC, M., STARCEVIC, K., ZAMOLA, B., MUTAK, S., DEREK, M., KARMINSKI-ZAMOLA, G. (2002). New amidino-benzimidazolyl derivatives of tylosin and desmycosin. *Journal of Antibiotics (Tokyo)* 55, 308-314.
- HU, D., COATS, J.R. (2007). Aerobic degradation and photolysis of tylosin in water and soil. *Environmental Toxicology & Chemistry* 26, 884-889.
- HU, D., FULTON, B., HENDERSON, K., COATS, J. (2008). Identification of tylosin photoreaction products and comparison of ELISA and HPLC methods for their detection in water. *Environmental Science & Technology* 42, 2982-2987.
- HYATT, J.M., MCKINNON, P.S., ZIMMER, G.S., SCHENTAG, J.J. (1995). The importance of pharmacokinetic/pharmacodynamic surrogate markers to outcome: focus on antibacterial agents. *Clinical Pharmacokinetics* 28, 143-160.
- IACONA, I., LAZZARINO, M., AVANZINI, M.A., RUPOLO, M., ARCAINI, L., ASTORI, C., LUNGI, F., ORLANDI, E., MORRA, E., ZAGONEL, V., REGAZZI, M.B.. (2000). Rituximab (IDECC2B8): validation of a sensitive enzyme-linked immunoassay applied to a clinical pharmacokinetic study. *The Drug Monitoring*, 22:295-301.
- INGALLINELLA, P., DI MARCO, A., TALIANI, M., FATTORI, D., PESSI, A. (2001). A new method for chemoselective conjugation of unprotected peptides to dauno- and doxorubicin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 11, 1343-1346. 137.
- IRITANI, Y., HIDAKA, S., KITABATAKE, T., ISE, T. (1975). Tylosin levels in the tissue of pig after medication in drinking water. *Japanese Journal of Zootechnical Science* 48, 588-590.
- IVEKOVIĆ, D., LOPOTAR, N., BRAJŠA, K., MANDIĆ, Z. (2003). Electrochemical reduction of desmycosin, structure investigation and antibacterial evaluation of the resulting products. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 18, 323-328.
- JACOBS, M.R., BAJAKSOUZIAN, S., ZILLES, A., LIN, G., PANKUCH, G.A., Appelbaum, P.C. (1999). Susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* to 10 oral antimicrobial agents based on pharmacodynamic parameters: 1997 U.S. surveillance study. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43, 1901-1908.

Bibliografía

- JALANKA, J., MATTILA, E., JOUHTEN, H., HARTMAN, J., DE VOS, W., ARKKILA, P. Y SATOKARI, R. (2016). Long-term effects on luminal and mucosal microbiota and commonly acquired taxa in faecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection. *BMC Medicine*, 14(1): 155.
- JASPER, D.E., JAAJECKIN, N.C., BRAZIL, L.H. (1966). Clinical and laboratory observation on bovine mastitis due to mycoplasma. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 148, 1017-1029.
- JERGENS, A.E.. Y SIMPSON, K.W., (2012). Inflammatory bowel disease in veterinary medicine. *Frontiers in bioscience*, 1(4):1404-19.
- JERGENS, A.E., SCHREINER, C.A., FRANK, D.E., NIYO, Y., AHRENS, F.E., ECKERSALL, P.D., BENSON, T.J., EVANS, R. (2003). A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *Journal Veterinary Internal Medicine*, 17(3):291-7.
- JI, L.W., DONG, L.L., JI, H., FENG, X.W., LI, D., DING, R.L., JIANG S.X. (2013). Comparative pharmacokinetics and bioavailability of tylosin tartrate and tylosin phosphate after a single oral and i.v. administration in chickens. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 37: 312–315.
- JIN, L.Y., HYOUNG-JOON, M, BO-KYU, K, MAN, K.J., WAN-KYU, L. (2014). *In vitro antimicrobial susceptibility of Mycoplasma hyorhinis* field isolates collected from swine lung specimens in Korea. *Journal of Swine Health and Production* 22(4), 193- 196.
- JIMÉNEZ, R., PIRIZ, S., MATEOS, E., VADILLO, S. (2004). Minimum inhibitory concentrations for 25 selected antimicrobial agents against *Dichelobacter nodosus* and *Fusobacterium* strains isolated from footrot in Sheep of Portugal and Spain. *Journal of Veterinary Medicine* 51, 245–248.
- JUHEL-GAUGAIN, M., ANGER, B., LAURENTIE, M. (1999). Multiresidue chromatographic method for the determination of macrolide residues in muscle by highperformance liquid chromatography with UV detection. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 82, 1046-1053.
- KALENYAK, K., ISAIAH, A., HEILMANN, R.M., SUCHODOLSKI, J.S., BURGNER, I.A.(2018). Comparison of the intestinal mucosal microbiota in dogs diagnosed with idiopathic

Bibliografía

inflammatory bowel disease and dogs with food-responsive diarrhea before and after treatment. *FEMS Microbiology Ecology*, 1;94(2).

KARLSSON, M., FELLSTROM, C., HELDTANDER, U.K., JOHANSSON, K.E., FRANKLIN, A. (1999). Genetic basis of macrolide and lincosamide resistance in *Brachyspira* (Serpulina) *hyodysenteriae*. *FEMS Microbiology Letters* 172(2), 255-260.

KARLSSON, M., FELLSTROM, C., JOHANSSON, K.E., FRANKLIN, A. (2004). Antimicrobial resistance in *Brachyspira pilosicoli* with special reference to point mutations in the 23S rRNA gene associated with macrolide and lincosamide resistance. *Microbial Drug Resistance* 10(3), 204-208.

KARLSSON, M., OXBERRY, S. L., HAMPSON, D. J. (2002). Antimicrobial susceptibility testing of Australian isolates of *Brachyspira hyodysenteriae* using a new broth dilution method. *Veterinary Microbiology* 84, 123-133. 138.

KARMIRIS, K., PAINAUD, G., NOMAN, M., MAGDELAINE-BEUZELIN, C., FERRANTEM, M., DEGENNE, D., CLAES, K., COOPMAN, T., VAN SCHUERBEEK, N., VAN ASSCHE, G., VERMEIRE, S., RUTGEERTS, P. (2009). Influence of trough serum levels and immunogenicity on long-term outcome of adalimumab therapy in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 137:1628-40.

KAKKAR, T., SUNG, C., GIBIANSKY, L., VU, T., NARAYANAN, A., LIN, S.L., VINCENT, M., BANFIELD, C., COLBERT, A., HOOFRING, S., STARCEVIC, M., MA, P., (2011). Population PK and IgE pharmacodynamic analysis of a fully human monoclonal antibody against IL4 receptor. *Pharmaceutical Reseachs*, 28:2530-42.

KARST, S. (2016). The influence of commensal bacteria on infection with enteric viruses. *Nature Reviews Microbiology*, 14(4): 197-204.

KEHR, C.C., HAMELINK, J.L., BRANNON, D.R., AMUNDSON, M.E. (1978a). The toxicity of compound 27892 (tylosin) to bobwhite quail in an acute oral study. *Unpublished study No. 7017-78 from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

Bibliografía

KEHR, C.C., HAMELINK, J.L., BRANNON, D.R., AMUNDSON, M.E. (1978b). The toxicity of compound 27892 (tylosin) to bobwhite quail in an eight day dietary study. *Unpublished study No. 7025-78 from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

KEHR, C.C., HAMELINK, J.L., BRANNON, D.R., AMUNDSON, M.E. (1978c). The toxicity of compound 27892 (tylosin) to mallard ducks in an eight-day dietary study. *Unpublished study No. 7022-78 from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

KELICH, S.L. Y BYRD, R.A. (1991). Teratology studies of tylosin in mice and rats: Summary tables and figures. *Unpublished report from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA. 139.*

KENG, L., Y BOISON, J. (1992). High performance liquid chromatographic determination of tylosin in bovine muscle, kidney and liver. *Journal of Liquid Chromatography* 15, 2025-2034.

KENNINGTON, A.S., DONOHO, A.L., DARBY, J.M., MORAN, J.W., Y OCCOLOWITZ, J.L. (1994a). Tylosin metabolism study in tissues and excreta of calves injected with ¹⁴C-tylosin. *Unpublished GLP study No. T1Z749302 from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Sponsor submitted.*

KHANNA, S., VAZQUEZ-BAEZA, Y., GONZÁLEZ, A., WEISS, S., SCHMIDT, B., MUÑIZ-PEDROGO, D., RAINEY, J., KAMMER, P., NELSON, H., SADOWSKY, M., KHORUTS, A., FARRUGIA, S., KNIGHT, R., PARDI, D. Y KASHYAP, P. (2017). Changes in microbial ecology after fecal microbiota transplantation for recurrent *C. difficile* infection affected by underlying inflammatory bowel disease. *Microbiome*, 15;5(1): 55.

KIETZMANN, M. (1985). Comparative study of the distribution and excretion of tylosin of various origins. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 92, 147-149.

