

Investigación sobre la influencia del tratamiento antibiótico intramamario, en vaca seca, sobre las mamitis clínicas coliformes

Journal of Dairy Science 84: 1332-1339

© American Dairy Science Association 2001.

J. Bradley¹ y M. J. Green²

¹ *Department of Clinical Veterinary Science, University of Bristol, Langford House, Langford, Bristol BS40 5DT, England*

² *Orchard Veterinary Group, Wirrall Park, Glastonbury, Somerset BA6 9XE, England*

Investigación sobre la influencia del tratamiento antibiótico intramamario, en vaca seca, sobre las mastitis clínicas coliformes

Journal of Dairy Science 84: 1332-1339

© American Dairy Science Association 2001.

J. Bradley¹ y M. J. Green²

¹ Department of Clinical Veterinary Science, University of Bristol, Langford House, Langford, Bristol BS40 5DT, England

² Orchard Veterinary Group, Wirrall Park, Glastonbury, Somerset BA6 9XE, England

RESUMEN

Se comparó la eficacia de un producto antibiótico intramamario para vacas secas con un espectro Gram negativo significativo (producto A; Leo Red Dry Cow, Boehringer Ingelheim Animal Health) con un producto sin actividad contra gérmenes Gram negativos (producto B; Orbenin Extra DC, Pfizer Ltd), midiéndola en función del control de las mastitis por coliformes durante los 100 primeros días de lactación. También se comparó la eficacia de ambos productos para controlar las mastitis no coliformes y su capacidad para controlar las infecciones intramamarias, nuevas y existentes, midiéndolas mediante los recuentos individuales de células somáticas. Las vacas tratadas con el producto A tenían una probabilidad significativamente menor de desarrollar mastitis clínicas por *Escherichia coli* o coliformes durante el período seco o durante los primeros 100 días de lactación, que las vacas tratadas con el producto B. Las vacas tratadas con el producto A no tenían una probabilidad mayor de desarrollar mastitis clínica provocada por un microorganismo que las vacas tratadas con el producto B. No hubo diferencias significativas entre los dos grupos, medidas en función de los recuentos individuales de células somáticas durante el período seco. Este estudio es el primero que ha demostrado la eficacia clínica de un producto antibiótico intramamario para vacas secas, medida en función de la reducción de mastitis clínicas provocadas por Gram negativos en la lactación siguiente. Estos resultados demuestran que la elección del producto para tratar a las vacas secas por vía intramamaria con

un espectro Gram negativo significativo puede influir en la incidencia de mastitis por coliformes en la lactación siguiente. Este resultado debería ser uno de los factores a tener en cuenta a la hora de escoger un producto.

(Palabras clave: tratamiento de vacas secas, coliformes, mastitis)

Abreviaturas usadas:

RCS-PRE = media geométrica individual de RCS [Recuento de Células Somáticas] de una vaca antes del secado;

RCS-POST = media geométrica individual de RCS de una vaca después del parto.

INTRODUCCIÓN

La terapia antibiótica de las vacas secas tiene dos finalidades; la eliminación de las infecciones intramamarias existentes en el momento del secado, y la prevención de nuevas infecciones intramamarias durante este período (Smith y col., 1966). Desarrollada inicialmente en los años 40, para ayudar en el control de las mastitis de verano (Pearson, 1950, 1951), en los 60 la terapia antibiótica de las vacas secas se adoptó como pieza fundamental de las estrategias de control de las mastitis (Smith y col., 1966), dirigidas contra los gérmenes contagiosos. Por eso, los productos de infusión intramamaria contienen habitualmente antibióticos con un espectro predominantemente Gram positivo. La amplia puesta en práctica del Plan de Cinco Puntos durante los últimos 30 años ha dado lugar a un cambio en la incidencia y la etiología de las mastitis crónicas

