

## REPORTE FINAL DE ESTUDIO (RF)

### 1. Título

Evaluación de Eficacia y Tolerancia de una infusión intramamaria comercial en base a Cefalexina monohidrato, Gentamicina sulfato, Dexametasona y Vitamina A (Cefa-Milk<sup>®</sup> Forte) en el tratamiento de infecciones intramamarias en vacas lecheras Holstein.

### 2. Número de Ensayo

NN- 06-1

### 3. Tipo de Estudio

Ensayo clínico de campo

### 4. Objetivo General

Evaluar la eficacia de una infusión intramamaria comercial en base a Cefalexina, Gentamicina, Dexametasona y Vitamina A (**Cefa-Milk<sup>®</sup> Forte**) sobre la tasa de recuperación de cuartos afectados con mastitis en vacas lecheras.

### 5. Investigador

**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.

### 6. Monitor

**José Tang Ploog**, Médico Veterinario Sub-Gerente de Investigación y Desarrollo de Agrovvet Market S.A.

### 7. Sponsor

**Agrovvet Market S.A.**

### 8. Lugar de Estudio

El estudio se realizó en un establo lechero del distrito de Lurín "El Manantial", en la ciudad de Lima, ubicada en la costa central del Perú, sobre los 50 msnm y que presenta una temperatura ambiental promedio de 18°C para la estación en la que se desarrolló el estudio.

### 9. Antecedentes

La mastitis bovina es una enfermedad con una alta incidencia en la industria lechera a nivel mundial y es considerada como la mayor causa de pérdidas económicas en dicho rubro. Las pérdidas económicas están ligadas a la disminución en la calidad y cantidad de la producción de leche; además, del costo del tratamiento y los servicios veterinarios, así como el desgaste del animal (Bradley 2002, Oviedo *et al.* 2006, Taverna *et al.* 2007).

La mastitis bovina es una reacción inflamatoria de la glándula mamaria, y produce alteraciones físicas y químicas en la leche, aumento del número de

células somáticas por la presencia de microorganismos patógenos y finalmente cambios como es la pérdida de la funcionalidad. Esta reacción inflamatoria ocurre como consecuencia de la respuesta de los tejidos a lesiones traumáticas, a sustancias irritantes o a la presencia de agentes infecciosos y sus toxinas que han logrado colonizar el tejido secretor (Miller y Bartlett, 2004).

La mastitis puede ser causada por al menos 135 agentes diferentes, principalmente bacterias (Lammers *et al.* 2001, Barbosa *et al.* 2007), las cuales pueden ser patógenas o de origen ambiental (Oviedo *et al.* 2006). Entre las bacterias que con mayor frecuencia causan esta infección se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli* (Bradley 2002).

Como factores ambientales determinantes se encuentran: la ubicación del ganado (estabulado o en pastura); la ausencia del control de moscas; hacinamiento; malas prácticas de ordeño; estación climática caliente; y malas condiciones de mantenimiento (Oliver *et al.* 2005).

Un tratamiento adecuado de la mastitis se basa, en gran medida, en el manejo adecuado de los fármacos, principalmente los antiinflamatorios y antimicrobianos (Fang y Vikerpur, 1995). La elección del antimicrobiano dependerá de varias consideraciones, como su capacidad de difusión, espectro y potencia, y su distribución, que depende fundamentalmente de su liposolubilidad, su constante de disociación (pKa), su pH y su unión a proteínas plasmáticas. También debe considerarse su capacidad para abandonar rápidamente el sitio y no dejar residuos. Adicionalmente, deberá ser activo en presencia de leche y pus (Sumano y Ocampo., 1997).

Así, dentro de los antibióticos recomendados para el tratamiento de mastitis, la cefalexina vía intramamaria ha demostrado buena eficacia debido a su buena capacidad de difusión en el tejido mamario así como por su breve período de retiro. Por su parte, la gentamicina es usada en preparaciones intramamarias en combinación con betalactámicos para mejorar el espectro y por su actividad específica sobre *E.coli* (Sumano y Ocampo., 1997).

El objetivo del presente trabajo fue demostrar la eficacia de Cefa-Milk® Forte, una infusión intramamaria comercial en base a Cefalexina, Gentamicina, Dexametasona y Vitamina A sobre la tasa de recuperación de cuartos afectados con mastitis en vacas lecheras.

