



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA Y BIOLOGIA MOLECULAR
Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja
Telf. 435-3348 – Anexo 237

“EVALUACIÓN DE TOLERANCIA Y DEL EFECTO HEMATOPOYÉTICO E INMUNOMODULADOR DE UN COMPUESTO EN BASE A FÓSFORO ORGANICO, ÁCIDO FÓLICO Y CIANOCOBALAMINA (Catofos® B9+B12) POR DIFERENTES VIAS DE APLICACION EN BOVINOS”

SOLICITANTE : AGROVET MARKET S.A.
MUESTRA : CATOFOS B9 +B12
- Lote N° 007036
- Fecha de Vencimiento: Julio del 2009
LUGAR DE EJECUCIÓN : Laboratorio de Patología Clínica – FMV-UNMSM
FECHA DE SOLICITUD : 04 – 07 – 06.

“EVALUACIÓN DE TOLERANCIA Y DEL EFECTO HEMATOPOYÉTICO E INMUNOMODULADOR DE UN COMPUESTO EN BASE A FÓSFORO ORGANICO, ÁCIDO FÓLICO Y CIANOCOBALAMINA (Catofos® B9+B12) POR DIFERENTES VIAS DE APLICACION EN BOVINOS”

1. INTRODUCCIÓN

Los bovinos de producción lechera así como los de engorde necesitan de la administración de suplementos vitamínicos y minerales para logran con eficiencia su producción ya sea de leche o de carne, y muchos otros casos para ayudarlos a enfrentar las diferentes situaciones de estrés o de enfermedad. En estos últimos casos es necesario que los animales estén con un sistema hematopoyético preparado para asumir los desafíos que le presenten los agentes etiológicos infecciosos o no infecciosos.

El producto **Catofos® B9+B12** (solución inyectable) es un estimulante fósforo orgánico con vitaminas hematopoyéticas cuya fórmula contiene Ácido fosfonoso [1-(n-Butilamino)-1-metiletil] (Butafosfán) 10 g, Vitamina B₁₂ (cianocobalamina) 5 mg y Ácido Fólico 1.5 g en 100 mL de producto. Está formulado para suplementar los componentes de su fórmula a animales con deficiencias manifiestas (o propensas a desarrollarlas) o de manera preventiva en animales de alta producción o competencia.

Las tres sustancias presentes en la fórmula de **Catofos® B9+B12** estimulan el metabolismo en su conjunto, especialmente el metabolismo energético.

Los compuestos de fósforo orgánico, tal como se presentan en **Catofos® B9+B12** influyen sobre casi todos los procesos de asimilación del organismo, asimismo intervienen en un sinnúmero de reacciones enzimáticas y anabólicas. El butafosfan ejerce además, una influencia positiva sobre el hígado, musculatura, el metabolismo de energía y los niveles séricos de fósforo. También aumenta la facultad de reacción de los órganos con musculatura lisa (tracto digestivo, útero, etcétera). Por su acción puramente fisiológica, los compuestos orgánicos de fósforo superan a los tónicos usados hasta hoy, y no producen fenómenos secundarios indeseables.

Por su contenido de vitamina B12 y vitamina B9 (ácido fólico), **Catofos® B9+B12** fomenta el metabolismo de carbohidratos y lípidos, de tal forma que influye favorablemente en el crecimiento corporal, en la formación de glóbulos rojos, y demuestra también una acción protectora del hígado.

La vitamina B12 es una de las más esenciales para la síntesis de ADN, la deficiencia causa inhibición de la maduración nuclear y división. La detención de la maduración de eritrocitos en la médula ósea da lugar a anemia megaloblástica o perniciosa, por tanto es antianémica porque participa en la síntesis de proteínas y de glóbulos rojos. Es estimulante general del organismo y neurotrófica ya que nutre los tejidos nerviosos

El ácido fólico también es esencial para la producción de glóbulos rojos - las células que llevan oxígeno alrededor del cuerpo para ser utilizadas en la producción de energía y ATP. El ácido fólico es un miembro del grupo de la vitamina B, necesario para varios procesos metabólicos. Su deficiencia produce anemia megaloblástica, en donde la administración de ácido fólico produce una remisión del cuadro hematológico, con su respuesta reticulocitaria, aumento

de los eritrocitos, hemoglobina y desaparición de la hiperplasia megaloblástica de la médula ósea

El butafosfan una vez inyectado se distribuye a través del suero sanguíneo rápidamente, cubriendo las necesidades de fósforo a nivel muscular. La excreción se da rápidamente a través del 70 % a nivel de orina y un pequeño porcentaje a nivel de materia fecal.