en Gran Bretaña. A pesar de la reducción en la incidencia global de mastitis, los patógenos ambientales como los coliformes y *Streptococcus uberis* se han hecho cada vez más significativos como causa de enfermedad, mientras que la incidencia de gérmenes contagiosos como *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*, se ha reducido (Booth, 1997; Green y Bradley, 1998; Bradley y Green, 2001a). La mayor incidencia de gérmenes patógenos ambientales ha renovado el interés por la epidemiología de las mastitis por coliformes y planteamientos alternativos para su control. Hace tiempo que se ha demostrado la sensibilidad de la glándula mamaria a las infecciones por coliformes (Eberhart y Buckalew, 1977; Murphy y Hanson, 1943; Oliver y Mitchell, 1983; Smith y col., 1985; Todhunter y col., 1991), a pesar de que el verdadero impacto de estas infecciones sobre la incidencia de las mastitis clínicas en la lactación siguiente no se ha determinado hasta hace poco, recurriendo a las técnicas de rastreo de ADN (Bradley y Green, 2000). Los estudios experimentales han demostrado que las infecciones que aparecen al final del período seco tienen mayores probabilidades de persistir y dar lugar a una mastitis clínica que las adquiridas durante la involución (McDonald y Anderson, 1981). Hasta la fecha se ha venido suponiendo que la terapia antibiótica en vacas secas no podía tener ninguna influencia sobre el control de las mastitis por coliformes del principio de la lactación (Smith y col., 1985), principalmente a causa de un espectro inadecuado y la persistencia de los agentes antimicrobianos empleados. Sin embargo, en Europa existe un producto de infusión intramamaria (Leo Red Dry Cow, Boehringer Ingelheim Animal Health) cuya etiqueta afirma poseer una persistencia de hasta 14 semanas tras el secado, a un nivel superior a la concentración mínima inhibitoria de *Escherichia coli*. Esta actividad persistente contra Gram negativos la proporciona la framacetina, que no afecta negativamente a los períodos de retirada en carne o en leche gracias a su farmacocinética en la glándula mamaria (*The Compendium of Data Sheets for Veterinary Products, NOAH, UK*). La intención de la investigación presentada en este artículo era evaluar la influencia de un producto antibiótico intramamario para vacas secas con actividad significativa contra Gram negativos (*Leo Red Dry Cow*) sobre la incidencia de la mastitis por coliformes en la lactación siguiente, a

la vez que se controlaban las mastitis clínicas provocadas por otros gérmenes patógenos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de las explotaciones

Se escogieron diez explotaciones en función de su localización (Somerset), patrón de partos no estacional, tres medias geométricas mensuales de RCS en la leche de tanque <250.000 células/ml, y la probabilidad de que el propietario cumpliera el protocolo del estudio. Las explotaciones no se escogieron en función de su incidencia previa de mastitis o su etiología. El cálculo para determinar el número de vacas necesario para obtener la potencia estadística suficiente que permitiera identificar una diferencia entre los dos grupos de tratamiento, se basó en los datos regionales de incidencia y etiología de mastitis (Bradley y Green, en prensa).

Detalles de las explotaciones

Las 10 explotaciones tenían entre 80 y 220 vacas. Las producciones oscilaban entre 6.000 y 7.000 l (ajustadas a 305 d) y la media de RCS en tanque variaba entre 55.000 y 230.000 células/ml. Nueve explotaciones llevaban las vacas a los pastos durante los meses de verano y se estabulaban al aire libre en invierno; la décima explotación (nº 9) mantenía las vacas estabuladas durante todo el año. Las vacas secas de todas las explotaciones se mandaban a los pastos durante el verano y se alojaban en corrales o patios con paja durante la época de estabulado. Las vacas en período de pre y postparto se alojaban sobre hierba o sueltas en corrales. No se emplearon vacunas contra la mastitis en ninguna explotación. Ocho explotaciones registraban los valores individuales de RCS y las 10 explotaciones participaron en un programa de registro sanitario.

Criterios de selección y tratamiento de vacas

Distribución al azar

Las vacas se consideraban candidatas a ser incluidas en el estudio si tenían cuatro cuarterones funcionales, no tenían lesiones significativas en los pezones, presentaban un buen estado sanitario, y no habían recibido ningún tratamiento con antibióticos ni antiinflamatorios en los 30 días anteriores. La primera vaca de cada explotación se incluía en un grupo de tratamiento echando una moneda al aire; a continuación las vacas se iban

incluyendo alternativamente en el grupo A (100 mg de sulfato de frameticina, 100 mg de penetamato iohidrato, 300 mg de penicilina procaína; LeoRed Dry Cow, Boehringer Ingelheim Animal Health) o B (600 mg de cloxacilina; Orbenin Extra Dry Cow, Pfizer Ltd) a medida que se incluían en el estudio. Este método se empleó para garantizar que los dos grupos fuesen equivalentes incluso cuando en el estudio había incluidas un número reducido de vacas, asegurándose así que la exposición al ambiente era lo más similar posible entre ambos grupos. La administración del producto fue ciega para las personas de las explotaciones, para garantizar que no hubiera desviaciones derivadas de la selección de las vacas.

