

REPORTE FINAL DE ESTUDIO (RF)

1. Título

Efectividad y Tolerancia del Antibiótico Inyectable Oxitetraciclina al 30% (Duramycin 300 L.A.) en el tratamiento de neumonías bacterianas de Bovinos de Engorde en crianza intensiva.

2. Número de Ensayo

NN-2006

3. Tipo de Estudio

Trabajo de Investigación

4. Objetivo General

Evaluar la eficacia y tolerancia del antibiótico inyectable Oxitetraciclina clorhidrato 30 mg/mL (Duramycin 300 L.A.) en el tratamiento de neumonías de etiología bacteriana de bovinos de engorde.

5. Investigador(es)

5.1. Investigador Principal

Olga Li Elias, Magister Química Farmacéutica del Laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

5.2. Investigador(es) Colaborador(es)

Arnaldo Alvarado, Médico Veterinario Área de Microbiología Clínica y Pruebas Especiales de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

6. Sponsor

Agrovvet Market S.A.

Dirección: Av. Canadá 3792-3798 San Luis, Lima 30, Perú.

Teléfono: (51) (1) 435 2323

6.1. Equipo de Trabajo

Jose Tang Ploog – Sub Gerente de Investigación y Desarrollo.

7. Lugar de Estudio

El presente estudio se realizó en el Departamento de Lima, Provincia de Lima, localidad de Lurín en el Centro de Engorde “El Paraíso”

8. Antecedentes y Justificación

La neumonía es una enfermedad que varía de subclínica a aguda y fatal. Dependiendo de la severidad de la infección, el daño a los pulmones puede ser temporal o permanente.

La presentación de cuadros neumónicos de diversa etiología en terneros y bovinos adultos es una de los principales problemas que se presentan durante

su crianza, afectando sobre todo al ganado estabulado en el cual ocasionan disminución en la ganancia diaria de peso, falta de desarrollo corporal, riesgo de contagio a otros animales, costo de la medicación de los animales enfermos.

Los principales agentes bacterianos encontrados en los procesos neumónicos de terneros y bovinos adultos son: *Pasteurella multocida* serotipos A y D, *Mannheimia haemolytica* serotipo A1, *Actinomyces pyogenes*, *Streptococcus* spp, *Mycoplasma* spp, *Histophilus somni* (antes *Haemophilus somnus*), *Streptococcus zooepidemicus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella dublin*, entre otros.

Los patógenos bacterianos son la causa aparente del síndrome agudo por la invasión del tracto respiratorio del bovino que ha sido comprometido previamente por infecciones virales. Prediciendo y contribuyendo a la infección tenemos el estrés del destete, el transporte, cambios en la alimentación, cambios de temperatura y la humedad.

A todo esto se añade la exposición a otros patógenos por el contacto con otros animales procedentes de distintas regiones en camiones, corrales de acopio, subastas, ferias regionales, etc., resultando en una incidencia muy alta de la enfermedad tan pronto como los animales son liberados en los corrales. La mayoría de los agentes etiológicos no expresan su virulencia completamente en animales sanos a menos que otros agentes de la enfermedad se involucren activamente.

Para controlar un cuadro neumónico agudo el uso sólo de antibióticos es insuficiente ya que estos destruyen a las bacterias causantes de la neumonía, pero hacen muy poco por controlar los efectos adversos producidos por la infección, como son la fiebre, inflamación y la endotoxemia. Estos efectos adversos pueden ser tan costosos, desde el punto de vista clínico como económico, como la infección propiamente dicha.

Las tetraciclinas son un gran grupo de fármacos con estructura química básica, actividad antimicrobiana y propiedades farmacológicas comunes. Los microorganismos resistentes a este grupo muestran resistencia cruzada amplia a todas las tetraciclinas. A pesar de que pueden establecerse diferencias específicas (origen, estructura química) sus características generales, como mecanismo de acción, espectro, y otras, permite describirlas como un solo grupo.