La Vitamina B 12 pertenece al grupo de las vitaminas hidrosolubles. La cianocobalamina se absorbe fácilmente cuando se administra a través de inyección intramuscular o subcutánea logrando un máximo de concentración sanguínea a las 4 o 5 horas, se almacena en el hígado y se elimina por filtración glomerular.

Reportes sitúan el tiempo para alcanzar la máxima concentración el ácido fólico (T_{máx}) entre 60 y 90 minutos. Una vez absorbido, el folato es rápidamente distribuido a los tejidos como metiltetrahidrofolato, unido a las proteínas plasmáticas. Se distribuye a todos los tejidos del cuerpo y principalmente a hígado (50%) y se almacenan en las células como poliglutamatos. El principal sitio de almacenamiento es el hígado y se concentra también activamente en sistema nervioso central. El folato tiene circulación enterohepática. El folato se distribuye en la leche

El **Catofos® B9+B12** está indicado cuando la suplementación de fósforo sea requerida para mejorar la condición animal y optimizar la producción, también en Enfermedades y trastornos metabólicos agudos, Enfermedades crónicas y trastornos metabólicos crónicos como Anemias Primarias: macrocíticas o megaloblásticas, Prevención de enfermedades reproductivas y otros trastornos como la prevención de enfermedades metabólicas asociadas al parto (con la consecuente prevención de problemas reproductivos y de fertilidad posteriores y en Tratamiento en animales sanos como son para mejorar el rendimiento muscular en caballos de carreras, gallos de pelea, toros de lidia, perros y otros animales de recreo y deporte.

Las vías de administración pueden ser la vía intravenosa, intramuscular o subcutánea. Y se recomienda las dosis en Vacunos, equinos: 10 – 25 mL, Vacas lecheras previo al parto: 20 mL. Terneros, potros: 5 – 12 mL.

Los Glóbulos Rojos son células de forma discoidea y bicóncava. En relación al peso corporal la cantidad total del volumen sanguíneo es del 8 a 9 % en caninos y del 6 a 7 % en felinos.

El eritrocito maduro de los mamíferos no posee núcleo, no se reproduce y consume una cantidad mínima de oxígeno. La función principal de la célula roja es transportar oxígeno hacia los tejidos y traer de vuelta dióxido de carbono de éstos hacia los pulmones.

Contiene alrededor de un 60% de agua, el ión predominante en su interior es el potasio y el 34% de su peso corresponde a la hemoglobina. Es un pigmento respiratorio de la sangre, está contenida exclusivamente dentro de los eritrocitos y se une aproximadamente al 97% de todo el oxígeno en el cuerpo. Es una proteína conjugada formada por la globina, un grupo *hem* y un átomo de hierro. La forma particular bicóncava del glóbulo rojo le permite una absorción de oxígeno en los pulmones, así como su liberación eficiente en los capilares de todos los tejidos del cuerpo. De hecho, se calcula que un eritrocito se satura totalmente de oxígeno en menos de un centésimo de segundo.

Los valores normales en bovinos para los Glóbulos Rojos ($10^6/\mu\text{l}$) oscila entre 5.00 y 10.00, el Hematocrito (%) entre 24.00 y 46.00 y la Hemoglobina (g/dl.) 8.00 y 15.00. (2)(3).

Los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos son las células blancas predominantes en la sangre periférica normal. Es una célula muy móvil y su consistencia gelatinosa le facilita atravesar las paredes de los vasos sanguíneos y migrar hacia los tejidos para destruir microbios y responder a estímulos inflamatorios. Su función es detener o retardar la acción de agentes infecciosos o materiales extraños. Su propiedad más importante es la fagocitosis y son capaces de ingerir bacterias y pequeñas partículas.