Administración del tratamiento

Todos los tratamientos fueron administrados por los autores después del último ordeño, como se describe a continuación. Una vez cumplidos los criterios de inclusión, se lavaban los pezones de las vacas para eliminar la contaminación macroscópica (si era necesario) y se sumergían en una solución que contenía 2800 mg/kg de cloro disponible (Agrisept, Pharmacia and Upjohn, UK). Tras un período de contacto de 30 segundos, se secaron los pezones. A continuación se limpiaron los pezones con torundas de algodón empapadas en etanol al 70% y se dejaron secar. Antes de insertar la cánula y administrar el tratamiento se volvieron a limpiar los pezones por segunda vez con etanol al 70% y se dejaron secar. Después del tratamiento los pezones se sumergieron en una solución que contenía 2800 mg/kg de cloro disponible, y se confinó a las vacas en un patio durante al menos 30 minutos. Durante todo el proceso de higiene y tratamiento se emplearon guantes desechables.

Estrategia de recogida de muestras de mamitis clínicas

Se monitorizaron las mamitis clínicas durante los primeros 100 días de lactación. Se adiestró al personal de las explotaciones en la identificación, graduación y toma de muestras de las mamitis clínicas. Las mamitis clínicas se identificaron por cuarterones basándose en la presencia de secreciones anormales y /o cambios en la ubre (p.e. dolor, calor, inflamación). La gravedad de la mamitis se puntuó según el sistema siguiente:

Grado 1: Cambios en la leche solamente (p.e. coágulos);

Grado 2: Cambios en la leche y las ubres (p.e. inflamación, calor); y

Grado 3: Síntomas sistémicos (p.e. depresión, pirexia).

Antes de empezar un tratamiento antibiótico, se recogieron muestras de la secreción, aplicando el mismo método de limpieza empleado por los autores antes de administrar la terapia de las vacas secas. Las muestras se identificaron antes de ser congeladas, anotando la granja, vaca, cuarterón y fecha; también se anotaron grado de gravedad y régimen de tratamiento. Las muestras congeladas se mandaban semanalmente para hacer cultivos bacterianos. Los autores visitaron cada una de las 10 granjas semanalmente, para reforzar la formación inicial y reforzar el cumplimiento del programa.

Bacteriología

Las muestras se mandaron al Langford Veterinary Investigation Centre de análisis bacterianos. Se inocularon 10 mcl de secreción en agar sangre de oveja y agar de Edward; se inocularon 100 mcl de secreción en agar McConkey para facilitar la detección de *Enterobacteriaceae*. Se incubaron las placas a 37 °C y se controlaron a las 24 y 48 horas. Los organismos se identificaron y cuantificaron mediante técnicas laboratoriales estándar (Quinn y col., 1994). *Escherichia coli* se identificó mediante la morfología de las colonias y con los test de la oxidasa y del indol; otras *Enterobacteriaceae* se identificaron mediante el sistema de identificación con microtubo (RapiD 20 E, BioMerieux, UK).

Recogida de otros datos

Se anotaron las fechas de secado, de parto y número de partos de todas las vacas incluidas en el estudio. Se obtuvieron los RCS de cada vaca anotados en los registros de las explotaciones de los 4 meses anteriores al secado. Se obtuvieron los RCS de cada vaca anotados en los registros de las explotaciones de los 100 primeros días de la lactación siguiente. Se anotaron los tratamientos antiinflamatorios de las vacas incluidas durante todo el período de estudio, así como la retirada de cualquier vaca del estudio a causa de su fallecimiento, venta, o desecho.

Definición de los términos usados para el análisis

- **Infeción intramamaria: Causa de mamitis clínica.**

Si se aislaba un microorganismo en cultivo puro, se le consideraba la causa de la mamitis. Una muestra se denominaba “de crecimiento mixto” si crecían dos o tres gérmenes productores de mamitis conocidos. Una muestra se etiquetaba como “contaminada” si se aislaban más de tres microorganismos.

- **Mamitis clínica – caso de cuarterón.**

Un único episodio registrado de mamitis clínica que afectaba a un cuarterón. Todos los casos de múltiples cuarterones y los recurrentes se consideraron un caso de cuarterón. Los casos se consideraban recurrentes cuando ocurrían en el mismo cuarterón en el plazo de 5 días, y estaban provocados por el mismo germen.

- **Mamitis clínica – caso de vaca.**

Una vaca que padeciera un caso de mamitis se consideraba un caso de vaca, independientemente del número de cuarterones afectados o del número de veces que se afectó cada uno de ellos (provocado por el mismo germen). Es sinónimo de proporción de vacas afectadas.

- **Estacionalidad.**

Se valoró el efecto de la estación sobre la incidencia de las mamitis. Las estaciones se definieron como invierno (Dic., Ene., Feb.), primavera (Mar., Abr., May.), verano (Jun., Jul., Ago.) y otoño (Set., Oct., Nov.).

