

VIII JORNADA DE DIFUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN – FCV-UNL

RESUMEN EXTENDIDO

Interacción de diclofenac y flunixin en el comportamiento farmacocinético de enrofloxacin en terneros lactantes

Urzúa N¹, Messina M.J¹, Errecalde M.E¹, Prieto G¹, Lüders C², Errecalde C¹

¹Farmacología, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina

²Departamento de Ciencias Veterinarias, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Chile

* Correspondencia: Errecalde C, E-mail: cerrecalde@ayv.unrc.edu.ar.

Editado por: R. Sobrero, C. Baravalle y V. Matiller

RESUMEN

Se estudió la interacción de los antiinflamatorios diclofenac y flunixin sobre el comportamiento farmacocinético de enrofloxacin y su metabolito activo, ciprofloxacina en terneros. El grupo control (n=10) recibió 5 mg/kg de enrofloxacin por vía intramuscular. Dos semanas después se repitió el tratamiento y terneros del grupo A (n=5) recibieron 2.2 mg/kg de flunixin mientras el grupo B (n=5) 1 mg/kg de diclofenac, 2 semanas después se intercambiaron los tratamientos. En distintos tiempos post aplicación se obtuvieron muestras de sangre heparinizada. El plasma fue tratado con agua, una solución homogeneizadora y difloxacina como estándar interno. El conjunto se centrifugó y 50 µL del sobrenadante se inyectaron para cuantificar enrofloxacin y ciprofloxacina por HPLC acoplado a detector de fluorescencia a 295 nm de excitación y 490 nm de emisión. Las concentraciones plasmáticas vs tiempo por animal se analizaron por el programa PK Solution 2.0. La aplicación intramuscular de enrofloxacin demuestra rápida absorción y moderada permanencia plasmática. Diclofenac aumenta significativamente el C_{máx} y el área bajo la curva mientras flunixin no afecta la cinética de enrofloxacin y la co-administración de enrofloxacin con flunixin o diclofenac modifica la transformación de enrofloxacin a ciprofloxacina, resultados que pueden influenciar el diseño terapéutico.

Palabras clave: enrofloxacin, diclofenac, flunixin, interacción, farmacocinética

INTERACTION OF DICLOFENAC AND FLUNIXIN ON THE PHARMACOKINETIC PROFILE OF ENROFLOXACIN IN LACTATING CALVES.

SUMMARY

The interaction of the anti-inflammatory drugs diclofenac and flunixin on the pharmacokinetic behavior of enrofloxacin and its active metabolite, ciprofloxacin, was studied in calves. Control group (n=10) received 5 mg/kg of enrofloxacin intramuscularly. Two weeks later the treatment was repeated and calves from group A (n=5) received 2.2 mg/kg of flunixin while group B (n=5) 1 mg/kg of diclofenac, 2 weeks later the treatments were exchanged. Heparinized blood samples were obtained at different times after application. Plasma was treated with water, homogenizing solution, and difloxacin as an internal standard. The whole was centrifuged and 50 µL of the supernatant was injected to quantify enrofloxacin and ciprofloxacin by HPLC coupled to a fluorescence detector at 295 nm excitation and 490 nm emission. Plasma concentrations vs. time of enrofloxacin and ciprofloxacin per animal were analyzed by the PK Solution 2.0 program. Intramuscular application of enrofloxacin shows rapid absorption and moderate plasma permanence. Diclofenac significantly increases C_{máx} and area under the curve, while flunixin does not affect enrofloxacin kinetics. Enrofloxacin with flunixin or diclofenac co-administration modifies enrofloxacin into ciprofloxacin transformation, results that may influence the therapeutic design.

Keywords: enrofloxacin, diclofenac, flunixin, interaction, pharmacokinetic

Las fluoroquinolonas son antimicrobianos sintéticos provistos de moderada liposolubilidad, escasa afinidad por proteínas plasmáticas y carácter anfótero, determinantes de la disposición tisular (Čonkova et al, 2009; Gupta et al., 2012; Papich, 2018). Enrofloxacin, un antimicrobiano del grupo aprobado exclusivamente para uso veterinario, exhibe amplio espectro de actividad antibacteriana y se utiliza en el tratamiento de septicemias, infecciones de tracto respiratorio, tracto urinario, piel, tejidos blandos, huesos y articulaciones, etc (Trouchon y Lefebvre, 2016).