Bibliografía

KILPINEN, S. (2016). Tylosin-responsive diarrhoea in dogs. Clinical trials on tylosin's treatment efficacy, dosage regimen, and effects on fecal enterococci. *Faculty of Veterinary Medicine of the University Helsinki*. Doctoral Thesis.

KILPINEN, S., SPILLMANN, T., WESTERMARCK E., (2014). Efficacy of two low-dose oral tylosin regimens in controlling the relapse of diarrhea in dogs with tylosin-responsive diarrhea: a prospective, single-blinded, two-arm parallel, clinical field trial. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 56: 43.

KILPINEN, S., SPILLMANN, T., SYRJÄ, P., SKRZYPCZAK, T., LOUHELAINEN, M., WESTERMARCK, E. (2011). Effect of tylosin on dogs with suspected Tylosin-responsive diarrhea: a placebo-controlled, randomized, double-blinded, prospective clinical trial. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53:26.

KIM, B., MIN, K., CHOI, C., CHO, W., CHEON, D., KWON, D., KIM, J., CHAE, C. (2001). Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pigs in Korea using new standardized procedures. *Journal of Veterinary Medical Science* 63(3), 341-342.

KIM, E.Y., GEBRU, E., LEE J.S., KIM, J.C., PARK S.C. (2011). Pharmacokinetics of a Florfenicol-Tylosin Combination after Intravenous and Intramuscular Administration to Beagle Dogs. *Journal of Veterinary Medica Sciences*, 73(4): 463–466.

KIM, M.H., GEBRU E., CHANG, Z.Q., CHOI, J.Y., HWANG, M.H., KANG, E.H., LIM, J.H., YUN, H.I., PARK, S.C. (2008). Comparative Pharmacokinetics of Tylosin or Florfenicol after a Single Intramuscular Administration at Two Different Doses of Tylosin-Florfenicol Combination in Pigs. *Journal Veterinary Medicine Sciences*. 70(1): 99–102.

KINDING, D.E.F. (1990). The effect of tylosin on the in vitro induction of chromosome aberrations in Chinese hamster ovary cells. *Unpublished studies Nos 891109CTX3279, 891129CAB3279 and 891220CAB3279 from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

KINYON, J. M., MURPHY, D., STRYKER, C., TURNER, V., HOLCK, J. T., DUHAMEL, G. (2002). Minimum inhibitory concentration for US swine isolates of *Brachyspira pilosicoli* to

Bibliografía

valnemulin and four other antimicrobials. *Proceedings of the 17th international Pig Veterinary Society Congress, Ames, Iowa, USA, 2, 50. 140.*

KIORPES, A.L. (1993). Relative availability of Tylan® 200 Injection administered subcutaneously and intramuscularly to cattle. *Unpublished GLP study No. HWI 6180- 110 from Hazelton Wisconsin Inc., Madison, Wisconsin. Sponsor submitted.*

KIRST, H. Y SIDES, G. (1989). New directions for macrolide antibiotics: *pharmacokinetics and clinical efficacy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 33, 1419-1422.*

KIRST, H. A., TOTH, J. E., DEBONO, M., WILLARD, K. E., TRUEDELL, B. A., OTT, J. L., COUNTER, F. T., FELTY-DUCKWORTH, A. M., PEKAREK, R. S. (1988). Synthesis and evaluation of tylosin-related macrolides modified at the aldehyde function(a new series of orally effective antibiotics). *Journal of Medicinal Chemistry, 31, 1631-1641.*

KOJIMA, A., MORIOKA, A., KIJIMA, M., ISHIHARA, K., ASAI, T., FUJISAWA, T., TAMURA, Y., TAKAHASHI T. (2010). Classification and antimicrobial susceptibilities of *Enterococcus* species isolated from apparently healthy food producing animals in Japan. *Zoonoses Public Health 57, 137–141.*

KOLZ, A.C., ONG, S.K. Y MOORMAN, T.B. (2005). Sorption of tylosin onto swine manure. *Chemosphere, 60(2): 284-289.*

KOWALSKI, C., ROLIŃSKI, Z., ZAŃ, R. & WAWRON, W. (2002). Pharmacokinetics of tylosin in broiler chickens. *Polish Journal of Veterinary Sciences, 5, 127-130.*

KOWALSKI, C., POMORSKA, M., (2006). Evaluation of bioequivalence of two tylosin formulations after oral administration in broiler chickens. *Annales Universitatis Mariae Curie 61 (3), 25-29.*

KOWALSKI C., ROLIŃSKI Z., ZAŃ R.. WAWRON, W. (2002). Pharmacokinetics of tylosin in broiler chickens. *Polish Journal of Veterinary Sciences, 5, 127-130.*

KRZYSIEK R, BREBAN M, RAVAUD P, PREJEAN MV, WIJDENES J, ROY C, HENRY YD, BARBEY C, TRAPPE G, DOUGADOS M., DOMINIQUE, E. (2009). Circulating concentration of infliximab

and response to treatment in ankylosing spondylitis: results from a randomized control study. *Arthritis Rheumatoid*, 61:569-76.

KUCERS, A., CROWE, S., GRAYSON, M.L., HOY, J.F. (1997). The use of antibiotics. 5th ed. Oxford: Butterworth Heinemann.

KUNDE, S., PHAM, A., BONCZYK, S., CRUMB, T., DUBA, M., CONRAD, H., CLONEY, D. Y KUGATHASAN, S. (2013). Safety, Tolerability, and Clinical Response After Fecal Transplantation in Children and Young Adults With Ulcerative Colitis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 56(6): 597-601.

KUWABARA, S. (Undated). A study on the effect of a continuous and minute amount of tylosin on human intestinal flora. Unpublished study from the Medical Department, Toho University, Tokyo, Japan. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.141.

LACEY, R.W. (1987). Rarity of tylosin resistance in human pathogenic bacteria. *Unpublished report from the Department of Microbiology, University of Leeds, Leeds, England. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

LACOSTE, E.(2003). Pharmacokinetic study of tylosin in broiler chicken using an aqueous solution (via the intravenous route and oral gavage) and as a feed slurry (via oral gavage). Unpublished GLP study No. T1YAFR0202 from Avogadro, Parc de Génibrat, Fontenilles, France. Sponsor submitted.

LAKRITZ, J., WILSON, W.D., MIHALYI, J.M. (1999). Comparison of microbiologic and high-performance liquid chromatography assays to determine plasma concentrations, pharmacokinetics, and bioavailability of erythromycin base in plasma of foals after intravenous or intragastric administration. *American Journal of Veterinary Research* 60, 414-419.

LEAL, C., CODONY, R., COMPAÑÓ, R., GRANADOS, M., PRAT, M.D. (2001). Determination of macrolide antibiotics by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 910, 285-290.

LEE, CH., STEINER, T., PETROF, E., SMIEJA, M., ROSCOE, D., NEMATALLAH, A., WEESE, J., COLLINS, S., MOAYYEDI, P., CROWTHER, M., ROPELESKI, M., JAYARATNE, P., HIGGINS, D., LI,

Bibliografía

Y., RAU, N. Y KIM, P. (2016). Frozen vs Fresh Fecal Microbiota Transplantation and Clinical Resolution of Diarrhea in Patients With Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Journal of the American Medical Association*, 315(2): 142-149.

LEES, P. Y ALIABADI, F.S. (2002). Rational dosing of antimicrobial drugs; animals versus humans. *International Journal of Antimicrobial Agents* 19, 269-284.

LEITNER, G.C., VOGELSANG, H. (2016). Pharmacological- and non-pharmacological therapeutic approaches in inflammatory bowel disease in adults. *World Journal Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 7:5-20.

LEWICKI, J., FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2006). Tylosin, A review of pharmacokinetics, residues in food animals and analytical methods. *Division of Pharmacology and Toxicology, Department of Preclinical Sciences. Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw Agricultural University Ciszewskiego 8*, 02-787.

LEWICKI, J., REEVES, P.T. AND SWAN, G.E. FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2009). Tylosin. First draft. Addendum to the monograph prepared by the 38th Meeting of the Committee and published in FAO Food and Nutrition Paper 41(4):37.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. (2019). LISTA OMS DE ANTIMICROBIANOS DE IMPORTANCIA CRÍTICA PARA LA MEDICINA HUMANA (LISTA OMS DE AIC). ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. [HTTPS://APPS.WHO.INT/IRIS/HANDLE/10665/325037](https://apps.who.int/iris/handle/10665/325037)

LITTERIO, N.J., CALVINHO, L.F., FLORES, M.M., TARABLA, H.D., BOGGIO, J.C. (2007). Microbiological screening test validation for detection of tylosin excretion in milk of cows with low and high somatic cell counts. *Journal of Veterinary Medicine Series A Physiology, Pathology, Clinical Medicine* 54, 30-35. 142

LOCKE, D., BUSH, M. & CARPENTER, J. (1982). Pharmacokinetics and tissue concentrations of tylosin in selected avian species. *American Journal of Veterinary Research*, 43, 1807-10.

LODE, H., BOECKH, M. SCHABERG, T. BORNER, K., KOEPPE, P. (1993). Pharmacology of macrolides. In: Neu, H.C., Young, L.S., Zinner, S.H., eds. *The new macrolides, azalides and streptogramins*. New York: Marcel Dekker, 61-68.