- **Nº de partos.**

Se valoró el efecto del número de partos sobre la incidencia de las mamitis. Los partos dos a cinco se valoraron por separado. Los partos superiores al quinto se valoraron en grupo.

- **Recuento de células somáticas.**

Se calcularon las medias geométricas del RCS de cada vaca de los registros anteriores al secado (RCS-PRE) y después del parto (RCS-POST). Se valoró el éxito del tratamiento mediante una combinación de la reducción de la media geométrica de RCS, desde un valor superior a 200.000 células /ml a uno por debajo de éste, o el mantenimiento por debajo de 200.000 células/ml, pues una vaca con un RCS superior a 200.000 células/ml se habría registrado como indicativa de infección intramamaria (Dohoo y Leslie, 1991).

Comparación de resultados y análisis estadístico

Los resultados se compararon y analizaron con Microsoft Excel, Access, Stata (versión 6, Stata Corporation, Texas), Epi-Info (versión 6.04b, CDC, Atlanta, GA), y Egret (versión 2.0.3, Cytel Software Corp, Cambridge, MA). Se aplicaron tests de Mann-Whitney y Wilcoxon para comparar los grupos de tratamiento donde se consideró apropiado. Se aplicó el test de χ^2 para comparar resultados. Se estableció la significación de la probabilidad en $P \leq 0,05$ para un test de dos colas. En todos los análisis se emplearon las explotaciones 1 a 10, excepto las que incluían datos RCS, en los que se excluyeron las explotaciones 6 y 7 porque no se registraron datos RCS de cada vaca. Se aplicó la regresión lógica incondicional para establecer el modelo de aparición de mamitis a nivel de vacas, para controlar posibles factores de confusión. Se empleó la estrategia descrita por Kleinbaum (1994). La variable de resultado (respuesta) era la aparición de la mamitis (sí o no), en una o más ocasiones por vaca. Se adaptaron cuatro modelos con las siguientes variables de resultado: 1) todas las mamitis, 2) mamitis por Gram negativos, 3) mamitis por *E.coli*, y 4) mamitis no Gram negativa. El grupo de tratamiento se usó como variable de exposición. Se valoró la posible influencia como factor de confusión de la aparición de mamitis de la explotación, época de parto, número de partos, RCS antes del secado, duración del período de secado, y días de riesgo. Se empleó una transformación logarítmica de la media aritmética de las tres lecturas de RCS anteriores al secado (LOG RCS-PRE). Los factores de confusión se dejaron en el modelo si proporcionaban una mejora de la exactitud (valor de P) o de precisión (intervalos de confianza) de la variable explicatoria. Se revisaron las interacciones entre covariantes, y los términos se dejaron en el modelo si le aportaban una mejora significativa en términos de cociente de probabilidad estadística (la significación de la probabilidad se había establecido en $P < 0,05$ para un test de dos colas) (Kleinbaum, 1994).

También se realizó una regresión lógica para analizar el efecto del tratamiento sobre el RCS. Se adaptó un modelo con la variable respuesta a nivel de vaca, consistente en el éxito o el fracaso del tratamiento según descrito más arriba (sí o no). Se valoraron los factores de confusión y las

interacciones con respecto a la aparición de mamitis. El efecto del grupo de tratamiento se consideró significativo si la inclusión del tratamiento en el modelo mejoraba significativamente la probabilidad máxima según el cociente de probabilidad estadística (la significación de la probabilidad se había establecido en $P < 0,05$ para un test de dos colas).

RESULTADOS

Se obtuvieron datos de 881 vacas (443 en el grupo A, 438 en el grupo B), secadas entre el 8 de marzo de 1999 y el 20 de diciembre de 1999, y

paridas entre el 8 de abril de 1999 y el 29 de abril de 2000. Se incluyeron entre 49 y 169 vacas de cada explotación. Se disponía del registro de RCS de 660 vacas de ocho explotaciones. No había diferencias significativas entre los grupos de tratamiento por lo que respecta a número de partos, duración del período de secado, o RCS-PRE (ver tabla 1) según el test de Mann-Whitney para dos muestras estadísticas. Se registraron un total de 242 casos de mamitis clínica en los primeros 100 días de lactación, que comprendieron 221 casos de vaca.

Tabla 1: Variación entre los grupos de tratamiento.