Las asociaciones entre antiinflamatorios no esteroidales (Aines) con antimicrobianos son frecuentes en las infecciones respiratorias, predominantes en los terneros, por la mejor resolución de los cuadros clínicos y menor tiempo de recuperación del animal (Lekeux y Art, 198; Papich, 2018).

Algunos antiinflamatorios no esteroidales ampliamente utilizados en animales domésticos como ketoprofen, diclofenac y flunixin meglumine demostraron efectos sobre el perfil cinético de fluoroquinolonas en búfalos y en vacas (Varma et al., 2006; Abo-EL-Sooud y Al-Anati, 2011; Baroni et al., 2011), debido que se desconoce si pueden interactuar en terneros lactantes, se realizó este estudio con los objetivos de determinar la interacción de dos AINEs de uso habitual en terneros como diclofenac y flunixin sobre el comportamiento farmacocinético de enrofloxacin y su metabolito activo, ciprofloxacina.

Como sujetos experimentales se utilizaron 10 terneros lactantes raza Holando argentino, de 40 ± 5 kg de peso, según el protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación de la Universidad Nacional de Río Cuarto (COEDI, expediente 160/2016). El grupo control (n=10), cada animal recibió una dosis única de enrofloxacin de 5 mg/kg aplicada por vía intramuscular. Dos semanas después estos animales conformados en grupo A (n=5) recibieron la misma dosis de enrofloxacin y 2.2 mg/kg de meglumina de flunixin en el músculo semitendinoso derecho, mientras el grupo B (n=5) recibieron la misma dosis enrofloxacin y 1 mg/kg de diclofenac sódico, 2 semanas días después se intercambiaron los tratamientos. En distintos tiempos post aplicación hasta las 24 horas siguientes se obtuvieron muestras sangre en tubos heparinizados que fueron inmediatamente centrifugados y el plasma obtenido se conservó a -20°C hasta su análisis. El tratamiento de las muestras consistió en la adición a 200 μL de plasma a 200 μL de agua deionizada, 750 μL de solución homogeneizadora compuesta por metanol, agua deionizada, ácido fosfórico y ácido perclórico (500:50:10:1 v/v/v/v) y de 40 μL del estándar interno,

difloxacina (Bottcher et al., 2001). El conjunto se sometió 1 minuto a vórtex y luego se centrifugó a 13.000 rpm por 25 minutos a 4°C , 50 μL del sobrenadante se inyectaron para su cuantificación de enrofloxacin y su metabolito, ciprofloxacina, por HPLC acoplado a detector de fluorescencia establecido a 295 nm de excitación y 490 nm de emisión, utilizando fase móvil compuesta por agua, acetonitrilo y trietilamina (79:20:1 v/v/v) a pH 3. Para ambos analitos en estudio se obtuvo una linealidad $r^2=0.999$, una precisión $\text{CV} \leq 3.5\%$, recuperabilidad $\geq 86\%$ y límites de cuantificación para enrofloxacin y ciprofloxacina de 0.001 y 0.002 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. El análisis farmacocinético de enrofloxacin y ciprofloxacina por animal se determinó por el programa farmacocinético no compartimental PK Solution 2.0 y el análisis estadístico realizado entre el grupo control y cada grupo experimental se realizó con ANOVA de una vía y test Mann-Whitney.

Las curvas de disposición plasmáticas promedio versus tiempo de enrofloxacin y ciprofloxacina en plasma en los diferentes grupos se observan en las figuras 1 y 2, respectivamente, mientras que los parámetros farmacocinéticos se indican en la tabla 1.

Los resultados indican que tras la aplicación intramuscular enrofloxacin demuestra rápida absorción y moderada permanencia plasmática, acorde con los antecedentes cinéticos de fluoroquinolonas en animales domésticos (Čonkova et al., 2009; Papich, 2018). No se observa interacción de flunixin sobre los parámetros farmacocinéticos de enrofloxacin lo cual difiere a lo comunicado con marbofloxacina en búfalos (Baroni et al., 2011), mientras que luego de la administración de diclofenac, se incrementan significativamente el $\text{C}_{\text{máx}}$ y el área bajo la curva (ABC) de enrofloxacin ($p<0.05$), similar que lo observado en vacas lecheras (Varma et al., 2006). Además, ambos AINEs estudiados interfieren con la metabolización de enrofloxacin a su metabolito ciprofloxacina, disminuyendo significativamente ($p<0.05$) en ambos grupos estudiados; flunixin reduce un 72% la tasa de transformación de enrofloxacin a ciprofloxacina, mientras que diclofenac sólo en un 50%. En conclusión, la co-administración de enrofloxacin con flunixin o diclofenac interfieren o con la transformación de enrofloxacin a ciprofloxacina o con los parámetros farmacocinéticos, que puede repercutir en un diseño terapéutico, en consecuencia es esencial determinar las posibles interacciones de los AINEs sobre las fluoroquinolonas.

