

**Distribuzione polmonare della Tilmicosina (Pulmotil AC-Elanco)
nei conigli dopo somministrazione orale**

**Lucatello L.¹, Gallina G.¹, Drigo I.², Cocchi M.², Scandurra S.³,
Agnoletti F.², Montesissa C.¹**

¹Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria,
Università di Padova, Italy

²Istituto Zooprofilattico delle Venezie, Treviso, Italy

³Eli Lilly Italia S.p.A., Italy

Corresponding Author: Lucatello Lorena, Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Università di Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italy - Tel. +39 0498272946 - Email: lorena.lucatello@unipd.it

ABSTRACT: Pulmonary disposition study of tilmicosin (Pulmotil AC, Elanco) after repeat oral bolus administration to rabbits. Two groups of four non-infected New Zealand rabbits, received tilmicosin (TIM) by oral gavage at 12.5 mg/Kg of body weight, daily, for 2 and 5 consecutive days, respectively, while three groups of four rabbits received the same dose of TIM for 7 days. Two hours after the last dose, all rabbits from groups treated for 2, 5 and 7 days were sacrificed. Other two groups treated for seven days were sacrificed during the 1st day and the 3rd day of withdrawal. At each time of sacrifice, plasma samples, alveolar macrophages (PAM) obtained by bronchoalveolar lavage and lung tissue were collected from each animal. TIM concentrations in PAM were calculated based on the macrophage cell volume. Mean tilmicosin concentrations in lung tissue and PAM were high in TIM-treated animals, already at the second day of treatment, exceeding concurrent plasma levels by 7 and 400-fold, respectively. Among the different days of sacrifice, the highest concentrations were found at the 3rd day-treated animals. TIM concentrations declined in plasma and lung tissue to significantly lower level already at the first day of withdrawal, while PAM concentrations remained high also after three days of withdrawal. In conclusion, after daily dosing TIM showed prominent accumulation in lung tissue and PAM, already from the second day, with by far lower concentrations in plasma, as expected for a macrolide compound.

Key words: Tilmicosin, Alveolar macrophages.

INTRODUZIONE – La tilmicosina (TIM) è un antibiotico semisintetico della classe dei macrolidi il cui uso è consentito in veterinaria negli animali da produzione per combattere le infezioni respiratorie (Clark *et al.*, 2004). La tilmicosina infatti, presenta in vitro attività contro diversi batteri gram-negativi associati alle malattie respiratorie come *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Mannheimia haemolytica*, e inoltre contro i micoplasmi. Gli studi clinici effettuati sui suinetti e vitelli hanno confermato la buona efficacia del trattamento per via orale con TIM contro i patogeni polmonari e la sua capacità di modulare il processo infiammatorio riducendo i mediatori dell'infiammazione nel polmone. Tale effetto è collegato alla capacità dei macrofagi alveolari (MA) di accumulare la TIM a livello intracellulare a concentrazioni più elevate rispetto a quelle sieriche per effetto di un fenomeno ion trap

dovuto a forti differenze di pH tra siero e ambiente intracellulare del macrofago (Groll *et al.*, 2006; Conte *et al.*, 1995; Baldwin *et al.*, 1990).

Tali studi sono stati pertanto effettuati allo scopo di verificare l'idoneità della somministrazione orale nel coniglio di una specialità medicinale a base di tilmicosina (Pulmotil AC, Elanco).

Scopo dello studio è valutare l'entità della distribuzione polmonare (tessuto polmonare e macrofagi alveolari) della tilmicosina e verificare l'adeguatezza della posologia adottata tramite il confronto delle concentrazioni raggiunte nel polmone, nei macrofagi alveolari e nel plasma con i valori delle MIC dei principali ceppi patogeni.

MATERIALI E METODI – 12 conigli New Zealand (suddivisi in 3 gruppi da 4 animali ciascuno) sono stati trattati giornalmente per via orale per 2, 5 e 7 giorni con una dose unica di TIM (Pulmotil AC, Elanco) pari a 12.5 mg/Kg. La distribuzione della tilmicosina nel plasma, nei macrofagi alveolari (prelevati tramite lavaggio bronco alveolare) e nel polmone è stata studiata negli animali sacrificati dopo 2h l'ultimo trattamento. Altri due gruppi di conigli sono stati trattati con la stessa dose di TIM per 7 giorni e sacrificati dopo 1 e 3 giorni dalla sospensione del trattamento per il prelievo dei tessuti.

L'analisi quali-quantitativa della TIM nel polmone, nel plasma e nei macrofagi alveolari è avvenuta tramite estrazione dell'analita con solvente organico, purificazione degli estratti mediante estrazione in fase solida (SPE con cartucce STRATA-X, Phenomenex), separazione cromatografica con eluizione a gradiente (colonna ZORBAX ECLIPSE PLUS C18, flusso 1 mL/min) e rilevazione mediante rivelatore UV_VIS selezionato a 287 nm.