Los Linfocitos tienen como función general la producción de anticuerpos circulantes y la expresión de la inmunidad celular, hipersensibilidad retardada, rechazo de los injertos y reacciones injerto contra huésped. Dos tipos funcionalmente diferentes de linfocitos han sido descritos: los linfocitos T o timo-dependientes y los linfocitos B o médula ósea dependientes.

Aproximadamente el 70 a 80% de los linfocitos en sangre periférica muestran características de células T. Estos tienen una vida media de varios años, así como una gran capacidad y velocidad para recircular entre la sangre y los tejidos. También almacenan y conservan la

"memoria inmunológica" (células T de memoria). Además, una vez activadas, son las células efectoras o ejecutoras (células asesinas) de la inmunidad celular y secretan sustancias biológicamente activas (linfoquinas) que sirven de mediadores solubles de inmunidad en la respuesta inflamatoria. Por otra parte, algunos linfocitos T colaboran (Linfocitos ayudadores) en la diferenciación que la estimulación por antígenos induce de linfocitos B en células plasmáticas, responsables de la producción de anticuerpos circulantes o inmunidad humoral.

Los valores normales para los bovinos del recuento total de leucocitos (Glóbulos Blancos) en promedio es de 12,000 por microlitro (ul), así como los porcentajes por tipo de célula blanca son: Neutrófilos segmentados 15 – 45, linfocitos 45 – 75, Monocitos 2 – 7, Eosinófilos 2 – 20 y Basófilos 0 – 2. (2)(3)

2. OBJETIVO

Evaluar el efecto del **Catofos® B9+B12** sobre la Hematopoyesis y sobre la inmunidad celular inespecífica al aplicarse por tres vías de administración (vía endovenosa, intramuscular y subcutánea) en bovinos de engorde, así como la tolerancia sobre el punto de inoculación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

- **Animales:** Con bovinos de engorde, probadamente afectados con algún grado de anemia se formaron 03 grupos de 10 animales correspondiente a cada vía de administración del producto (vía subcutánea, intramuscular y endovenosa) y a 10 bovinos de las mismas condiciones sin recibir el producto fueron mantenidos como grupo "Control". Los animales tratados recibieron una dosis única recomendada entre 10 a 25 ml por animal, según peso. Todos los bovinos recibieron alimentación adecuada de concentrado y agua a libertad.
- **Muestreo:** Se tomaron muestras de sangre con anticoagulante EDTA pre-tratamiento y luego se hicieron 02 muestreos; uno a las 24 horas post inicio de la administración del producto y otro a los 06 días postratamiento. Este programa de muestreo fue tanto para los Grupos Tratados como para el Grupo Control.
- **Prueba:** Se tomaron 02 mL de sangre en frascos de vidrio con anticoagulante y llevado al Laboratorio se procedió a trabajar de inmediato las muestras. Se evaluó para la Serie Roja:

Recuento total de eritrocito (Glóbulos Rojos) y determinación de Hemoglobina, Hematocrito, para la Serie Blanca: Recuento de Leucocitos (Glóbulos Blancos) y la cuenta Diferencial de células Blancas (Neutrófilos, Linfocitos, Eosinófilos, Monocitos, Basófilos).

4. RESULTADOS

Los resultados obtenidos de cada uno de los parámetros evaluados fueron procesados en programa Excel, obteniéndose promedios para cada grupo formado por vía de aplicación y para el grupo control (sin aplicación) que se presentan en los siguientes cuadros:

CUADRO 1: VALORES HEMATOLÓGICOS PROMEDIO PARA EL GRUPO DE APLICACIÓN SUBCUTÁNEA

MUESTREO	Hb (g/dl)	Ht (%)	GR (x 106/ul)	GB (x ul)	Neu %	Linf %	Eos %	Bas %	Mon %
PRE-TTO	9.1	30.4	6.35	13350	22.4	75.8	1	0.4	0.4
24 Hrs POST-TTO	9.48	32.6	7.44	13760	25.8	72	2	0.2	0
06 DIAS POST-TTO	9.04	33.2	7.49	13070	29.4	69.8	1.4	0.2	0.2