Su mecanismo de acción se basa en que atraviesan la membrana externa de las bacterias a través de porinas mediante difusión pasiva y llegan al citoplasma gracias a un mecanismo dependiente de energía. Dentro del citoplasma se unen al ribosoma inhibiendo la síntesis de las proteínas. Este efecto se produce evitando la unión del sitio aminoacil del ácido ribonucleico (ARN) de transferencia (aminoacil ARN-transfer) a la subunidad 30S ribosomal. La asociación es reversible, lo cual explicaría su efecto bacteriostático. La ausencia de actividad anticélulas eucariotas da lugar a las propiedades antimicrobianas selectivas de las tetraciclinas.

La resistencia puede ser natural o adquirida y debida a diferentes mecanismos. La disminución en la acumulación intracelular de tetraciclinas por bombeo activo asociado a la membrana (achique o eflujo) es un mecanismo que puede conferir resistencia a las tetraciclinas de forma natural o adquirida en un numeroso grupo de bacterias. Otro mecanismo frecuentemente involucrado en la resistencia adquirida se debe a proteínas de protección ribosomal que permiten actuar al aminoacil ARN-transfer en presencia de concentraciones de antibiótico que normalmente inhibirían la síntesis de éstas. Es posible que determinadas bacterias (como *Propionibacterium* spp.) adquieran resistencia mediante mutaciones en el ARN-ribosomal. También se ha observado, de forma excepcional, resistencia a tetraciclinas mediante inactivación enzimática en algunas bacterias anaerobias, aunque se desconoce si este último mecanismo tiene traducción clínica. Tanto el bombeo activo como la protección de la inhibición del ribosoma son mecanismos de resistencia clínicamente relevantes y ambos suelen estar relacionados con la adquisición de elementos móviles de resistencia.

Existen muchos genes de resistencia a las tetraciclinas y un gran número de ellos se asocia a los elementos móviles sea en forma de plásmidos, trasposones o integrones. En los integrones, junto al gen que confiere la resistencia a tetraciclinas, con frecuencia se encuentran otros genes (gene cassettes) que confieren resistencia a otros antibióticos, por lo que estas cepas multirresistentes pueden ser seleccionadas por las tetraciclinas o por otros antimicrobianos. Los determinantes genéticos implicados en la resistencia a tetraciclinas son los genes tet y otr. En el mecanismo de bombeo activo los genes encontrados pueden ser: tetA, tetB..., otrB, etc. En aquellos con mecanismo de protección de la inhibición del ribosoma podemos encontrar: tetM, tetO..., otrA, etc.

Uno de los más grandes problemas asociados con estos antibióticos ha sido el surgimiento de resistencia por mutación y selección durante la terapia. Los neumococos han ido incrementando la resistencia a las tetraciclinas, aunque ésta está actualmente entre el 5 y el 10 % y hasta el 20 % de resistencia en los *Streptococos* betahemolíticos.

La oxitetraciclina es un antibiótico del grupo de las tetraciclinas. In vitro, son drogas básicamente bacteriostáticas; sin embargo, en grandes concentraciones, son bactericidas frecuentemente. Antibiótico bacteriostático de amplio espectro que ejerce su acción por inhibición de la síntesis proteica impidiendo la relación codón-anticodón bajo la dirección del ácido ribonucléico mensajero. Su obtención es a partir del cultivo de *Streptomyces rimosus*, por procesos de fermentación, a los que con frecuencia se les añaden catalizadores (paladium) ó enzimas. La oxitetraciclina es un agente antimicrobiano eficaz en el tratamiento de una amplia gama de enfermedades causadas por bacterias Gram positivas y Gram –negativas susceptibles a esta. Las tetraciclinas son generalmente bacteriostáticas y una respuesta adecuada del sistema de defensa del hospedero es esencial para su uso exitoso. En altas concentraciones pueden ser encontradas en la orina; se vuelven bactericidas debido a que los microorganismos parecen perder la integridad funcional de la membrana citoplasmática. Las tetraciclinas son más efectivas contra los microorganismos en etapa de multiplicación y tienden a ser más activas a un pH de 6 – 6.5.