	Grupo A				Grupo B				Valor <i>P</i>
	n	Mediana	Media	DE	n	Mediana	Media	DE	
Nº de partos	443	3	3,68	1,68	438	4	3,89	1,87	0,18
RCS-PRE (000 /ml)	332	78	142	213	328	87	167	261	0,17
Duración del período seco (d)	443	63	67,5	20,2	438	65	67,8	22,2	0,43

RCS-PRE = Media geométrica de RCS antes del secado.

Tabla 2: Incidencia de mamitis clínicas durante los primeros 100 días de lactación.

Diagnóstico	Grupo A (n = 443)		Grupo B (n = 438)	
	Nº de cuarterones afectados	Nº de vacas afectadas (%)	Nº de cuarterones afectados	Nº de vacas afectadas (%)
<i>Escherichia coli</i>	15 ^a	13 (2,93) ^a	27 ^b	26 (5,94) ^b
<i>Klebsiella spp.</i>	1	1 (0,23)	2	2 (0,46)
<i>Citrobacter spp.</i>			1	1 (0,23)
<i>Pseudomonas spp.</i>			1	1 (0,23)
<i>Acinetobacter spp.</i>			1	1 (0,23)
Todos los coliformes	16 ^a	14 (3,16) ^a	32 ^b	31 (7,08) ^b
<i>Streptococcus uberis</i>	14	14 (3,16)	25	21 (4,79)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	6	6 (1,35)	5	4 (0,91)
<i>Staphylococcus coagulasa+</i>	8	7 (1,58)	7	7 (1,60)
<i>Staphylococcus coagulasa-</i>	5	5 (1,13)	9	6 (1,37)
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	2	2 (0,45)	3	3 (0,68)
<i>Bacillus</i>			4	4 (0,91)
<i>Corynebacterium</i>	3	3 (0,68)	1	1 (0,23)
<i>Streptococcus</i> (Otros)	2	2 (0,45)		
Levaduras	2	2 (0,45)	2	2 (0,46)
<i>Aspergillus</i>			1	1 (0,23)
Crecimiento mixto	6	6 (1,35)	10	9 (2,05)
Sin crecimiento	15	14 (3,16)	18	17 (3,88)
Contaminada	2	2 (0,45)	3	3 (0,68)
Sin muestras	22	17 (3,84)	19	18 (4,11)
Total	103 ^a	94 (21,2) ^a	139 ^b	127 (29,0) ^b

Subcolumna a, b, dentro de la misma línea, significa que los valores con superíndice distinto son distintos ($P < 0,05$).

Análisis de variables

- **Mamitis clínica.**

El número de casos de mastitis clínica y la proporción de vacas afectadas de mastitis clínica que aparecieron durante los primeros 100 días de lactación en cada grupo de tratamiento aparece descrito en la tabla 2. A nivel de vaca hubo significativamente menos mastitis clínicas por *E.coli* (13/443 frente a 26/438; $P=0,023$) y coliformes (14/443 frente a 31/438; $P=0,006$) en el grupo A. Igualmente hubo menos mastitis totales en el grupo A (94/443 frente a 127/438; $P=0,01$). A nivel de casos individuales existía una tendencia a aparecer menos mastitis clínicas por *S. uberis* en el grupo A (14/443 frente a 25/438; $P=0,10$); no había diferencias significativas entre otros gérmenes causantes de mastitis.

- **Recuento de células somáticas – éxito del tratamiento.**

No hubo diferencias significativas ($P=0,23$) entre el grupo A (122.000 células/ml; mediana=33.000) y el grupo B (109.000 células/ml; mediana=29.000) determinadas por el RCS-

POST (Mann-Whitney). Cuando se valoró el éxito del tratamiento, no hubo diferencias significativas entre los grupos (273/319 frente a 273/313; $P=0,63$). En 27 vacas del grupo A el RCS subió desde un valor inferior a 200.000 células /ml a un valor superior a éste, frente a 20 vacas del grupo B. La terapia antibiótica intramamaria en vacas secas no pudo reducir el RCS por debajo de 200.000 células /ml en 20 vacas de cada grupo.

- **Retirada de vacas de la prueba.**

Se retiraron cuarenta y seis vacas del estudio por desecho o fallecimiento; 21 del grupo A y 25 del grupo B. Se desecharon tres vacas a causa de una mastitis en el grupo A, y 11 en el grupo B. Las vacas del grupo B tenían una probabilidad significativamente mayor de ser desechadas por motivos relacionados con la mastitis que las vacas del grupo A (3/443 frente a 11/438; $P=0,05$).

Análisis de regresión lógica

- **Mamitis clínica.**

En las tablas 3, 4, 5 y 6 se muestran los modelos de mastitis. Las vacas del grupo B

Tabla 3: Modelo de regresión lógica al azar de las variables, para valorar la eficacia del producto A para reducir todas las mastitis clínicas.