CUADRO 2: VALORES HEMATOLOGICOS PROMEDIO PARA EL GRUPO DE APLICACIÓN INTRAMUSCULAR

MUESTREO	Hb (g/dl)	Ht (%)	GR (x 106/ul)	GB (x ul)	Neu %	Linf %	Eos %	Bas %	Mon %
PRE-TTO	10.08	33.4	7.07	10990	29.6	68.4	1.6	0.2	0.2
24 Hrs POST-TTO	10.38	34	7.92	11720	34.6	62.8	2.2	0.2	0.2
06 DIAS POST-TTO	9.26	36.2	8.30	11280	36.2	61.6	1.8	0.2	0.2

CUADRO 3: VALORES HEMATOLOGICOS PROMEDIO PARA EL GRUPO DE APLICACIÓN ENDOVENOSA

MUESTREO	Hb (g/dl)	Ht (%)	GR (x 10 ⁶ /ul)	GB (x ul)	Neu %	Linf %	Eos %	Bas %	Mon %
PRE-TTO	9.625	32	6.57	11750	33	64.5	2	0	0.5
24 Hrs POST-TTO	10.18	33.4	7.58	12506	36.2	64.2	2	0	0.6
06 DIAS POST-TTO	10	32.5	7.74	10025	32.75	65.75	1.5	0	0

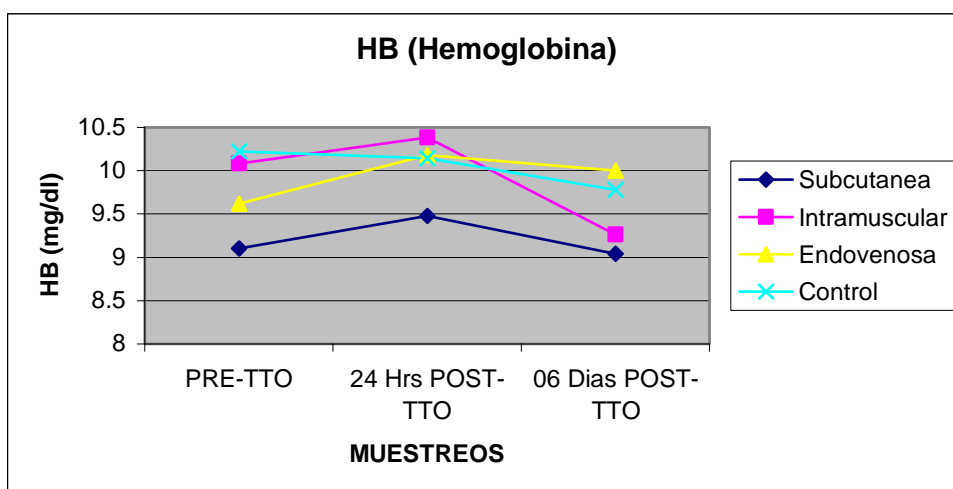
CUADRO 4: VALORES HEMATOLOGICOS PROMEDIO PARA EL GRUPO CONTROL

MUESTREO	Hb (g/dl)	Ht (%)	GR (x 10 ⁶ /ul)	GB (x ul)	Neu %	Linf %	Eos %	Bas %	Mon %
PRE-TTO	10.22	33.8	6.91	15170	39.4	58.2	1.8	0.6	0
24 Hrs POST-TTO	10.14	33.4	6.84	15270	39.4	58.4	1.6	0.4	0.2
06 DIAS POST-TTO	9.78	32.8	6.18	14530	38.4	59	1.8	0	0.2