La oxitetraciclina es un antibiótico de amplio espectro activo contra una amplia gama de bacterias como: Bacterias aeróbicas y anaeróbicas gram-positivas y gram-negativas, micoplasmas, rickettsias, chlamydias, incluso algunos protozoos. Cadenas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus*, *Serratia*, *Klebsiella* y *Corynebacterium* spp, son frecuentemente resistentes, así como muchas *E.coli* patógenas aisladas. Hay por lo general resistencia cruzada entre las tetraciclinas.

Está indicado cuando se recomienda una acción antibiótica prolongada o cuando por razones prácticas, económicas o veterinarias el manejo frecuente de los animales (y por lo tanto el tratamiento diario o repetido) no es factible. Puede indicarse para el tratamiento de procesos infecciosos o como preventivo en animales que van a ser sometidos a estrés y/o a un alto riesgo de contraer infecciones.

9. Fecha de Estudio y duración

El periodo de evaluación fue de 07 días, desde el 10 al 17 del mes de Julio del Año 2006.

10. Materiales y Métodos

10.1. Diseño experimental

Se escogió una muestra de bovinos con sintomatología clínica de neumonía (Fiebre, decaimiento, anorexia, secreción nasal, tos, etc.) en los cuales se debía identificar si la neumonía era de etiología bacteriana, cual era el género bacteriano involucrado y si éste era sensible al antibiótico Oxitetraciclina.

El muestreo se hizo mediante hisopado nasofaríngeo profundo y puestos frascos de vidrio estériles que contengan 2 mL de medio de transporte Cary-Blair (BBL®). Se mantuvieron refrigeradas por un tiempo no mayor a 24 horas hasta el momento de su procesamiento.

Luego todos estos animales fueron tratados con una solución inyectable sobre la base de Oxitetraciclina clorhidrato 30mg/mL (Duramycin 300 L.A.) recibiendo una dosis individual de 30 mg/Kg de peso vivo, vía intramuscular profunda.

Se evaluó la eficacia del tratamiento de neumonías bacterianas con una sola dosis en el ganado de engorde, causada por agentes sensibles a la Oxitetraciclina, bajo las condiciones de manejo y alimentación cotidianas. Se tomaron las constantes fisiológicas antes, durante y después del tratamiento (ver cuadros adjuntos)

10.2. Tamaño de muestra

Se trabajó con 26 animales, de los cuales sólo 20 entraron al estudio.

10.3. Selección de animales e identificación

Se escogieron bovinos en engorde estabulado que fueron identificados con aretes en orejas, pesados y luego recibieron una aplicación de vacunas contra el Antrax y la Fiebre Aftosa, además de una dosificación con antiparasitarios a base de Ivermectina y fueron inyectados con un anabólico de acción prolongada.

10.4. Manejo de los animales experimentales

Los animales recibieron una dieta especialmente formulada para los fines productivos, y también recibieron agua ad libitum.

10.5. Disposición final de animales

Luego del estudio los animales siguieron con su ciclo productivo normal.

10.6. Tratamiento

El PVI fue una solución inyectable de Oxitetraciclina Clorhidrato 30 mg/mL (Duramycin 300 L.A. - Agroveter Market S.A. Lote N° 0074076 – Fecha de vencimiento: Julio 2009)

10.7. Procedimientos de estudio

Aislamiento e identificación de las bacterias: Para el aislamiento e identificación se utilizaron las pautas recomendadas por el Manual de Bergey's de Bacteriología Sistemática (Orskov 1984). Las muestras fueron sembradas en Placas con Agar Mc Conkey (BBL) y Agar Tripticosa Soya TSA (DIFCO) con 5 % de sangre defibrinada de ovino y Agar Mac Conkey, incubadas en estufa a 37°C por 24 horas hasta lograr desarrollo bacteriano. La identificación se realizó a través de pruebas bioquímicas.