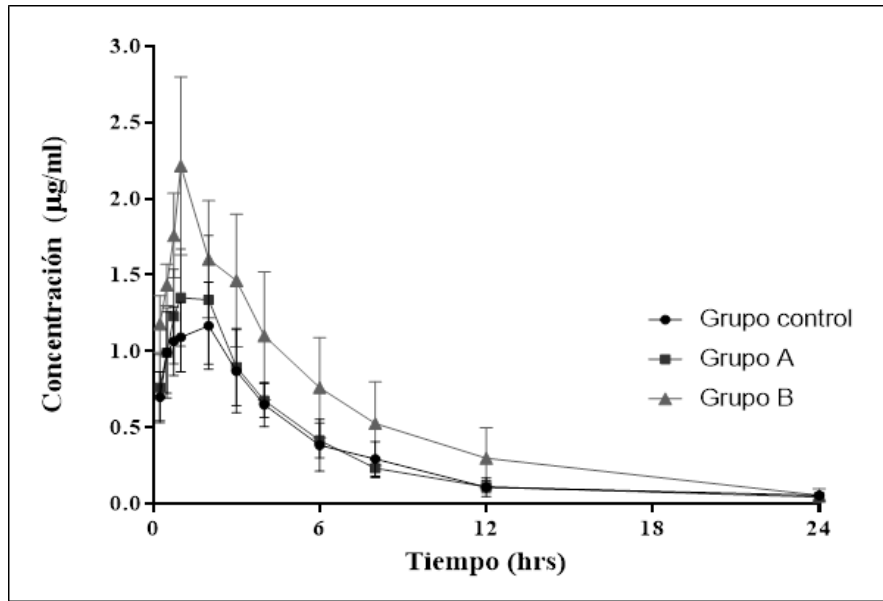


Figura 1. Concentraciones plasmáticas promedio de enrofloxacin (EFX) ($X \pm de$) versus tiempo. Grupo control (EFX), grupo A (EFX+ flunixin) y grupo B (EFX + diclofenac).

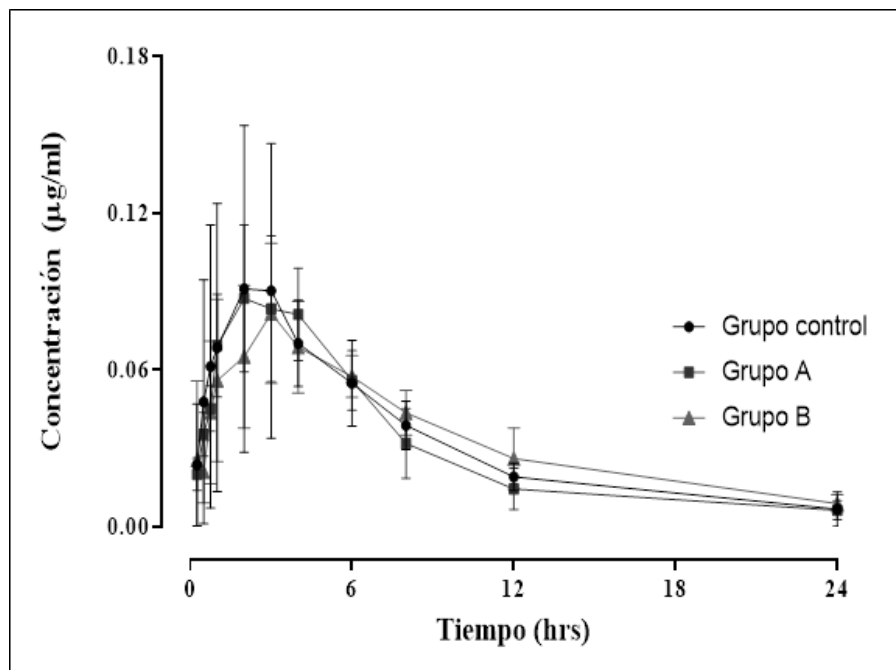


Figura 2. Concentraciones plasmáticas promedio de ciprofloxacin (CFX) ($X \pm DE$) versus tiempo. Grupo control (CFX), grupo A (CFX + flunixin) y grupo B (CFX + diclofenac).

Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos plasmáticos de enrofloxacin (EFX) y su metabolito activo ciprofloxacina (CFX) en terneros lactantes. Grupo control (EFX) Grupo A (EFX + flunixin) y Grupo B (EFX + diclofenac).

| Parámetro | EFX | | | CFX | | |
|---------------------------|---------------|-----------|-------------|---------------|------------|-------------|
| | Grupo control | Grupo A | Grupo B | Grupo control | Grupo A | Grupo B |
| $t_{1/2abs}$ (hs) | 0.6 ± 0.4 | 0.5 ± 0.1 | 0.5 ± 0.5 | - | - | - |
| $t_{1/2\beta}$ (hs) | 5.8 ± 3.5 | 6.9 ± 1.0 | 5.1 ± 2.1 | - | - | - |
| $C_{m\acute{a}x}$ (μg/mL) | 1.1 ± 0.1 | 1.2 ± 0.2 | 2.2 ± 0.5* | 0.1 ± 0.0 | 0.1 ± 0.0 | 0.1 ± 0.0* |
| $T_{m\acute{a}x}$ (hs) | 1.2 ± 0.6 | 1.4 ± 0.8 | 1.5 ± 0.8 | 3.8 ± 0.3 | 3.5 ± 0.5 | 3.3 ± 0.5 |
| ABC (μg-h/mL) | 6.3 ± 0.7 | 8.2 ± 2.1 | 13.5 ± 4.3* | 1.5 ± 0.2 | 1.0 ± 0.6 | 0.9 ± 0.2* |
| TMR (hs) | 7.6 ± 1.5 | 7.5 ± 1.4 | 6.5 ± 1.4 | - | - | - |
| ABC_{CFX}/ABC_{EFX} | - | - | - | 25.1 ± 0.3 | 7.1 ± 0.3* | 12.5 ± 0.9* |

Donde: $t_{1/2abs}$: vida media de absorción; $t_{1/2\beta}$: vida media de eliminación; $C_{m\acute{a}x}$: Concentración máxima; $T_{m\acute{a}x}$: tiempo en que se logra la $C_{m\acute{a}x}$; ABC: área bajo la curva; TMR: tiempo medio de residencia: Porcentaje total de paso de enrofloxacin a ciprofloxacina. (*) Diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Bibliografía

Abo-EL-Sooud K, Al-Anati L 2011. Pharmacokinetic study of flunixin and its interaction with enrofloxacin after intramuscular administration in calves. *Vet World*, 4 (10).

Baroni E, Rubio S, Rodríguez C, De Lucas J, Fernández H, Andrés M, 2011. Pharmacokinetic interactions of marbofloxacin with anti-inflammatory drugs in buffalo calves. *Vet Rec*, 169, 182.

Bottcher S, Baum H, Hoppe-Tychy T, Benz C, Sonntag H, 2001. An HPLC assay and a microbiological assay to determine levofloxacin in soft tissue, bone, bile and serum. *J Pharm Biomed Anal* 25: 197-203.

Čonkova, E, Čellárov Á, Váci P, Savob Á, 2009. Quinolones from the point of view of pharmacology and veterinary indications (a review). *Folia Veterinaria* 53 (4): 175-185.

Gupta R, Sharma K, Sharma R, Gupta D, Sachin T, Yavad B, 2012. A review: pharmacokinetics application of fluoroquinolones. *IJPPR* 3 (2): 650-660.

Lekeux P, Art T, 1988. Effect of enrofloxacin therapy on shipping fever pneumonia in feedlot cattle. *Vet Rec*. 20; 123 (8): 205-208.

Papich M, 2018. Fluoroquinolone antimicrobial drugs. En: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, por J Riviere & M Papich (Ed.), 10th ed, Wiley- Blackwell Publishing, Ames Iowa: 953-987.

Trouchon T, Lefebvre S, 2016. A review of enrofloxacin for veterinary use. *OVJM* 6, 40-45.

Varma R, Ahmad A, Ahuja V, Gautam V, 2006. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacina and their interaction with diclofenac sodium in cows. *Indian J Anim Sci* 76 (1): 6-9.