Bibliografía

LÓPEZ-SANROMÁN, A., RODRÍGUEZ DE SANTIAGO, E., COBO REINOSO, J., DEL CAMPO MORENO, R., FORUNY OLCINA, J., GARCÍA FERNÁNDEZ, S., GARCÍA GARCÍA DE PAREDES, A., AGUILERA CASTRO, L., FERRE ARACIL, C. Y ALBILLOS MARTÍNEZ, A. (2017). Resultados de la implementación de un programa multidisciplinar de trasplante de microbiota fecal por colonoscopia para el tratamiento de la infección recurrente por *Clostridium difficile*. *Gastroenterología y Hepatología*, 40(9): 605-614.

LORIA, G.R. SAMMARTINO, C., NICHOLAS, R.A.J., AYLING, R.D. (2003). In vitro susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma agalactiae* to oxytetracycline, tylosin, enrofloxacin, spiramycin and lincomycin–spectinomycin. *Research in Veterinary Science* 75, 3–7.

LOVMAR, M., NILSSON, K., LUKK, E., VIMBER, V., TENSON, T., EHRENBERG, M. (2009). Erythromycin resistance by L4/L22 mutations and resistance masking by drug efflux pump deficiency. *The EMBO Journal* 28(6), 736-744.

MADGWICK, L., MAYER, S., KEEN, P. (1989). Penetration of antibiotics into bovine neutrophils and their activity against intracellular *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 24 (5), 709-718.

MADSEN, A. Y MORTENSEN, H.P. (1986). Large quantities of tylosin in the feedstuff for swine during the last two weeks before slaughter. National Institute of Animal Science, Denmark. Announcement No. 623.

MAHMOUDI A., DE DRANCIA, S., BOUKHECHEM, M.S., PIRRO, E.. (2016). Quantification of three Macrolide Antibiotics in Pharmaceutical lots by HPLC: Development, Validation and Application to a simultaneous Separation. *British Journal of Pharmacy*, 1, 63-73.

MALIN, B. Y SILLIKER, J.H. (1966). Low level tylosin and the emergence of antibiotic-resistant bacteria in humans. Abstract, American Society of Microbiology 6th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Philadelphia, PA, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

MANCHO, C., SAINZ, A., GARCÍA-SANCHO M., VILLAESCUSA, A., TESOURO, M.A., RODRÍGUEZ-FRANCO, F. (2010). Detection of Perinuclear Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies and Antinuclear Antibodies in the Diagnosis of Canine Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 22(4): 553-558.

MANICOURT, D.H., POILVACHE, P., EGEREN, A., VAN DEVOGELAER, J.P., LENZ, M.E, THONAR, E.J. (2000). Synovial fluid levels of tumor necrosis factor α and oncostatin M correlate with levels of markers of the degradation of crosslinked collagen and cartilage aggrecan in rheumatoid arthritis but not in osteoarthritis. *Arthritis Rheumatoid*, 43:281.

MANICOURT, D.H., TRIKI, R., FUKUDA, K., DEVOGELAER, J.P., NAGANT, DE DEUXCHAISNES, C., THONAR, E.J. (1993). Levels of circulating tumor necrosis factor α and interleukin-6 in patients with rheumatoid arthritis. Relationship to serum levels of hyaluronan and antigenic keratan sulfate. *Arthritis Rheumatoid*, 36:490-9.

MARCHESI, M.C., TIMPANO, C.C., BUSECHIAN, S., PIERAMATI, C., RUECA, F. (2017). The role of diet in managing inflammatory bowel disease affected dogs: A retrospective cohort study on 76 cases. *Veterinaria Italiana*, 53(4): 297-302.

MARTH, J.L., BURNETT, T.J., KIEHL, D.E., DA, D.H., FOSSLER, S.C. (2000). ^{14}C -tylosin metabolism and residue decline in laying hens administered medicated drinking water: part 2 of 2: analysis and characterization of radioactive residues in tissues and excreta. Unpublished GLP study No. T1Y729901 from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Sponsor submitted. 143.

MARTÍN DE LA FUENTE, A.J., TUCKER, J., NAVAS, A.W., BLANCO, M., MORRIS, S.J. , GUTIERREZ-MARTÍN, C.B. (2007). Antimicrobial susceptibility patterns of *Haemophilus parasuis* from pigs in the United Kingdom and Spain. *Veterinary Microbiology* 120, 184–191.

MASER, E.A., VILLELA, R., SILVERBERG, M.S., GREENBERG, G.R. (2006). Association of trough serum infliximab to clinical outcome after scheduled maintenance treatment for Crohn's disease. *Clinical Gastroenterology & Hepatology*, 4:1248-54.

MASIERO, F., SILVEIRA, R.O., SADANÃ, P., COULAUD, E., SILVA, I., DE CARVALHO, R.M., FARIA, F.C. (2012). Antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* isolated from piglets with or without diarrhea in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 43(3), 1030-1033.

Bibliografía

MATSUBARA, H., INOKOSHI, J., NAKAGAWA, A., TANAKA, H., OMURA, S. (1983). Chemical modification of tylosin: synthesis of amino derivatives at C-20 position of tylosin and demycarosyltylosin. *Journal of Antibiotics (Tokyo)* 36, 1713- 1721.

MATSUOKA, T. Y JOHNSON, W.S. (Undated a). Injection site and tissue residue in cattle following injection of tylosin. Experiment No. 659-G112-272. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co.

MATSUOKA, T. Y JOHNSON, W.S.. (Undated b). Injection site and tissue residue in cattle following injection of tylosin. Experiment No. 659-G112-295. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co.

MATSUOKA, T. Y JOHNSON, W.S. (Undated c). Injection site and tissue residue in cattle following injection of tylosin. Experiment No. 659-G112-281. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co.

MÁTTAR, S., MARTÍNEZ, P., PUERTA, H. (2007) Terapéutica antibacteriana y principales mecanismos de resistencia. Cap. 5. Familia de los macrólidos y ketólidos. Universidad de Córdoba, Montería, Colombia, pp. 132-141.

McFARLAND, J.W., BERGER, C.M., FROSHAUER, S.A., HAYASHI, S.F., HECKER, S.J., JAYNES, B.H., JEFSON, M.R., KAMICKER, B.J., LIPINSKI, C.A., LUNDY, K.M., REESE, C.P., AND VU, C.B. (1997). Quantitative structure-activity relationships among macrolide antibacterial agents: in vitro and in vivo potency against *Pasteurella multocida*. *Journal Medicine Chemistry*, 40; 1340-1346.

MCGUIRE, J.M., BONIECE, W.S., HIG-GINS, C.E., HOEHN, M.M., STARK, W.M., WEST-HEAD, J. & WOLFE, R.N., (1961). Tylosin, a new antibiotic: I. Microbiological studies. *Antibiotics and Chemotherapy* 11, 320-327.

MENSA, J., GARCÍA, E. & VILA, J. (2003). Macrólidos, cetólidos y estreptograminas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 21 (4), 200-208.

MEJÍA RANGEL L.S. (2008). Validación de la técnica para la cuantificación de tilosina en un producto sólido. *Tesis Microbiología Industrial, Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Bogotá D.C.*

Bibliografía

MEISSNER, H.C., GROOTHUIS, J.R., RODRIGUEZ, W.J., WELLIVER, R.C., HOGG, G., GRAY, P.H., LOH, R., SIMOES, E.A., SLY, P., MILLER, A.K., NICHOLS, A.I., JORKASKY, D.K., EVERITT, D.E., THOMPSON, A.K. (1999). Safety and pharmacokinetics of an intramuscular monoclonal antibody (SB 209763) against respiratory syncytial virus (RSV) in infants and young children at risk for severe RSV disease. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 43:1183-8.

MERCK (1976). The Merck Index. Merck and Co., Inc., (9 ed.) Rahway, New York.

MICHAELIS, K.C. (1990). The effect of tylosin on the induction of forward mutation at the thymidine kinase locus of L5178Y mouse lymphoma cells. Unpublished studies Nos 891011MLT3279, 891017MLA3279 and 891114MLA3279 from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

MICHEL, C., BERNARDET, J.F., DANIEL, P., CHILMONCZYK, S., URDACI, M.C., DE KINKELIN, P. (2002). Clinical and aetiological aspects of a summer enteritic syndrome associated with the sporulating segmented filamentous bacterium “*Candidatus arthromitus*” in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 25, 533–543.

MINAMOTO, Y., DHANANI, N., MARKEL, M., STEINER, J. Y SUCHODOLSKI, J. (2014). Prevalence of *Clostridium perfringens*, *Clostridium perfringens* enterotoxin and dysbiosis in fecal samples of dogs with diarrhea. *Veterinary Microbiology*, 174(3-4): 463-473.

MODRIC, S., WEBB, A.I., DERENDORF, H. (1998). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tilmicosin in sheep and cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 21, 444-452.

MORAN, J.W., COLEMAN, M.R., THOMPSON, T.D., COCHRANE, R.L. (1990a). The determination of tylosin residue in tissues following administration of Tylan 200 by intramuscular injection to weaned calves. Experiment No. T1Z709002. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co. 145.