Antibiótico: Se prepararon discos de sensibilidad para los antibiogramas a partir del producto en su presentación comercial, siguiendo las recomendaciones de la metodología de Kirby-Bauer. Comparativamente se usaron otros discos de sensibilidad para realizar el antibiograma.

Test de sensibilidad: Para evaluar la sensibilidad bacteriana se hizo de acuerdo al Método Kirby-Bauer de Difusión con Discos de acuerdo a las pautas recomendadas por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1999)(5).

También se evaluó la tolerancia a la terapia proporcionada por Duramycin 300 L.A., por la vía intramuscular profunda, evaluando si existía algún tipo de reacción adversa, ya sea de tipo local o generalizada, al momento de la aplicación y a 24 y 48 horas.

10.8. Métodos estadísticos

Se evaluó el porcentaje de eficacia del tratamiento en los animales positivos al diagnóstico de neumonía de etiología bacteriana después de 06 días postaplicación de la dosis del antibiótico.

11. Resultados

Después del primer muestreo de los 26 bovinos muestreado se encontraron 20 animales que estaban siendo afectados por neumonías de etiología bacteriana, cuyos aislamientos, la identificación del género bacteriano y su prueba de sensibilidad se presenta en el Cuadro 1.

Después de la aplicación de una dosis de antibiótico de acuerdo al peso del animal, se esperó hasta el 6º día, después del cual se verificó la ausencia de los síntomas de la enfermedad y se tomo una muestra de hisopado nasal para su cultivo en el laboratorio. Los resultados se presentan en el Cuadro 2.

CUADRO 01: BOVINOS POSITIVOS A NEUMONIA BACTERIANA, GÉNERO BACTERIANO AISLADO Y PRUEBA DE SENSIBILIDAD

Nº Id. Bovino	Bacteria Aislada	ANTIBIOTICOS							
		PEN	GEN	DFL	ENR	DUR	CIP	TIL	CEF
01	<i>Actinomyces</i>	19 S	16 S	21 S	20 I	35 S	20 I	20 S	14 R
30	<i>Manheimia</i>	10 R	15 S	28 S	30 S	30 S	30 S	15 I	15 R
32	<i>Haemophilus</i>	30 S	23 S	28 S	27 S	19 S	28 S	24 S	21 S
10 A	<i>Streptococcus</i>	10 R	15 S	30 S	30 S	30 S	30 S	15 I	15 R
15 S	<i>Pasteurella sp</i>	00 R	15 S	36 S	38 S	38 S	38 S	16 I	14 R
19	<i>Pasteurella</i>	24 S	22 S	27 S	28 S	20 S	30 S	00 S	28 S
17	<i>Pasteurella</i>	19 I	17 S	25 S	22 S	30 S	25 S	20 S	13 R
22	<i>Actinomyces</i>	19 I	16 S	21 S	20 I	25 S	20 I	17 S	14 R
24	<i>Streptococcus</i>	19 I	16 S	21 S	18 I	35 S	16 I	20 S	14 R
33	<i>Actinomyces</i>	00 R	14 I	25 S	26 S	19 S	24 S	00 R	22 S
41	<i>Streptococcus</i>	10 R	15 S	25 S	26 S	18 S	25 S	10 R	22 S
47	<i>Pasteurella</i>	00 R	15 S	19 I	18 I	19 S	26 S	00 R	14 R
49	<i>Pasteurella</i>	00 R	15 S	38 S	36 S	28 S	32 S	14 I	39 S
21	<i>Pasteurella</i>	00 R	24 S	30 S	28 S	21 S	28 S	25 S	40 S
31	<i>Streptococcus</i>	00 R	16 S	22 S	23 S	18 S	24 S	16 I	22 S
42	<i>Pasteurella</i>	17 R	16 S	22 S	23 S	22 S	24 S	16 I	22 S
12A	<i>Actinomyces</i>	19 I	16 S	20 I	20 I	25 S	20 I	17 S	14 R
16 S	<i>Streptococcus</i>	10 R	15 S	25 S	25 S	16 I	30 S	15 I	15 R
29	<i>Pasteurella</i>	30 S	23 S	28 S	27 S	21 S	28 S	24 S	21 S
27	<i>Streptococcus</i>	10 R	15 S	33 S	30 S	15 I	30 S	15 I	15 R