5. DISCUSIÓN

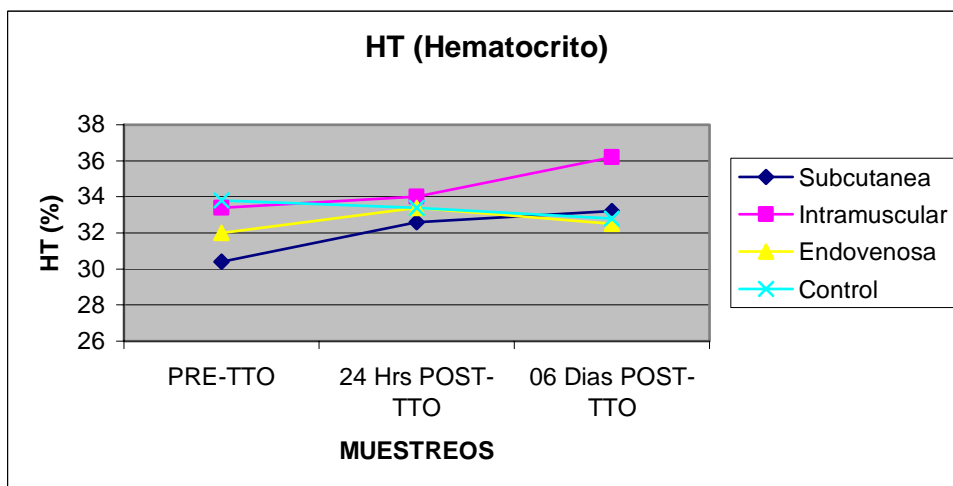
Para fines de mejor comparación se realizaron los siguientes gráficos con los valores obtenidos en los tres muestreos para cada uno de los parámetros evaluados. En los gráficos se puede visualizar mejor la tendencia en el tiempo de los niveles alcanzadas por los parámetros en líneas que se forman para cada una de las vías de aplicación.

GRAFICO 1



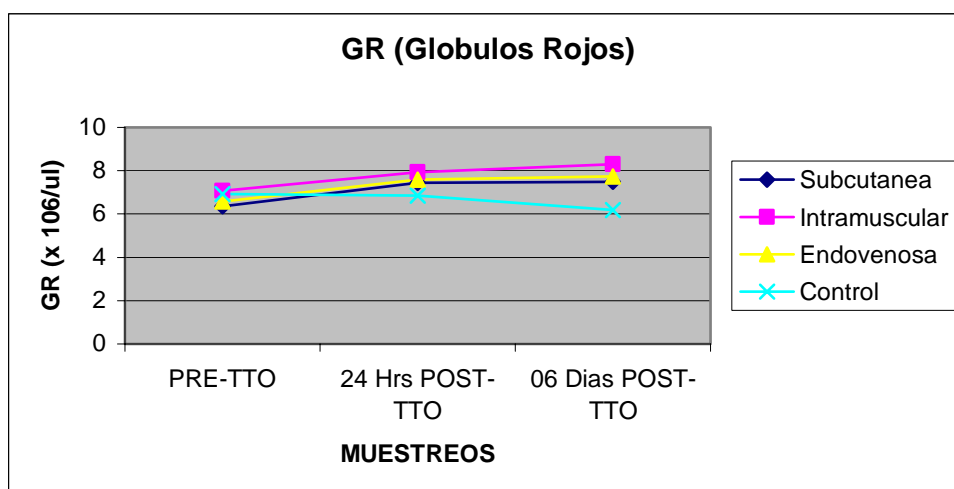
En las tres vías de administración se nota un notorio incremento de la HB a las 24 horas de iniciado el tratamiento para luego sufrir una disminución a los 06 días, a niveles séricos normales, en comparación al grupo control en todos los muestreos se nota una ligera disminución.