Variable (n = 660)	Coefficiente	SE	Cociente de probabilidades	Intervalo de confianza del 95%	Valor P
Constante					
Factores de confusión	-3,68	0,72			
Explotación					
1	0,00	1,00			
2	1,24	0,49	3,46	1,33-9,00	0,011
3	0,44	0,49	1,55	0,59-4,08	0,375
4	1,58	0,49	4,84	1,86-12,61	0,001
5	0,62	0,51	1,86	0,69-5,03	0,221
8	0,61	0,49	1,85	0,70-4,87	0,215
9	-0,05	0,49	0,95	0,36-2,48	0,917
10	0,56	0,51	1,76	0,65-4,76	0,267
Estación					
Invierno	0,00	1,00			
Primavera	0,40	0,37	1,49	0,72-3,08	0,280
Verano	0,28	0,30	1,32	0,73-2,39	0,358
Otoño	0,44	0,29	1,55	0,88-2,72	0,126
Nº de partos					
2 y 3	0,00	1,00			
4 y 5	0,35	0,23	1,42	0,91-2,21	0,125
> 6	0,73	0,27	2,07	1,22-3,51	0,007
Log RCS-PRE	0,23	0,10	1,26	1,03-1,54	0,022
Variable de exposición					
Producto					
A	0,00	1,00			
B	0,33	0,19	1,39	0,95-2,04	0,086

RCS-PRE = Media geométrica de RCS antes del secado.

Tabla 4: Modelo de regresión lógica al azar de las variables, para valorar la eficacia del producto A para reducir las mamitis por *Escherichia coli*.

Variable (n = 660)	Coefficiente	SE	Cociente de probabilidades	Intervalo de confianza del 95%	Valor P
Constante Factores de confusión	-4,69	1,26			
Explotación					
1	0,00	1,00			
2	-1,76	1,16	0,17	0,02-1,70	0,133
3	-0,63	0,81	0,53	0,11-2,62	0,439
4	0,96	0,71	2,62	0,66-10,44	0,172
5	-1,70	1,18	0,18	0,02-1,84	0,149
8	-0,49	0,80	0,62	0,13-2,98	0,546
9	-0,08	0,68	0,92	0,24-3,49	0,904
10	0,23	0,73	1,25	0,30-5,21	0,756
Estación					
Invierno	0,00	1,00			
Primavera	1,21	0,61	3,36	1,01-11,14	0,048
Verano	0,38	0,57	1,47	0,48-4,48	0,499
Otoño	0,40	0,54	1,49	0,52-4,28	0,458
Nº de partos					
2 y 3	0,00	1,00			
4 y 5	0,31	0,43	1,23	0,44-2,41	0,942
> 6	0,69	0,47	1,99	0,78-5,02	0,148
Log RCS-PRE	0,21	0,19	1,26	0,84-1,79	0,279
Variable de exposición Producto					
A	0,00	1,00			
B	0,75	0,37	2,11	1,02-4,38	0,045

RCS-PRE = Media geométrica de RCS antes del secado.

Tabla 5: Modelo de regresión lógica al azar de las variables, para valorar la eficacia del producto A para reducir las mamitis clínicas por coliformes.

Variable (n = 660)	Coefficiente	SE	Cociente de probabilidades	Intervalo de confianza del 95%	Valor P
Constante Factores de confusión	-5,10	1,22			
Explotación					
1	0,00	1,00			
2	-1,21	0,90	0,30	0,05-1,75	0,180
3	-0,82	0,79	0,44	0,09-2,05	0,295
4	0,90	0,67	2,46	0,66-9,19	0,180
5	-1,12	0,92	0,33	0,06-1,99	0,227
8	-0,60	0,77	0,55	0,12-2,46	0,432
9	-0,27	0,65	0,77	0,21-2,73	0,680
10	0,05	0,70	1,06	0,27-4,16	0,938
Estación					
Invierno	0,00	1,00			
Primavera	1,53	0,58	4,63	1,47-14,54	0,009
Verano	0,49	0,56	1,63	0,55-4,86	0,379
Otoño	0,41	0,54	1,51	0,53-4,35	0,442
Nº de partos					
2 y 3	0,00	1,00			
4 y 5	-0,05	0,43	0,95	0,41-2,21	0,913
> 6	0,74	0,45	2,09	0,86-5,06	0,102
Log RCS-PRE	0,30	0,18	1,35	0,95-1,93	0,097
Variable de exposición Producto					
A	0,00	1,00			
B	0,76	0,36	2,13	1,05-4,32	0,036

RCS -PRE = Media geométrica de RCS antes del secado.