MORAN, J.W., COLEMAN, M.R., THOMPSON, T.D., COCHRANE, R.L. (1990b). The determination of tylosin residue in tissues following administration of Tylan soluble in

Bibliografía

drinking water to broiler chickens. Experiment No. T1Y709002. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co.

MORAN, J.W., COLEMAN, M.R., THOMPSON, T.D., COCHRANE, R.L. (1990c). The determination of tylosin residue in tissues following administration of Tylan premix to broiler chickens. Experiment No. T1X709002. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co.

MORAN, J.W., COLEMAN, M.R., THOMPSON, T.D., COCHRANE, R.L. (1990d). The determination of tylosin residue in tissues following administration of Tylan 200 by intramuscular injection to growing pigs. Experiment No. T1Z709001. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co.

MORAN, J.W., COLEMAN, M.R., THOMPSON, T.D., COCHRANE, R.L. (1990e). The determination of tylosin residue in tissues following administration of Tylan soluble in drinking water of growing pigs. Experiment No. T1Y709001. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co.

MORAN, J.W., COLEMAN, M.R., THOMPSON, T.D., COCHRANE, R.L. (1990f). The determination of tylosin residue in tissues following administration of Tylan premix in growing ration to pigs. Experiment No. T1X709001. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co.

MORI, S. (2007). A relationship between pharmacokinetics (PK) and the efficacy of infliximab for patients with rheumatoid arthritis: characterization of infliximab-resistant cases and PK-based modified therapy. *Modern Rheumatology*. 17(2):83-91.

MOROI, R., ENDO, K., KINOCHI, Y., SHIGA, H., KAKUTA, Y., KUROHA, M., KANAZAWA, Y., SHIMODAIRA, Y., HORIUCHI, T., TAKAHASHI, S., SHIMOSEGAWA, T. (2013). FCGR3A-158 polymorphism influences the biological response to infliximab in Crohn's disease through affecting the ADCC activity. *Immunogenetics*, 65:265-71.

MORTON, D.M. (1988). Tylan products. Expert report on toxicological documentation. Unpublished report from Lilly Research Laboratories. Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health. Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA. 146.

MOULD, D.R. (2015). The Pharmacokinetics of Biologics: A Primer. *Digestive disease*, 33(1): 61-69.

MÜLLER, C., MURAWSKI, N., WIESEN, M.H.J., HELD, G., POESCHEL, V., ZEYNALOVA, S., WENGER, M., NICKENIG, C., PETER, N., LENGFELDER, E., METZNER, B., RIXECKER, T., ZWICK, C., PFREUNDSCHUH, M., REISER, M. (2012). The role of sex and weight on rituximab clearance and serum elimination half-life in elderly patients with DLBCL. *Blood*, 119:3276-84.

MULLEMAN, D., CHU MIOW LIN, D., DUCOURAU, E., EMOND, P., TERNANT, D., MAGDELAINE-BEUZELIN, C., VALAT, J.P., PAINAUD, G., GOUPILLE, P. TROUGH. (2010). Infliximab concentrations predict efficacy and sustained control of disease activity in rheumatoid arthritis. *The Drug Monitoring*, 32:232-6.

MURAKAWA, T., SAKAMOTO, H., HIROSE, T., NISHIDA, M. (1980). New *in vitro* kinetic model for evaluating bactericidal efficacy of antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 18, 377-381.

MURRAY, B.E. (1998). Diversity among multidrug-resistant enterococci. *Emerging Infectious Disease Journal* 4, 37-44.

NARANDJA, A., KELNERIĆ, Z., KOLACNY-BABIĆ, L., DJOKIĆ, S. (1995). 10,11,12,13-Tetrahydro derivatives of tylosin. II. Synthesis, antibacterial activity and tissue of 4'-deoxy-10,11,12,13-tetrahydrodesmycosin. *Journal of Antibiotics* (Tokyo) 48, 248-253.

NEGLISKI, D.S., DOWNS, O.S. (1985). The acute oral, dermal, ocular and inhalation toxicity of Tylan Soluble. Unpublished studies Nos R-0-367-79, R-0-368-79, B-D-94-79, B-E-90-79 and R-H-40-79 from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

NEU, H.C. (1991). The development of macrolides: Clarithromycin in perspective. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 27, 1-9.

Bibliografía

NIETO ESCRIBANO, I., ARÁNZASU M.C., ARES LOMBÁN, I. (2015). Farmacocinética y depleción de los residuos de tilosina en truchas (*Oncorhynchus mykiss*). *Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid*.

NOUWS, J.F.M., ZIV, G. (1977a). The persistence of antibiotic residues at the intramuscular injection site of dairy cows. *Reference Veterinary* 34, 131-135.

NOUWS, J.F.M., ZIV, G. (1977b). Tissue distribution and residues of tylosin in normal and emergency-slaughtered dairy cows and calves. *Archiv fur Lebensmittelhygiene* 28, 92-94.

NOUWS, J.F.M., ZIV, G. (1979). Distribution and residues of macrolide antibiotics in normal dairy cows. *Archiv fur Lebensmittelhygiene* 30, 202-208. NOUWS, J.F.M., ZIV, G. (1980). Distribution and residues of macrolide antibiotic in normal dairy cows. *Archiv fur Lebensmittelhygiene* 30, 202-208.

OIE, World Organisation for Animal Health. (2007). OIE list of antimicrobials of veterinary importance. Retrieved June, 2010, 147.

PAESEN, J., CYPERS, W., BUSSON, R., ROETS, E., HOOGMARTENS. (1995). Isolation of decomposition products of tylosin using liquid chromatography. *Journal of chromatography A*, 699, 1-2: 99-106.

PAESEN, J., CYPERS, W., PAUWELS, E., ROETS, J., HOOGMARTENS, J. (1995a). Study of the stability of tylosin A in aqueous solutions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 13, 1153-1159.

PAESEN, J., CLAEYS, P., CYPERS, W., ROETS, J., HOOGMARTENS, J. (1995b). Liquid chromatography of tylosin A and related substances on poly(styrene-divinylbenzene). *Journal of Chromatography A* 699, 93-97.

PARKER, R.M., PATEL, R.K.P., MCLAREN, I.M., FRANCIS, P.G. (1994). Residues of tilmicosin in milk of sheep after subcutaneous administration. *Proceeding of the European association for Veterinary Pharmacology and Toxicology, 6th International Congress. Edinburgh, U.K.*, 226-227.

Bibliografía

- PASSOT, C., MULLEMAN, D., BEJAN-ANGOULVANT, T., AUBOURG, A., WILLOT, S., LECOMTE, T., PICON, L., GOUPILLE, P., PAINTAUD, G., TERNANT, D., (2016). The underlying inflammatory chronic disease influences infliximab pharmacokinetics. *MABS*, 8(7):1407–1416.
- PEREIRA, G.Q., GOMES, L.A., SANTOS, I.S., ALFIERI, A.F., WEESE, J.S., COSTA, M.C. (2018). Fecal microbiota transplantation in puppies with canine parvovirus infection. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(2):707-711.
- PFISTER, P., JENNI, S., POEHLGAARD, J., THOMAS, A., DOUTHWAITE, S., BAN, N., BÖTTGER, E.C. (2004). The structural basis of macrolide-ribosome binding assessed using mutagenesis of 23S rRNA positions 2058 and 2059. *Journal of Molecular Biology* 342 (5), 1569-1581.
- PINN, D., ARONIADIS, O. Y BRANDT, L. (2014). Is fecal microbiota transplantation (FMT) an effective treatment for patients with functional gastrointestinal disorders (FGID)?. *Neurogastroenterology & Motility*, 27(1): 19-29.
- PINN, D., ARONIADIS, O. Y BRANDT, L. (2014). Is Fecal Microbiota Transplantation the Answer for Irritable Bowel Syndrome? A Single-Center Experience. *The American Journal of Gastroenterology*, 109(11): 1831-1832.
- PINTO, L., STRECK, A., GONÇALVES, K., SOUZA, C., CORBELLINI, Â., CORBELLINI, L. Y CANAL, C. (2012). Typing of canine parvovirus strains circulating in Brazil between 2008 and 2010. *Virus Research*, 165(1): 29-33.
- PLUMB, D.C. (ED.) (2002). *Veterinary Drug Handbook* (4th edition), Iowa State Press a Blackwell Publishing Company, Iowa, USA.
- POST, K.W., COLE, N.A., RALEIGH, R.H. (1991). In vitro antimicrobial susceptibility of *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida* recovered from cattle with bovine respiratory disease complex. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 3, 124-126.
- POST, K.W. Y SONGER, J.G. (2004). Antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolated from neonatal pigs with enteritis. *Anaerobe* 10, 47–50.