GRAGICO 2



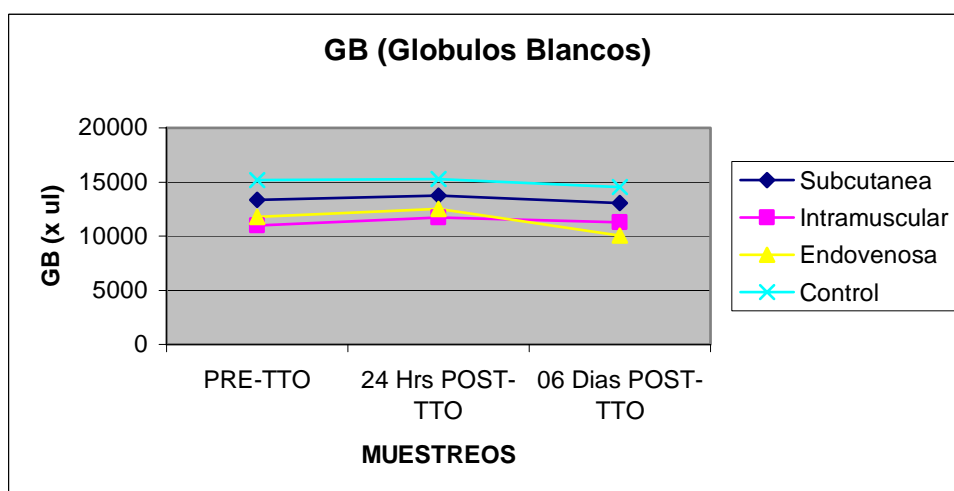
En el Hematocrito la administración por las tres vías produce su incremento a las 24 horas de aplicado el producto, pero solo la vías intramuscular y subcutánea se encuentran incrementadas hasta el día 06 de muestreo, la vía endovenosa muestra un descenso marcado al sexto día de iniciado el tratamiento, como sucede con el grupo control que desciende en los tres muestreos.

GRAFICO 3



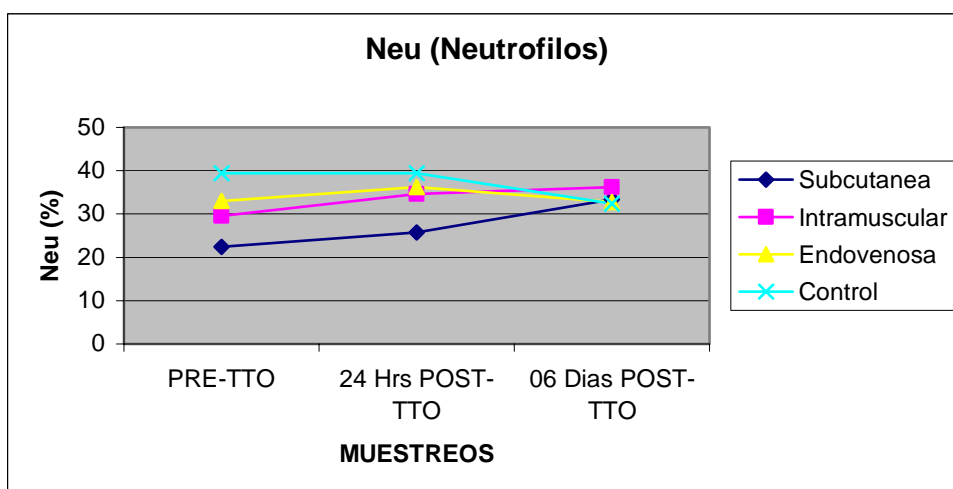
En las tres vías de administración hubo incremento constante hasta el 6º día de muestreo en la cuenta de Glóbulos Rojos, en comparación al grupo control que permaneció inalterable. Esto está en concordancia con los resultados del Hematocrito. Pero ambos resultados confirmarían las propiedades hematopoyéticas del producto. Y en cuanto a los niveles de Hemoglobina el incremento aparentemente es para las primeras 24 horas, lo cual podría confirmarse haciéndose muestreo cada 24 horas y por más días.