Tabla 6: Modelo de regresión logística al azar de las variables, para valorar la eficacia del producto A para reducir las mastitis clínicas no coliformes.

Variable (n = 660)	Coefficiente	SE	Cociente de probabilidades	Intervalo de confianza del 95%	Valor P
Constante					
Factores de confusión	-3,73	0,80			
Explotación					
1	0,00	1,00			
2	1,64	0,56	5,14	1,72-15,34	0,003
3	0,76	0,57	2,13	0,70-6,51	0,183
4	1,43	0,57	4,16	1,37-12,60	0,012
5	0,87	0,58	2,39	0,77-7,47	0,133
8	0,78	0,57	2,18	0,71-6,71	0,175
9	-0,14	0,60	0,87	0,27-2,80	0,814
10	0,60	0,60	1,82	0,57-5,87	0,313
Estación					
Invierno	0,00	1,00			
Primavera	0,02	0,43	1,02	0,44-2,36	0,966
Verano	0,29	0,33	1,33	0,70-2,55	0,386
Otoño	0,51	0,31	1,67	0,91-3,09	0,100
Nº de partos					
2 y 3	0,00	1,00			
4 y 5	0,45	0,25	1,56	0,96-2,54	0,072
> 6	0,74	0,29	2,09	1,18-3,70	0,011
Log RSC-PRE	0,16	0,11	1,18	0,95-1,46	0,138
Variable de exposición					
Producto					
A	0,00	1,00			
B	0,15	0,21	1,16	0,77-1,75	0,473

RCS-PRE = Media geométrica de RCS antes del secado.

tenían una probabilidad significativamente mayor de desarrollar una mastitis por *E.coli* (cociente de probabilidades=2,11; 95% CI=1,02 a 4,38; $P=0,045$) y mastitis por coliformes (cociente de probabilidades=2,13; 95% CI=1,05 a 4,32; $P=0,036$) pero no tenían mayor probabilidad de padecer una mastitis clínica provocada por otros gérmenes ($P=0,47$) que el grupo A. En el grupo A se detectó una tendencia ($P=0,086$) a padecer menos mastitis en general. La explotación, estación, número de partos y RCS-PRE fueron factores de confusión en algunos modelos individuales.

• **Recuento de células somáticas – éxito del tratamiento.**

No hubo diferencias significativas entre los dos grupos de tratamiento ($P=0,21$).

DISCUSIÓN

La incidencia y etiología de las mastitis clínicas registradas en estas explotaciones comerciales de vacuno lechero probablemente reflejan la media de las explotaciones de Gran Bretaña (Berry, 1998; Kossabati y col., 1998). El RCS de la leche en tanque relativamente bajo de estas explotacio-

nes explica la importancia relativa de los coliformes como causa de mastitis clínicas en ellas (Erskine y col., 1988), que fue un factor tenido en cuenta cuando se escogieron las explotaciones para este estudio. Nos disgustó el hecho de que a pesar de nuestras visitas periódicas a las explotaciones, no se tomaron muestras del 17% de los casos clínicos (detectado comparando las muestras recogidas y los registros de las explotaciones); esto habría reducido la fuerza del estudio, aunque se siguieron encontrando diferencias significativas. En este estudio no se empleó un verdadero control negativo “sin tratamiento”, porque se estimó inapropiado y falto de ética, a la vista de la eficacia probada de un tratamiento antibiótico en la vaca seca para prevenir las mastitis durante el periodo de secado (Smith y col., 1966). Este estudio es el primero en haber demostrado la eficacia clínica de un producto para el tratamiento antibiótico intramamario de vacas secas medida en función de la reducción de mastitis clínicas por Gram negativos en la lactación siguiente; las vacas del grupo B tenían el doble de probabilidades de padecer una mastitis por coliformes.

Además, apareció una fuerte tendencia a reducir la incidencia global de mamitis, lo que indica que los microorganismos no coliformes no reemplazaron a los coliformes, y que la dinámica de la mamitis había cambiado. Esto es de especial interés cuando se considera a los gérmenes patógenos oportunistas del ambiente, puesto que la eliminación de un germen del grupo de vacas sensibles puede permitir la colonización y la aparición de una enfermedad clínica provocada por otro. Este no fue el caso en este estudio, lo que sugiere que la eficacia contra las bacterias Gram positivas de los dos productos no es significativamente distinta. Se ha estimado que el coste medio de un caso clínico de mamitis es de 175,61 £ (Kossaibati, 2000); esto equivaldría a una reducción del coste por mamitis clínicas de 688,39 £ por cada 100 vacas /año en el grupo A, considerando solamente las mamitis coliformes.