#### **10. Fecha de Estudio y duración**

El estudio tuvo una duración de un mes. Se desarrolló entre el 02/11/2006 al 30/11/2006.

## 11. Materiales y Métodos

### 11.1. Tratamiento

Formulación comercial en base a cefalexina monohidrato (200 mg), gentamicina sulfato (100 mg), dexametasona 21 fosfato (0.75 mg) y vitamina A (10 000 UI) en 10ml (Cefa-Milk<sup>®</sup> forte). El tratamiento constó de la aplicación intramamaria de 10ml del producto cada 12 horas durante 3 ordeños (Anexo1).

### 11.2. Tamaño de muestra

Se trabajó con 16 animales.

### 11.3. Selección de animales e identificación

Los animales fueron seleccionados de una población de 50 vacas de un peso promedio de 400kg. Como criterios de inclusión se consideraron animales de raza Holstein, de mediana o alta producción, positivos a mastitis clínica en al menos 1 de sus cuartos y con un resultado positivo a la prueba de California Mastitis Test (CMT, Anexo 2). Como criterios de exclusión, no se consideraron animales que hayan recibido terapia antibiótica durante los últimos 7 días previos al estudio.

Se seleccionaron 16 animales, 10 de alta producción y 6 de mediana producción. Los animales se encontraron previamente identificados mediante aretes.

### 11.4. Diseño experimental

El presente estudio se realizó con un diseño no controlado siendo la unidad experimental un animal. Posterior a la selección de los animales, se procedió a tomar una muestra de leche para análisis microbiológico respectivo. Estas muestras fueron clasificadas como muestras pre tratamiento (Pre-Tto).

Todos los animales conformaron el grupo tratamiento (GT), el cual recibió tres aplicaciones vía intramamaria de 10ml de la formulación comercial a base de cefalexina monohidrato (200 mg), gentamicina sulfato (100 mg), dexametasona 21 fosfato (0.75 mg) y vitamina A (10 000 UI) (Cefa-Milk<sup>®</sup> forte) en el cuarto afectado, cada 12 horas. Los animales que presentaron más de 1 cuarto afectado recibieron un tratamiento por cada cuarto.

Finalizado el tratamiento y transcurridos 8 ordeños se procedió a tomar una muestra de leche del cuarto afectado de cada animal. Estas muestras fueron clasificadas como muestras post tratamiento (Post-Tto). Todas las muestras fueron mantenidas en cadena de frío según las recomendaciones del laboratorio hasta su posterior análisis. Así mismo, se procedió a realizar la prueba de CMT a todos los animales, al finalizar el estudio.

### 11.5. Prueba de laboratorio

Las muestras de leche fueron trabajadas en el laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, para cultivo bacteriológico y antibiograma, a fin de

determinar los agentes causales del proceso y su sensibilidad a los componentes de la fórmula.

11.6. Manejo de los animales experimentales

Los animales fueron alimentados en base a forraje y alimento concentrado, recibiendo dos raciones al día. Se les brindó agua *ad libitum*.

11.7. Parámetros evaluados

Se evaluó la tasa de recuperación de los cuartos afectados, según la siguiente fórmula:

$$TR (\%) = \frac{N^{\circ} \text{ de cuartos recuperados}}{N^{\circ} \text{ de cuartos tratados}} \times 100$$

11.8. Métodos estadísticos

Se utilizó estadística descriptiva para presentar los datos obtenidos.

## 12. Resultados

Según la prueba de CMT pre-tratamiento se logró detectar 14 animales con un cuarto positivo a mastitis y 2 animales con 2 cuartos positivos a mastitis. De acuerdo a la observación clínica todos los animales presentaron cuadros de mastitis clínica de leve a moderada. De las 18 muestras, sólo en 16 se logró aislar agentes bacterianos patógenos asociados a mastitis (Tabla 1). Los gérmenes aislados fueron los siguientes: *Actinomyces pyogenes* (3 muestras), *Streptococcus uberis* (4 muestras), *Staphylococcus sp.* (4 muestras), *Streptococcus agalctiae* (3 muestras) y *Streptococcus dysgalactiae* (2 muestras). Todos los gérmenes fueron sensibles a al menos uno de los componentes de la fórmula (cefalexina y/o gentamicina). La frecuencia de aislamiento de estos agentes bacterianos se pueden observar en el Gráfico 1.