GRAFICO 4



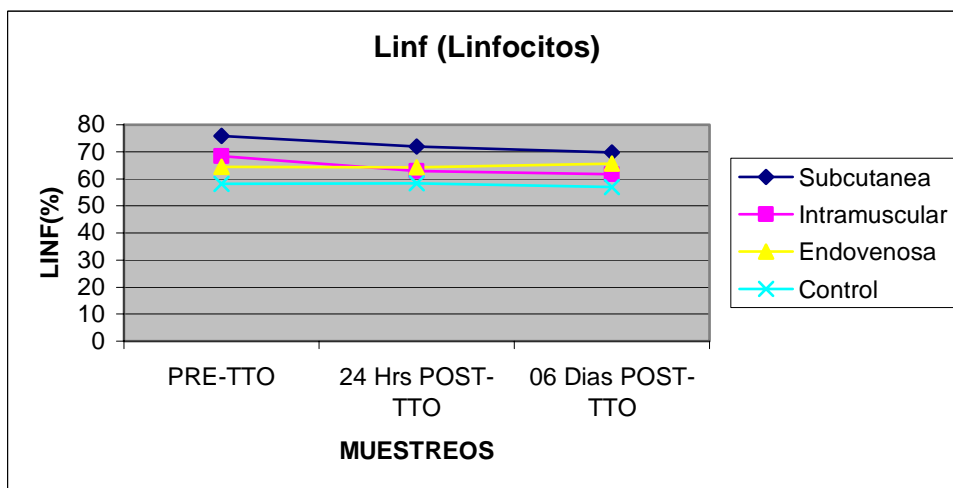
En lo referente a la cuenta total de Glóbulos Blancos no hay un notorio efecto de incremento y más bien en el grupo aplicado vía endovenosa se nota una disminución de la cuenta al día 06 pos-tratamiento.

GRAFICO 5



Al hacer la cuenta diferencial de las células blancas se nota que el porcentaje de se Neutrófilos se incrementa sostenidamente para los de la aplicación subcutánea e intramuscular mientras que por la vía endovenosa el notorio incremento se ve en el muestreo a las 24 horas y luego decae en el muestreo al 6to. Día. El grupo control se mantiene igual.

GRAFICO 6



El porcentaje de Linfocitos sufre un descenso sostenido, pero ligero en las vías de aplicación subcutánea e intramuscular, en la vía endovenosa prácticamente mantienen los niveles estables como sucede con el grupo control. Correlacionando con los resultados de los neutrófilos, podemos aseverar que el producto produce un incremento porcentual de los neutrófilos a expensas de una ligera disminución de los linfocitos y todo esto con manteniendo la cuenta total

de los Glóbulos Blancos. Esto demuestra que el producto **Catofos® B9+B12** asegura una buena respuesta inmune inespecífica de tipo celular.

6. CONCLUSIONES

- El **Catofos® B9+B12** tiene efectos sobre la hematopoyesis, pues produjo incremento de Ht (Hematocrito) y en el número de GR (Glóbulos Rojos) con las tres vías de aplicación y el incremento de la HB(Hemoglobina) solo en las primeras horas postaplicación.
- El **Catofos® B9+B12** demostró tener un fuerte efecto inmunoestimulante, mayormente la fracción de Neutrófilos (línea de respuesta celular, macrófagos) produciendo ligeros incrementos en la cuenta total de linfocitos, especialmente cuando se aplica vía subcutánea e intramuscular.
- Se puede concluir que las vía de aplicación intramuscular es la mejor forma de administración del **Catofos® B9+B12**, porque produjo en todos los parámetros evaluados mejores resultados y de permanencia prolongada, la vía subcutánea está en segunda instancia, con valores ligeramente menores a la vía intramuscular. La vía endovenosa produjo incrementos marcados en la mayoría de parámetros evaluados, pero solo en las primeras 24 horas, no permaneciendo en el tiempo.
- Asimismo **Catofos® B9+B12** posee excelente tolerancia por las vías aplicadas (subcutánea, intramuscular y endovenosa), pues no presenta ningún tipo de reacción indeseable tanto a nivel sistémico como en el punto de aplicación.

7. LITERATURA

1. S y F. Laboratorio, Perú: Valores referenciales 2001
2. El Manual Merck de Veterinaria 5ª Edición. Océano Grupo Editorial. Barcelona – España. 2000

Q.F. MSc. Olga Li Elías
Responsable del Laboratorio de
Patología Clínica – FMV – UNMSM

M.V. Arnaldo Alvarado Sánchez
Área de Microbiología Clínica y
Pruebas Especiales – FMV - UNMSM

FOTOS ANEXAS



Foto 01. Grupo de Animales que fueron dosificados con Catofos® B9+B12



Foto 02. Toma de muestra de sangre para evaluación



Foto 03. Aplicación Subcutánea de Catofos® B9+B12



Foto 04. Aplicación Intramuscular de Catofos® B9+B12



Foto 05. Aplicación Endovenosa de Catofos® B9+B12