Bibliografía

- POULSE, S.M., KOFOED, C. Y VESTER, B. (2000). Inhibition of the ribosomal peptidyl transferase reaction by the mycarose moiety of the antibiotics carbomycin, spiramycin and tylosin. *Journal of Molecular Biology*. 304, 471-481. 148.
- PRATS, C., EL KORCHI, G., FRANCESCH, R., ARBOIX, M. AND PÉREZ, B. 2002. Disposition kinetics of tylosin administered intravenously and intramuscularly to pigs. *Research in Veterinary Science*, 73(2): 141–144.
- PRATS, C., FRANCESCH, R., ARBOIX, M., PÉREZ, B. (2002). Determination of tylosin residues in different animal tissues by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 766(1): 57-65.
- PRESCOTT, J.F. (2008). History of antimicrobial usage in agriculture: an overview. In: *Guide to antimicrobial use in animals*. Guardabassi, L., Jensen, L.B. and Kruse, H. Oxford, U.K., Blackwell Publishing Ltd, 19-28.
- PRESCOTT, J.F. Y BAGGOT, J.D. (Eds) (1991). Lincosamides y macrolides. In: *Therapeutica antimicrobiana Veterinaria*. Acribia, S.L., Zaragoza, España, pp. 181-212.
- PRESCOTT, J.F. Y BAGGOT, J.D.(Eds) (1993). *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. 2nd Ed. Ames: Iowa State University Press, Iowa, USA.
- PRIDMORE, A. (2006). Non-clinical laboratory study: Activity of tylosin against bacterial strains representing the normal human intestinal microbiota: Determination of minimum inhibitory concentration (MIC). Unpublished study No. 039/05 from Don Whitley Scientific Limited, Shipley, West Yorkshire, England. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.
- QUARLES, J.P. (1983). Acute comparative intravenous toxicity testing of tylosin, desmicosin and macrocin in the ICR mouse. Unpublished studies No. M-V-46-83, MV- 45-83 y M-V-44-83 from the Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

Bibliografía

RADI, A.M. (2016). Pharmacokinetics and bioavailability of tylvalosin after oral, intramuscular and intravenous administration in turkeys. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8 (1): 141-144.

RAHMAN, M.U., STRUSBERG, I., GEUSENS, P., BERMAN, A., YOCUM, D., BAKER, D., WAGNER, C., HAN, J., WESTHOVENS, R. (2007). Double-blinded infliximab dose escalation in patients with rheumatoid arthritis. *Annals Rheumatoid Diseases*. 66:1233-8.

RAJILIĆ–STOJANOVIĆ, M., BIAGI, E., HEILIG, H., KAJANDER, K., KEKKONEN, R., TIMS, S. Y DE VOS, W. (2011). Global and Deep Molecular Analysis of Microbiota Signatures in Fecal Samples From Patients With Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology*, 141(5):1792-1801.

REGLAMENTO (CEE) nº 2377/90 del CONSEJO, de 26 de junio de 1990, por el que se establece un procedimiento comunitario de fijación de los límites máximos de 149 residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal. *Diario Oficial de la Comunidad Europea* L 224, de 18 de agosto de 1990.

REGLAMENTO (UE) nº 37/2010 de la Comisión de 22 de diciembre de 2009 relativo a las sustancias farmacológicamente activas y su clasificación por lo que se refiere a los límites máximos de residuos en los productos alimenticios de origen animal. *Diario Oficial de la Unión Europea* L 015, de 20 de enero de 2009.

REICH, K., NESTLE, F.O., PAPP, K., ORTONNE, J.P., EVANS, R., GUZZO, C., LI, S, DOOLEY, L.T., GRIFFITHS, C.E. (2005). Infliximab induction and maintenance therapy for moderate-to-severe psoriasis: a phase III, multicentre, doubleblind trial. *Lancet*, 366:1367-74.

RETSEMA, J. Y FU, W. (2001). Macrolides: structures and microbial targets. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 18, 3-10.

RICHARDS, E.A. Y BERKMAN, R.N. (1960). Tylosin residues in eggs. Experiment No. VPR-87-418. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co.

RICHARDS, E.A. Y BERKMAN, R.N (undated). LD50 determination for tylosin phosphate in chickens. Unpublished study No. VPR-116-418 from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly

and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

RICHARDS, E.A. Y BERKMAN, R.N., Y Rosebrock, D.W. (Undated). Tylosin residue studies in turkeys. Experiment No. VPR-101-418. Unpublished report, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to FAO by Eli Lilly and Co.

ROBERTS, M.C. (2008). Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes. *FEMS Microbiology Letters* 282(2), 147-159.

ROBERTS, M.C., SUTCLIFFE, J., COURVALIN, P., JENSEN, L.B., ROOD, J. Y SEPPALA, H. (1999). Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamidestreptogramin B resistance determinants. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43, 2823-2830.

ROBERTS, G., CERNIGLIA, C. & PALERMO, J. (2009). Tylosin. In: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. *WHO Food Additives, Series*, 61, 183-211. 150.

ROLDÁN VILLALOBOS, W.O. (2018). Inmunomoduladores en dermatitis atópica canina. *Referencias para consultorio MV, pequeños animales*. 50:27-32.

RUTGEERTS, P., VAN ASSCHE, G., VERMEIRE, S. (2006). Review article: Infliximab therapy for inflammatory bowel disease – seven years on. *Alimentary pharmacology therapeutic*, 23, 451–463.

ROSS, M.H., BRAS, G. Y RAGBEER, M.S. (1970). Influence of protein and caloric intake upon spontaneous tumor incidence of the anterior pituitary gland of the rat. *Journal of Nutrition*, 100, 177–189.

SAGGIORATO, M., PRADELLA, G., SCANDURRA, S., BACCHIN, C., FERRO, T., AGNOLETTI, F. (2008). Tylosin MIC distribution from clinical isolates of *Clostridium perfringens* in France, Italy and Spain. *9th World Rabbit Congress – Verona – Italy* 6:10-13. Pathology and Hygiene, 1071-1074.

SANA SHADDAD, A.I., SAMIA HASSAN, A.A., ELTAYEB, I.B., OMER, M.A., NOUR, A.O.M., AL-NAZAWI, M.H., HOMEIDA, A.M. (2007). Pharmacokinetics of Tylosin in Desert Sheep after Intramuscular Injection. *Research Journal of Pharmacology*, 1: 19-22.

Bibliografía

- SANZ, F. (2000). La gastroenteritis de la trucha. *Trouw Informa Spring*, 16–18.
- SARTI, M., CERVELLIONE, F., GIUSTO, C., MANZANO, M., PECCHINI, A., LUZZANA, U. (2008). Intestinal microflora modulation as a strategy for the control of rainbow trout gastroenteritis (RTGE). In: XV Convegno Nazionale della Societa` Italiana di Patologia Ittica. Erice, Italy, 25.
- SAURIT, A.R., RUBIO, M., BARONI, E., SAN ANDRÉS, M., SÁNCHEZ, S., BOGGIO, J.C. (2002). Some comparative aspects of the pharmacokinetics of tylosin in buffaloes and cattles. *Veterinary Research Communications*, 26: 49-54.
- SAUTER, R.A., CORBET, H.T. Y BAILERY, R.W. (1962). Blood level studies in the bovine, equine and porcine species with tylosin, a new antibiotic. *Veterinary Medicine* 57, 982-986.
- SCALLON, B., CAI, A., SOLOWSKI, N., ROSENBERG, A., SONG, X.Y., SHEALY, D., WAGNER, C. (2002). Binding and functional comparisons of two types of tumor necrosis factor antagonists. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 301:418-26.
- SCHALM, O.W. Y JASPER, O.E. (1971). Mastitis. In *Bovine Medicine Surgery*. Edited by Gibbons, W.J., Catcott, E.J. and Smithcors. J.F. Wheaton, Illinois: American Veterinary Publications, Inc, 718-724.
- SCHENTAG, J.J. (1989). Clinical significance of antibiotic tissue penetration. *Clinical Pharmacokinetics* 16(Suppl. 1), 25-31.
- SCHENTAG, J.J. (2000) Clinical pharmacology of the fluoroquinolones: studies in human dynamic/kinetic models. *Clinical Infectious Diseases* 31(Suppl. 2), S40-44.
- SCHWARZ, S., SILLEY, P., SIMJEE, S., WOODFORD, N., VAN DUIJKEREN, E., JOHNSON, A.P., GAASTRA, W. (2010). Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *Veterinary Microbiology*, 24;141 (1-2), 1-4. 151.
- SERAL, C., VAN BAMBEKE, F., TULKENS, P.M. (2003). Quantitative analysis of gentamicin, azithromycin, telithromycin, ciprofloxacin, moxifloxacin, and oritavancin (LY333328)

activities against intracellular *Staphylococcus aureus* in mouse J774 macrophages. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(7): 2283-2292.

SHAIN, C.S. Y AMSDEN, G.W. (2002). Telithromycin: the first of the ketolides. *The Annals of Pharmacotherapy Journal* 36 (3), 452-464.

SHANAHAN, F. Y QUIGLEY, E. (2014). Manipulation of the Microbiota for Treatment of IBS and IBD—Challenges and Controversies. *Gastroenterology*, 146(6): 1554-1563.

SHIN, D., KIM, Y., KIM, Y.S., KOËRNICKE, T., FUHR, R. (2015). A Randomized, Phase I Pharmacokinetic Study Comparing SB2 and Infliximab Reference Product (Remicade) in Healthy Subjects. *Biodrugs*, 29:381–388.