A la observación clínica, todos los animales evidenciaron recuperación de los cuartos afectados al finalizar el período de tratamiento. La Tasa de Recuperación establecida fue la siguiente:

$$TR (\%) = \frac{18}{18} \times 100 = 100\%$$

El análisis bacteriológico de las muestras post-tratamiento resultó negativo a bacterias patógenas. Sin embargo, en la prueba de CMT, cuatro (04) muestras de leche dieron como resultado “trazas” que indica “no infección o posible infección”. Este resultado indicaría básicamente la presencia de algunas células inflamatorias en la secreción de leche como resultado de la resolución del proceso inflamatorio, mas no un proceso infeccioso dado los resultados bacteriológicos negativos.

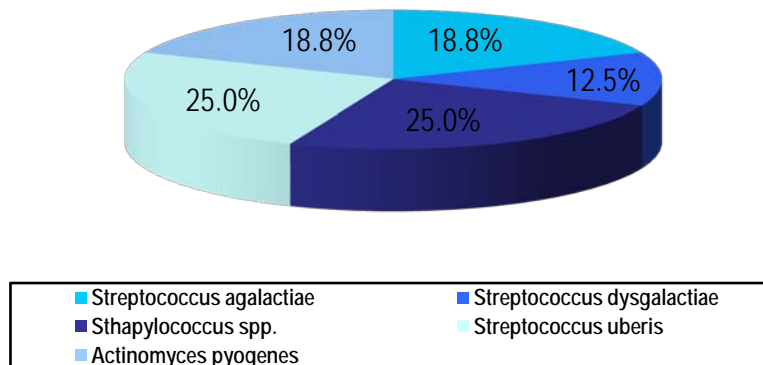


**Tabla 1. Resultados del análisis bacteriológico y antibiograma de las muestras de leche de los cuartos mamarios afectados y prueba de CMT (pre y post tratamiento), El Manantial, Noviembre 2006.**

Nº Animal	Cuarto afectado (*)	Germen aislado (Pre-tto)	Sensibilidad – Antibiograma		Análisis bacteriológico Post-tto	Prueba CMT(**) Post-Tto
			Cefalexina	Gentamicina		
401	PD	<i>Actinomyces pyogenes</i>	Resistente	Sensible	Negativo	+
120	AD	<i>Actinomyces pyogenes</i>	Resistente	Sensible	Negativo	+
	AI	<i>Streptococcus uberis</i>	Intermedio	Sensible	Negativo	N
501	PI	<i>Actinomyces pyogenes</i>	Resistente	Sensible	Negativo	+
	PD	<i>Streptococcus uberis</i>	Intermedio	Sensible	Negativo	N
870	AI	<i>Streptococcus uberis</i>	Intermedio	Sensible	Negativo	+
410	PD	Aislamiento Negativo	-	-	Negativo	N
978	AD	<i>Staphylococcus sp.</i>	Sensible	Intermedio	Negativo	N
802	PD	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Resistente	Sensible	Negativo	N
403	AD	<i>Staphylococcus sp.</i>	Sensible	Intermedio	Negativo	N
208	PI	<i>Streptococcus uberis</i>	Intermedio	Sensible	Negativo	N
702	PD	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Sensible	Sensible	Negativo	N
128	PD	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Sensible	Sensible	Negativo	N
740	PD	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Sensible	Sensible	Negativo	N
152	PI	Aislamiento Negativo	-	-	Negativo	N
470	PD	<i>Staphylococcus sp.</i>	Intermedio	Sensible	Negativo	N
856	AI	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Sensible	Sensible	Negativo	N
907	AD	<i>Staphylococcus sp.</i>	Intermedio	Sensible	Negativo	N

(\*) PD = Posterior derecho (\*\*)  
PI = Posterior izquierdo. N = Negativo (No Infectado)  
AD = Anterior derecho T = Trazas (Posible Infección.)  
AI = Anterior izquierdo + = Positivo Débil (Infectado)  
+++ = Positivo Fuerte (Infectado) ++ = Positivo Evidente (Infectado).