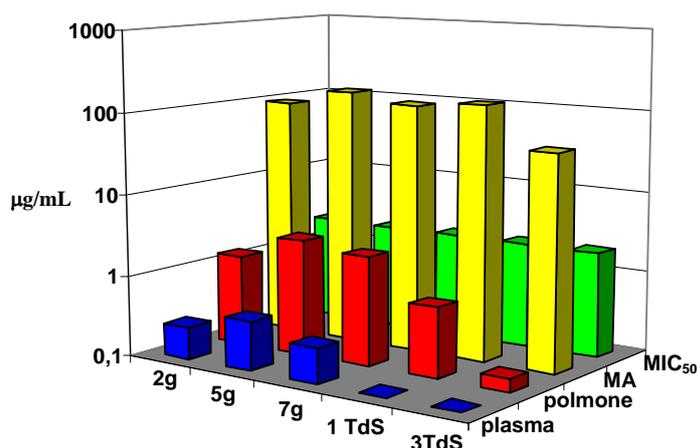
RISULTATI E CONCLUSIONI – I risultati ottenuti nel presente studio dimostrano che dopo 24h dal trattamento, la concentrazione media di TIM nel plasma è al di sotto del limite di quantificazione (LOQ) del metodo analitico (0,06 µg/mL) mentre nel polmone e nei MA le concentrazioni restano elevate per tempi più lunghi (Tabella 1). Lo studio di distribuzione rivela infatti che le concentrazioni di TIM presenti nei polmoni e nei MA, a parità di giorni di trattamento, sono pari a circa 7 e 400 volte quelle plasmatiche.

Il presente studio conferma pertanto la capacità della tilmicosina di concentrarsi preferibilmente nel tessuto polmonare (Fedrizzi *et al.*, 2008) e nei macrofagi alveolari e di mantenere livelli al di sopra delle MIC anche dopo 2 giorni dal termine del trattamento (Figura 1). Sono così verificate l'adeguatezza della dose e del periodo di trattamento scelto (12,5 mg/Kg per 7 giorni), in presenza di infezioni respiratorie provocate da patogeni sensibili al farmaco e con MIC ≤ 2 µg/ml (Baselgal *et al.*, 2006).

Tabella 1 – Concentrazioni medie ($\mu\text{g/mL}$) di tilmicosina nel plasma, nel polmone e nei macrofagi alveolari (MA) con relativi valori di deviazione standard (DS) dopo 2, 5, 7 giorni di trattamento (2g, 5g, 7g) e dopo 1 e 3 giorni dalla sospensione del trattamento (1Tds, 3Tds).

	plasma ($\mu\text{g/ml}$)	DS	polmone ($\mu\text{g/ml}$)	DS	MA ($\mu\text{g/ml}$)	DS
2g	0,249	0,034	1,293	0,467	93,867	32,330
5g	0,402	0,091	2,686	0,732	147,025	77,021
7g	0,269	0,031	2,181	0,807	115,174	69,586
1tds	0,053	0,037	0,733	0,145	136,584	62,215
3tds	0,095	0,081	0,146	0,092	43,884	12,967

Figura 1 – Istogramma in scala logaritmica delle concentrazioni medie ($\mu\text{g/mL}$) di tilmicosina nel plasma, nel polmone e nei macrofagi alveolari (MA) dopo 2, 5, 7 giorni di trattamento (2g, 5g, 7g) e dopo 1 e 3 giorni dalla sospensione del trattamento (1Tds, 3Tds). In verde è rappresentato il valore di MIC_{50} registrato per le linee più sensibili di *Pasteurella multocida* = 2.00 $\mu\text{g/ml}$.



BIBLIOGRAFIA –

Baldwin, D.R., Honeybourne, D., Wise, R., 1990. Azithromycin concentrations at the sites of pulmonary infection. *Eur. Respir. J.* 3:886-890. **Baselgal**, J.M., 2006. Internal Study T5CRSP0602, Elanco. **Clark**, C., Woodbury, M., Dowling, P., Ross, S., Boison, J. O., 2004. A preliminary investigation of the disposition of tilmicosin residues in elk tissues and serum. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 27: 385-387. **Conte**, J.R., Golden, J.A., Duncan, S., McKenna, E., Zurlinden, E., 1995. Intrapulmonary pharmacokinetics of clarithromycin and of erythromycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:334-338. **Fedrizzi**, G., Accurso, D., Scandurra, S., Montesissa, C., 2008. Kinetic of tilmicosin after per os administration to rabbits. In: Proc. 4th AAVM Conference, Prague. **Groll**, A.H., Lyman, C.A., Petraitis, V., Petraitiene, R., Armstrong, D., Mickiene, D., Alfaro, R.M., Schaufele, R.L., Tin Sein, Bacher, J., Walsh, T.J., 2006. Compartmentalized intrapulmonary Pharmacokinetics of Amphotericin B and its lipid formulation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50:561-568.