SHIN, D. KIM, Y., KIM, Y, KOËRNICKE, T., FUHR, R. (2015). A Randomized, Phase I Pharmacokinetic Study Comparing SB2 and Infliximab Reference Product (Remicade) in Healthy. *BioDrugs*, 29:381–388.

SHIOMI, K. Y OMURA, S. (2002). Discovery of new macrolides. In: Macrolide Antibiotics. S. Omura (Ed.), 2nd Edition. Academic Press, Amsterdam, pp 1-56.

SIECK, R.F., GRAPER, L.K., GIERA, D. D., HERBERG, R.J., HAMILL, R.L. (1978a). 14C tylosin tissue residue study in swine. Unpublished Report dated November 1978 from Agricultural Biochemistry, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to WHO by Lilly Research Centre Ltd., Windlesham, Surrey, England.

SIECK, R.F., GRAPER, L.K., GIERA, D. D., HERBERG, R.J., HAMILL, R.L. (1978b). Metabolism of tylosin in swine and rat. Unpublished Report dated November 1978 from Agricultural Biochemistry, Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indiana. Submitted to WHO by Lilly Research Centre Ltd., Windlesham, Surrey, England.

SIMIAN, D., QUIJADA, M.I., LUBASCHER, J., ACUÑA, R., QUERA, R., (2013). Rol de infliximab en enfermedad inflamatoria intestinal. Experiencia local. Treatment of inflammatory bowel disease with infliximab: Experience in 25 patients. *Revista Médica de Chile*, 141: 1158-1165.

SIUGZDAITE, J., GABINAITIENE, A., KERZIENE, S. (2012). Susceptibility of *Mycoplasma bovis* field isolates to antimicrobial agents. *Veterinari Medicina* 57 (11), 575–582.

Bibliografía

- SOUZA, C.P., ROSYCHUK, R.A.W., CONTRERAS, E.T., SCHISLER, J.R., SIMPSON, A.C. (2018). A retrospective analysis of the use of lokivetmab in the management of allergic pruritus in a referral population of 135 dogs in the western USA. *Veterinary Dermatology*, 29: 489–e164.
- SPIBEY, N., GREENWOOD, N., SUTTON, D., CHALMERS, W. Y TARPEY, I. (2008). Canine parvovirus type 2 vaccine protects against virulent challenge with type 2c virus. *Veterinary Microbiology*, 128(1-2): 48-55.
- ST CLAIR, E.W., WAGNER, C.L., FASANMADE, A.A., WANG, B., SCHAIBLE, T., KAVANAUGH, A., KEYSTONE, E.C. (2002). The relationship of serum infliximab concentrations to clinical improvement in rheumatoid arthritis: results from ATTRACT, a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheumatoid*, 46:1451-9.
- STAKENBORG, T., VICCA, J., BUTAYE, P., MAES, D., MINION, F.C., PEETERS, J., DE KRUIF, A., HAESBROUK, F. (2005). Characterization of In Vivo acquired resistance of Mycoplasma hyopneumoniae to macrolides and lincosamides. *Microbial Drug Resistance* 11(3), 290-294.
- STEBLER, T. Y GUENTERT, TW. (1990). Binding of drugs in milk: the role of casein in milk protein binding. *Pharmaceutical Research* 7, 633-637.
- SUCHODOLSKI, J. (2016). Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. *The Veterinary Journal*, 215: 30-37.
- SUMBATYAN, N.V., KORSHUNOVA, G.A. Y BOGDANOV, A.A. (2003). Peptide Derivatives of Antibiotics Tylosin and Desmycosin, Protein Synthesis Inhibitors. *Biochemistry (Moscow)* 68 (10), 1156-1158.
- SUNVOLD, G., FAHEY, G., MERCHEN, N., TITGEMEYER, E., BOURQUIN, L., BAUER, L. Y REINHART, G. (1995). Dietary fiber for dogs: IV. In vitro fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and in vivo digestion and metabolism of fiber-supplemented diets. *Journal of Animal Science*, 73(4): 1099-1109.

Bibliografía

TAHA, A.A., ELSHEIKH, H.A., KHALAFALLA, A.E., OSMAN, I.A.M., SALAM, ABDULLAH A. (1999). Disposition kinetics of tylosin administered intravenously and intramuscularly in desert sheep and Nubian goats. *The Veterinary Journal* 158, 210-215.

TEETER, J.S. & MEYERHOFF, R.D. (2003). Aerobic degradation of tylosin in cattle, chicken, and swine excreta. *Environmental Research* 93, 45-51.

TERASHIMA, H. Y MAEDA, J. (Undated). The effect of tylosin on a fetus and a suckling-young of Wistar strain rat. *Department of Pathology, Osaka City University Medical School, Osaka City, Japan. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.*

TERNANT, D., AUBOURG, A., MAGDELAINE-BEUZELIN, C., DEGENNE, D., WATIER, H., PICON, L., PAINAUD, G. (2008). Infliximab pharmacokinetics in inflammatory bowel disease patients. *Therapeutic Drug Monitoring*, 30:523-9.

TERNANT, D., BEJAN-ANGOULVANT, T., PASSOT, C., MULLEMAN, D., PAINAUD, G.(2015). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies approved to treat rheumatoid arthritis. *Clinical Pharmacokinetics*, 54:1107-23.

TERNANT, D., BERKANE, Z., PICON, L., GOUILLEUX-GRUART, V., COLOMBEL, J.F., ALLEZ, M., LOUIS, E., PAINAUD, G. (2015). Assessment of the influence of inflammation and FCGR3A Genotype on Infliximab pharmacokinetics and time to relapse in patients with Crohn's disease. *Clinical Pharmacokinetics*. 54:551-62

TERNANT, D., DUCOURAU, E., PERDRIGER, A., CORONDAN, A. LE GOFF, B., DEVAUCHELLE-PENSEC, V., SOLAU-GERVAIS, E., WATIER, H., GOUPILLE, P., PAINAUD, G., MULLEMAN, D. (2014). Relationship between inflammation and infliximab pharmacokinetics in rheumatoid arthritis. *British Journal Clinical Pharmacology*, 2014; 78:118-28.

TERNANT, D., MULLEMAN, D, DEGENNE, D., WILLOT, S., GUILLAUMIN, J.M, WATIER, H., GOUPILLE, P., PAINAUD, G. (2006). An enzyme-linked immunosorbent assay for therapeutic drug monitoring of infliximab. *Therapeutic Drug Monitoring*, 28:169-74.

TERNANT D, MULLEMAN D, LAUFERON F, VIGNAULT C, DUCOURAU E, WENDLING D, GOUPILLE P, PAINAUD G. (2012). Influence of methotrexate on infliximab pharmacokinetics and

pharmacodynamics in ankylosing spondylitis. *British Journal Clinical Pharmacology*, 73:55-65.

TERNANT ,D., PAINTAUD, G., TRACHTMAN, H., GIPSON, D.S., JOY, M.S. (2016). A possible influence of age on absorption and elimination of adalimumab in focal segmental glomerulosclerosis (FSGS). *European Journal Clinical Pharmacology*, 72(2):253-5.

THOMAS, S.S., BORAZAN, N., BARROSO, N., DUAN, L., TAROUMIAN, S., KRETZMANN, B., BARDALES, R., ELASHOFF, D., VANGALA, S., FURST, D.E. (2015). Comparative immunogenicity of TNF inhibitors: Impact on clinical efficacy and tolerability in the management of autoimmune diseases. A systematic review and meta-analysis. *Bio Drugs*, 29:241-58.

THOMSON, T.D. (Undated a). Relative bioavailability of TYLAN 200 injection administered subcutaneously and intramuscularly in young calves. Unpublished Report T1Z768106 from Lilly Research Laboratories, Animal Science Div., Greenfield, Indiana. Submitted to WHO under 893/IJB200/FAANIM/AM/1-6 by Lilly Research Centre, Windlesham, Surrey, England.

TINDALL, B. (ED). (1991). VETERINARY APPLIED PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS. 5TH EDITION. LONDON, UK.

TOUTAIN, P.L., DEL CASTILLO, J.R., BOUSQUET-MELO, A. (2002). THE PHARMACOKINETIC-PHARMACODYNAMIC APPROACH TO A RATIONAL DOSAGE REGIMEN FOR ANTIBIOTICS. *RESEARCH IN VETERINARY SCIENCE* 73, 105-114.

TRASVASSOS, W.J., CHEIFETZ, A.S., (2005). Infliximab: Use in inflammatory bowel disease. *Current Treatment Options in Gastroenterology*, 8: 187-196.

TRINH, H.T., BILLINGTON, S.J., FIELD, A.C., SONGER, J.G., JOST, B.H. (2002). Susceptibility of *Arcanobacterium pyogenes* from different sources to tetracycline, macrolide and lincosamide antimicrobial agents. *Veterinary Microbiology* 85 (4), 353– 359. 153.

TROLLDENIER, H. (1980). Antibióticos en medicina veterinaria. *Editorial Acribia*. Zaragoza. España.