**Gráfico 1. Frecuencia de agentes bacterianos aislados de leche de vacas afectadas con mastitis clínicas, El Manantial, Noviembre 2006.**



### 13. Reacciones adversas

No se observaron reacciones adversas luego de la aplicación intramamaria de **Cefa-Milk® Forte** en ninguno de los animales tratados.

### 14. Conclusiones

El estudio demostró que el tratamiento con tres (03) aplicaciones de **Cefa-Milk® Forte** a intervalo de 12 horas, es eficaz en la recuperación de animales con mastitis clínicas causadas por agentes sensibles a los componentes de la fórmula.

### 15. Referencias bibliográficas

- Barbosa S, Monardes H, Cue R. 2007. Evaluation of test-day somatic cell count of first lactating Holstein Cows. Rev. Bras. Zoot. 36:94-102.
- Bradley A. 2002. Bovine mastitis an evolving disease. Vet. J. 164:116-126.
- Fang W, Vikerpur M. 1995. Potency of antibacterial drug in milk as analyze by BGloconidase- Based Fluorometry, J. Vet. Pharmacol. Ter., Vol 18(6) 422- 428.
- Lammers A., Van Vorstenbosch J., Erkens J., Smith H. 2001. The major bovine mastitis pathogens have different cell tropisms in cultures of bovine mammary gland cells. Vet. Mic. 80:255-265.
- Miller G, Bartlett P. 2004. Economic effects of mastitis prevention strategies for dairy producers. J Am Vet Med Associ. 198: 227-231.
- Oliver S, Gillspie B., Headrick S., Lewis M., Dowlen H. 2005. Prevalence, risk factors and strategies for controlling mastitis in heifers during the periparturient period. Intern. J. Appl. Res. Vet. Med. 3:150-162.



Oviedo-Boyso J, Valdez-Alarcón J, Cajero-Juárez M, Ochoa Zarzosa A, López-Meza J, Bravo-Patiño A, Baizabal-Aguirre V. 2006. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J. Infect.* 20:1-11.

Sumano H, Ocampo L. 1997. *Farmacología Veterinaria*. 2da edición. México: McGraw-Hill Interamericana. pp: 519-537.

Taverna F, Negri A, Piccinini R, Zeconin A, Nonnis S, Ronchi S, Tedeshi G. 2007. Characterization of cell wall associated proteins of a *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis case by a proteomic approach. *Vet. Mic.* 119:240-247.

#### 16. Firma y Sello del responsable del RF

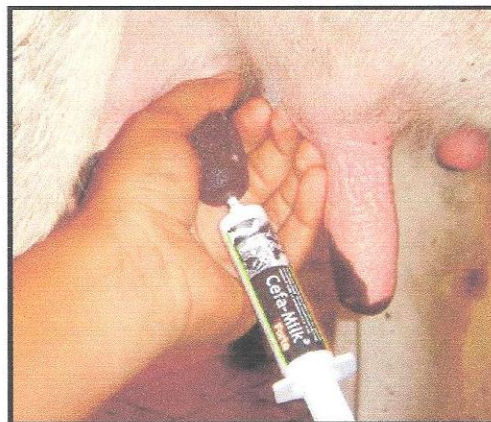
Investigador: Olga Li Elias

  
Fecha: 02/05/2012



#### 17. Anexos

##### Anexo 1. Aplicación por infusión intramamaria de Cefa-Milk® Forte





**Anexo 1. Evaluación del grado de inflamación de la glándula mamaria y resultados de la prueba de California Mastitis Test (CMT)**

Nº Animal	Nº de cuartos afectados	Inflamación de la glándula mamaria (observación clínica)	Prueba de CMT (*) Pre-tto
401	1	Leve	+++
120	2	Moderada	+++
501	2	Moderada	+++
870	1	Leve	+++
410	1	Leve	++
978	1	Leve	++
802	1	Leve	++
403	1	Leve	++
208	1	Leve	++
702	1	Leve	++
128	1	Leve	++
740	1	Leve	++
152	1	Leve	++
470	1	Leve	++
856	1	Leve	++
907	1	Leve	++

(\*) N = *Negativo (No Infectado)*  
T = *Trazas (Posible Infección).*  
+ = *Positivo Débil (Infectado)*  
++ = *Positivo Evidente (Infectado).*  
+++ = *Positivo Fuerte (Infectado).*