PEN: Penicilina 10 UI
 GEN: Gentamicina 10 mcg
 DFL: Difloxacina 5 mcg
 ENR: Enrofloxacina 5 mcg
 DUR: Duramycin LA (Oxitetraciclina) 30 mcg
 CIP: Ciprofloxacina 5 mcg
 TIL: Tilosina 10 mcg
 CEF: Ceftiofur 30 mcg

S: Sensible, I: Intermedio, R: Resistente

CUADRO 02: RESULTADOS DE SEGUNDO MUESTREO A 06 DIAS POST – TRATAMIENTO DE LOS BOVINOS POSITIVOS A NEUMONIA BACTERIANA.

Nº Iden. Bovino	Aislamiento Bacteriano Post-tratamiento	Sintomatología de la Enfermedad	Reacción Adversa al Antibiótico	Condición del Animal
01	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
30	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
32	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
10 A	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
15 S	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
19	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
17	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
22	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
24	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
33	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
41	Streptococcus	Fiebre, Anorexia	Ninguna	Enfermo
47	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
49	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
21	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
31	Streptococcus	Fiebre	Ninguna	Enfermo
42	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
12A	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
16 S	Streptococcus	Secreción Nasal	Ninguna	Enfermo
29	Negativo	Ninguna	Ninguna	Sano
27	Streptococcus	Secreción Nasal	Ninguna	Enfermo

CUADRO 03: RESUMEN DE DATOS SOBRE LOS INDICES EVALUADOS Y PORCENTAJE DE EFECTIVIDAD.

Nº DE ANIMALES POSITIVOS A ETIOLOGIA BACTERIANA	Nº DE BOVINOS POSITIVOS AISLAMIENTO 2do MUESTREO	Nº DE BOVINOS CON SINTOMATOLOGIA 06 DIAS POST-TRATAMIENTO	Nº DE BOVINOS SANOS POST-TRATAMIENTO (6to Día)	EFFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO (%)
20	04	04	16	80

12. Conclusiones

- Estos resultados demostraron alta eficacia de Duramycin 300 L.A. en el tratamiento de neumonías de etiología bacteriana al ser administrado por la vía intramuscular profunda en una sola dosis.
- Los animales tratados en el presente estudio mostraron una rápida recuperación, tanto del cuadro febril como de la secreción nasal.
- Duramycin 300 L.A. posee excelente tolerancia, ya que el 100% de los animales no mostró ningún tipo de reacción adversa al momento de la aplicación.

13. Autores del RF

José Tang Ploog

Médico Veterinario Sub-Gerente de Investigación y Desarrollo de Agrovet Market S.A.

14. Referencias Bibliográficas

1. Oliver C. Schunicht, Calvin W. Booker, P. Timothy Guichon, G.Kee Jim, Brian K. Wildman, Bruce W. Hill, Tracy I. Ward, Stewart W. Bauck. An evaluation of the relative efficacy of a new formulation of oxytetracycline for the treatment of undifferentiated fever in feedlot calves in western Canada. December 2002
2. Oxytetracycline pharmacokinetics, tissue depletion, and toxicity after administration of a long-acting preparation at double the Label dosage. TerHune TN, Upson DW. Am Vet Med Assoc. 1989 Apr 1; 194(7):911-7.
3. Merck, El manual Merck de Veterinaria, Quinta Edición. 2000.1132.
4. Sumano, Ocampo. Farmacología Veterinaria. Segunda Edición.1998
5. Prescott, John F.; Baggot Desmond. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. Second edition.1993. 557-558