Bibliografía

TSUBURA, Y., TOYOSHIMA, K., SANO, S., NISHI, Y., TANI, M. (Undated). Effect of tylosin on mouse breeding. Unpublished study from Second Department of Pathology, Nara Medical College, Kashihara, Japan. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

TSUCHIKAWA, K. Y AKABORIL, A. (Undated). On the teratogenicity of tylosin. Unpublished study from National Institute of Genetics, Shizuoka, Japan. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

UEMURA, R., SUEYOSHI, M., NAGATOMO, H. (2010). Antimicrobial susceptibilities of four species of Mycoplasma isolated in 2008 and 2009 from cattle in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* 72 (12), 1661–1663.

URDADI, M.C., REGNAULT, B., GRIMONT, P.A.D. (2001). Identification by in situ hybridization of segmented filamentous bacteria in the intestine of diarrheic rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Research in Microbiology* 152, 67–73.

USLEBER, E., STRAKA, M., MÄRTLBAUER, E. (1997). Determination of tylosin in milk by reversed-phase liquid chromatography. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 48, 75-76.

VAN DEN BEMT, B.J.F., DEN BROEDER, A.A., WOLBINK, G.J., HEKSTER, Y.A., VAN RIEL, P., BENRAAD, B., VAN DEN HOOGEN, F.H.J. (2011). Anti-infliximab antibodies are already detectable in most patients with rheumatoid arthritis halfway through an infusion cycle: an open-label pharmacokinetic cohort study. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 12:12.

VAN DEN BEMT, B.J., DEN BROEDER, A.A., WOLBINK, G.J., VAN DEN MAAS, A., HEKSTER, Y.A., VAN RIEL, P.L., BENRAAD, H.B., VAN DEN HOOGEN, F.H. (2013). The combined use of disease activity and infliximab serum trough concentrations for early prediction of (non-)response to infliximab in rheumatoid arthritis. *British Journal Clinical Pharmacology*. 76:939-45.

VAN DUYN, R.L. (Undated). Tylosin serum and lung tissue concentrations following intramuscular administration of swine. Unpublished study No. 766-G125-81 from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Sponsor submitted.

Bibliografía

VAN DUYN, R.L., Y FOLKERTS, T.M. (1979). Concentrations of tylosin in blood and lung tissue from calves given single and repeated daily intramuscular doses. *Veterinary Medicine Small Animal Clinic* 74, 375-377.

VAN DUYN, R.L., Y JOHNSON, W.S. (Undated). Tylosin levels in serum and lung tissue from swine injected intramuscularly once with tylosin. Unpublished study No. 766-G125-72 from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Sponsor submitted. 154.

VAN DUYN, R.L., Y KLINE, R.M. (Undated-a). Tylocine Injection intramuscular canine blood levels. Unpublished Pharmacology study No. VPR-199-766 from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Sponsor submitted.

VAN DUYN, R.L., Y KLINE, R.M. (Undated-b). Additional studies on the pharmacology and toxicology of Tylocine ® Injection in dogs and cats. Unpublished pharmacology study from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Sponsor submitted.

VAN DUYN, R.L., Y KLINE, R.M. (Undated-c) Tylosin minigranule oral blood levels in swine. Pharmacological experiment VPR-275-766 submitted to WHO under 893/G/FBLDLV/AM/1-2 by Lilly Research Centre, Windlesham, Surrey, England.

VAN DUYN, R.L., Y KLINE, R.M. (Undated-d) Additional studies on the pharmacology and toxicology of Tylocine® Injection in dogs and cats. Unpublished study from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

VAN DUYN, R.L., KLINE, R.M., Y RUSSELL, E. (Undated). Tylocine ® intramuscular canine blood levels. Unpublished pharmacology study No. VPR-139-766 from Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Sponsor submitted.

VAN KRUIJNINGEN, H.J. (1978). Canine histiocytic ulcerative colitis. *The American Journal of Digestive Diseases*, 23(6): 569-71.

VAN LEEUWEN, F.X.R. (1991). Tylosin. In: Toxicological Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues in Food. Thirty-eight meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on

Bibliografía

Food Additives (JECFA), WHO Food Additives, Series 29, International Programme on Chemical Safety, 139-163.

VAN NOOD, E., VRIEZE, A., NIEUWDORP, M., FUENTES, S., ZOETENDAL, E., DE VOS, W., VISSER, C., KUIJPER, E., BARTELSMAN, J., TIJSSEN, J., SPEELMAN, P., DIJKGRAAF, M. Y KELLER, J. (2013). Duodenal Infusion of Donor Feces for Recurrent *Clostridium difficile*. *New England Journal of Medicine*, 368(5): 407-415.

VANDE CASTEELE, N., FERRANTE, M., VAN ASSCHE, G., BALLEET, V., COMPERNOLLE, G., VAN STEEN, K., SIMOENS, S., RUTGEERTS, P., GILS, A., (2015). Vermeire S. Trough concentrations of infliximab guide dosing for patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 148:1320-9.e3.

VANDERSSE, R., THEVENET, L., MARRAUD, M., BOGGETTO, N., REBOUD, M., CORBIER, C. (2003). α -Aminoxy acids as building blocks for the oxime and hydroxylamine pseudopeptide links. Application to the synthesis of human elastase inhibitors. *Journal of Peptide Science* 9, 282- 299. 155.

VEIEN, N.K., HATTEL, T., JUSTESEN, O., NORHOLM, A. (1980). Occupational contact dermatitis due to spiramycin and/or tylosin among farmers. *Contact Dermatitis*, 6, 410–413.

VERBOV, J. (1983). Tylosin dermatitis. *Contact Dermatitis*, 9, 325–326.

VESTER, B. Y S. DOUTHWAITE. (2001). Macrolide resistance conferred by base substitutions in 23S rRNA. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45(1): 1-12.

WAGNER, J.G. (Ed.) (1975). Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics. Drug Intelligence Publications, Hamilton, Illinois.

WAGNER, J.G. (1976). Linear pharmacokinetics equations allowing direct calculation of many needed pharmacokinetic parameters from the coefficients and exponents of polyexponential equations which have been fitted to the data. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmacy* 4(5), 443-467.

Bibliografía

- WANG, J., LEUNG, D. Y BUTTERWORTH, F. (2005). Determination of five macrolide antibiotic residues in eggs using liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 1857-1865.
- WANG, S., YANG, Y., ZHAO, Y., ZHAO, H., BAI, J., CHEN, J., ZHOU, Y., WANG, C., LI, Y., (2016). Sub-MIC Tylosin Inhibits *Streptococcus suis* Biofilm Formation and Result sin Differential Protein Expression. *Frontiers in Mircobiology*, 7: 384.
- WANG, W., WANG, E.Q., BALTHASAR, J.P. (2008). Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clinical Pharmacology Therapy*, 84(5):548-58.
- WEESE, J.S., COSTA, M.C., WEBB, J.A. (2013). Preliminary Clinical and microbiome assessment of stool transplantation in the dog and cat. Proceedings of the 2013 ACVIM Forum. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 27: 705.
- WEINGARDEN, A., GONZÁLEZ, A., VÁZQUEZ-BAEZA, Y., WEISS, S., HUMPHRY, G., BERG-LYONS, D., KNIGHTS, D., UNNO, T., BOBR, A., KANG, J., KHORUTS, A., KNIGHT, R. Y SADOWSKY, M. (2015). Dynamic changes in short- and long-term bacterial composition following fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Microbiome*, 3: 10.
- WEISEL, J. POWERS, J.D., POWERS, T.E., BAGGOT, J.D. (1977). A pharmacokinetic analysis of tylosin in the normal dog. *American Journal of Veterinary Research*, 38(2):273-5.
- WESTERMARCK, E., SKRZYPCZAK, T., HARMOINEN, J., STEINER, J.M., RUAUX, C.G., WILLIAMS, D.A ., EEROLA, E., SUNDBA"CK, P., RINKINEN, M. (2005). Tylosin-Responsive Chronic Diarrhea in Dogs. *Journal Veterinary Internal Medicine*. 19:177–186.
- WESTERMARCK, E., FRIAS, R., SKRZYPCZAK, T. (2005). Effect of Diet and Tylosin on Chronic Diarrhea in Beagles. *Journal Veterinary Internal Medicine*, 19:822–827.
- WHALEY, H.A., PATTERSON, E.L., DORNBUSH, A.C., BACKUS, E.J., & BOHONOS, N. (1963). Isolation and characterization of relomycin, a new antibiotic. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 161, 45-48.
- WHO, World Health Organization. (1999). Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives, Series 29.

WHO, World Health Organization. (2007). Critically Important Antimicrobials for Human Medicine: Categorization for the Development of Risk Management Strategies to contain Antimicrobial Resistance due to Non-Human Antimicrobial Use Report of 156 the Second WHO Expert Meeting Copenhagen, 29–31 May 2007. Retrieved June, 2010, from www.who.int/entity/foodborne_disease/resistance/antimicrobials_human.pdf.

WILLIAMS, J., SEFTON, A. (1993). Comparison of macrolide antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 31, suppl C, 11-26.

WILSON, R.C. (1984). Macrolides in veterinary medicine. In: *Macrolide Antibiotics. Chemistry, Biology, and Practice. 1st edition. Omura S. (Ed.), 1st Edition, Academic Press Inc., Amsterdam, 301-347*

WOLBINK, G.J., VOSKUYL, A.E., LEMS, W.F., DE GROOT, E., NURMOHAMED, M.T., TAK, P.P., DIJKMANS, B.A., AARDEN, L. (2005). Relationship between serum trough infliximab levels, pretreatment C reactive protein levels, and clinical response to infliximab treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic diseases*, 64:704-7.

WILLIAMS, J., SEFTON, A. (1993). COMPARISON OF MACROLIDE ANTIBIOTICS. *JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY* 31, SUPPL C, 11-26.

XIONG, Y.Q. Y LE, T.P. (2001). Telithromycin (HMR 3647): The first ketolide antibiotic. *Drugs of Today* 37 (9), 617-628.

XU, M., CAO, H.L., WANG, W.Q., WANG, S., CAO, X.C., YAN, F. Y WANG, B.M. (2015). Fecal microbiota transplantation broadening its application beyond intestinal disorders. *World Journal of Gastroenterology*, 21(1):102-111.

XU, Z., SEITZ, K., FASANMADE, A., FORD, J., WILLIAMSON, P., XU, W., DAVIS, H.M., ZHOU, H.J., (2008). Population pharmacokinetics of infliximab in patients with ankylosing spondylitis. *Clinical Pharmacology*, 48(6):681-95.

YAMAOKA, F., NAKAGAWA, T., UNO, T. (1978). Application of Akaike's Information Criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 6(2), 165-75.

Bibliografía

- YAO, J., Y MOELLERING, C.J. (2007). Antibacterial agents. In: *Manual of Clinical Microbiology*. Murray, P.R., Baron, E., Jorgensen, J.H., Landry, M. and Pfaller. M. (Eds.) Washington, D.C., USA, ASM Press, pp. 1077-1113.
- YOSHIDA, M., HOSHII, H., YONEZAWA, S., NAKAMURA, H., YAMAOKA, R. (1973). Residue of dietary tylosin in blood, muscle and liver of growing chicks. *Journal of Poultry Science* 10, 23-28.
- YOSHIMURA, H., ISHIMARU, M., ENDOH, Y.S., KOJIMA, A. (2000). Antimicrobial susceptibilities of enterococci isolated from faeces of broiler and layer chickens. *Letters in Applied Microbiology* 31, 427-432.
- YOUNGSTER, I., RUSSELL, G., PINDAR, C., ZIV-BARAN, T., SAUK, J. Y HOHMANN, E.L. (2014). Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* Infection. *Journal of the American Medical Association*, 312(17): 1772-1778.
- YOUNGSTER, I., SAUK, J., PINDAR, C., WILSON, R., KAPLAN, J., SMITH, M., ALM, E., GEVERS, D., RUSSELL, G. Y HOHMANN, E. (2014). Fecal Microbiota Transplant for Relapsing *Clostridium difficile* Infection Using a Frozen Inoculum From Unrelated Donors: A Randomized, Open-Label, Controlled Pilot Study. *Clinical Infectious Diseases*, 58(11): 1515-1522.
- ZATSEPIN, T.S., STETSENKO, D.A., ARZUMANOV , A.A., ROMANOVA, E.A., GAIT, M.J., ORETSKAYA, T.S. (2002). Synthesis of peptide-oligonucleotide conjugates with single and multiple peptides attached to 2'-aldehydes through thiazolidine, oxime, and hydrazine linkages. *Bioconjugate Chemistry* 13, 822-830.
- ZHAO, P.W., JIANG, W.G., WANG, L, JIANG, Z.Y., SHAN, Y.X, JIANG, Y.F. (2014). Plasma levels of IL-37 and correlation with TNF- α , IL-17A, and disease activity during DMARD treatment of rheumatoid arthritis. *PLoS One*, 9(5):e95346.
- ZHANEL, G.G., DUEK, M., HOBAN, D.J., VERCAIGNE, L.M., EMBIL, J.M., GIN, A.S., KARLOWSKY, J.A. (2001). Review of macrolides and ketolides. Focus on respiratory tract infections. *Drugs* 61, 443- 498. 157.

Bibliografía

ZHANG, F.M., WANG, H.G., WANG, M., CUI, B.T., FAN, Z.N, Ji, G.Z. (2013). Fecal microbiota transplantation for severe enterocolonic fistulizing Crohn's disease. *World Journal of Gastroenterology*, 19: 7213-7216.

ZIV, G. (1980). PRELIMINARY CLINICAL PHARMACOLOGICAL INVESTIGATIONS OF TYLOSIN AND TIAMULIN IN CHICKENS. *VETERINARY QUARTERLY* 2, 206-210.

ZIV, G., CREVELD, C.V., BEN-ZVI, Z., GLICKMAN, A., YAGIL, R. (1995). Disposition kinetics of tylosin tartrate administered intravenously and intramuscularly to normal and water-deprived camels. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 18, 299-305.

ZIV, G., Y RISENBERG, R (1991). Oral bioequivalence studies of two tylosin products in broilers and layers. *Praktische Tierarzt* 72, 860-863.

ZIV, G., Y SULMAN F.G. (1972). Binding of antibiotics to bovine and ovine serum. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2, 206-213.

ZIV, G., SULMAN, F.G. (1973). SERUM AND MILK CONCENTRATIONS OF SPECTINOMYCIN AND TYLOSIN IN COWS AND EWES. *American Journal of Veterinary Research*, 34, 329-333.

ZIV, G., Y SULMAN F.G. (1973a). Penetration of lincomycin and clindamycin into milk in ewes. *British Veterinary Journal* 129, 83-91.

ZIV, G., Y SULMAN F.G. (1973b). Serum and milk concentrations of spectinomycin and tylosin in cows and ewes. *American Journal of Veterinary Research* 34, 329-333.

ABREVIATURAS

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS:

- AIC**: Criterio de información de AKAIKE.
- C.V.:** Coeficiente de variación.
- n**: número de datos analizados.
- N.S.:** Nivel de significación.
- P**: Probabilidad.
- R²**: Coeficiente de correlación.
- RSD**: Desviación estándar de medidas repetidas.
- S.D.:** Desviación estándar.
- S.E.:** Error estándar.

PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS

- AUC**: Área bajo la curva, calculada según métodos no compartimentales.
- Cl**: Aclaramiento plasmático calculado en función del área bajo la curva.
- C_{máx}**: Concentración periférica máxima (administración intravenosa), concentración plasmática máxima (administración intramuscular).
- F**: Biodisponibilidad.
- k_a**: Constante aparente de absorción.
- k₁₀**: Constante de eliminación.
- k₁₂**: Constante de transferencia al compartimento periférico.
- k₂₁**: Constante de retorno desde el compartimento periférico.
- λ₁**: Constante híbrida de disposición rápida.
- λ₂**: Constante híbrida de disposición lenta.
- MAT**: Tiempo medio de absorción.
- MRT**: Tiempo medio de residencia.
- t_{máx}**: Tiempo en el que se alcanza la concentración periférica máxima (administración intravenosa), tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima (administración intramuscular y subcutánea).
- t_{1/2}**: Semivida, tiempo de vida media o vida media del fármaco.
- t_{1/2ka}**: Semivida aparente de absorción.
- t_{1/2λ1}**: Semivida de la fase de disposición rápida.

- $t_{1/2\lambda_z}$: Semivida de la fase disposición lenta.
- V_c : Volumen de distribución aparente en el compartimento central.
- V_p : Volumen de distribución aparente en el compartimento periférico.
- V_{ss} : Volumen de distribución aparente en estado estacionario.
- V_z : Volumen de distribución aparente en función del área bajo la curva.
- W_i : es el factor de ponderación.

OTRAS:

- ARD**: diarrea que responde a antibióticos.
- **CD o EC**: enfermedad de Crohn.
- CDI**: *Clostridium difficile*.
- CMI**: Concentración mínima inhibitoria.
- EPA**: Efecto postantibiótico.
- g**: Constante gravitatoria (980 cm/s²).
- HPLC**: Cromatografía líquida de alta resolución.
- IBD, IIF o EII**: Enfermedad intestinal inflamatoria.
- Ig**: Inmunoglobulina/s.
- JAK**: Janus quinasa.
- LOQ**: Límite de cuantificación.
- LOD**: Límite de detección.
- NAC**: Neumonía adquirida en comunidad o extrahospitalaria.
- IM**: Intramuscular.
- IV**: Intravenosa.
- p.o.**: por vía oral.
- PK-PD**: Integración Farmacocinética-Farmacodinámica.
- PRC**: Proteína C reactiva.
- SC**: Subcutánea.
- SII**: Síndrome de intestino irritable.
- SNC**: Sistema Nervioso Central.
- spp.**: especies.
- TMF**: Trasplante de microbiota fecal.
- TRD**: diarrea con respuesta a tilosina.
- UC**: colitis ulcerosa gravemente activa

Bibliografía