En este estudio las mamitis clínicas por coliformes se redujeron aproximadamente en un 50% (con el producto A); en un estudio previo los autores (Bradley y Green, 2000) demostraron que el 52% de todas las mamitis clínicas por coliformes aparecidas durante los primeros 100 días de lactación se producían en cuarterones que habían adquirido la infección durante el período seco. Los resultados de los dos estudios coincidían y confirmaron la importancia del período seco en la epidemiología de la mamitis por coliformes. Sin embargo, nuestro estudio anterior (Bradley y Green, 2000) podría haber subestimado la importancia del período seco, puesto que la estrecha concordancia de las cifras sugeriría una eficacia del producto del 100%, lo que es improbable.

Se ha asumido que la mamitis clínica por *E.coli* aparece a consecuencia de la invasión, multiplicación rápida y manifestación clínica de la sintomatología, como se ha demostrado en la infección experimental (Erskine y col., 1993). También se ha asumido que *Escherichia coli* se comporta estrictamente como germen patógeno oportunista del ambiente (Nemeth y col., 1994), siendo todas las cepas igualmente capaces de colonizar la glándula y provocar la enfermedad clínica. Sin embargo, esto es improbable porque la terapia antibiótica de las vacas secas (que solamente dura hasta el parto) sólo puede influir en la mamitis clínica que se produce durante la lac-

tación, si es capaz de evitar la infección y la colonización a largo plazo de la glándula. Los autores (Bradley y Green, 2001b) demostraron recientemente la capacidad de algunas cepas de *E. coli* de mantener una colonización permanente de la glándula mamaria. Otra explicación podría ser que la reducción de la mamitis por coliformes fuese el resultado de algún otro cambio secundario, como un RCS persistentemente elevado en alguna vaca concreta. Este no fue el caso en este estudio, porque no hubo diferencias significativas en los RCS de los grupos, identificados como recuentos RCS-PRE y RCS-POST.

En un estudio como tal, es importante recordar el doble objetivo de la terapia de las vacas secas, concretamente curar las infecciones intramamarias existentes y prevenir la aparición de otras. En este estudio esto se midió registrando el RCS antes del secado y después del parto, y después monitorizando las desviaciones de RCS alrededor del nivel de 200.000 células /ml que se ha demostrado que guarda relación con la probabilidad de infección (Dohoo y Leslie, 1991). Con estas medidas no se detectaron diferencias significativas entre los dos grupos de tratamiento, lo que sugiere que ambos son igualmente adecuados para mantener un bajo RCS en leche, un factor importante porque los precios de la leche en Gran Bretaña están íntimamente ligados a los niveles de RCS de la leche de tanque.

La terapia antibiótica de las vacas solamente puede formar parte de un planteamiento más global del control sanitario de la ubre durante el período seco. A la larga, y en vista de las reservas sobre el uso preventivo de antibióticos en animales de producción, habrá que investigar planteamientos alternativos para minimizar el impacto del período seco (por ejemplo, sellantes de ubre) (Bradley y Green, 2000). A la vista de los resultados de este estudio, los clínicos veterinarios deberán reevaluar los criterios de selección de la terapia antibiótica en las vacas secas. Esto puede ser especialmente importante en explotaciones con bajos RCS en tanque donde el papel principal de la terapia antibiótica en las vacas secas es la prevención de nuevas infecciones intramamarias, y es probable que la mayoría de estas infecciones tengan su origen en el ambiente (y en particular en los coliformes).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen sinceramente la cooperación de los ganaderos y el personal de las explotaciones que participó en este estudio, así como al Langford Veterinary Investigation Centre por llevar a cabo la bacteriología.

Este trabajo ha sido financiado por Leo Animal Health UK Ltd. M. J. Green se financió con una beca de estudio BBSRC CASE. A.J. Bradley recibe la financiación de una beca de investigación donada por Wellcome Trust, London.

BIBLIOGRAFÍA

- Berry, E.A.** 1998. Mastitis incidence in straw yards and cubicles. *Vet. Rec.* 142:517-518.
- Booth, J. M.** 1997. Progress in mastitis control –an evolving problem. Pages 3-9 in British Mastitis Conference, Stoneleigh.
- Bradley, A.J., and M.J. Green.** 2000. A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. *J Dairy Sci.* 83:1957-1965.
- Bradley, A. J., and M. J. Green.** 2001a. The aetiology of clinical mastitis in a cohort of Somerset dairy herds. *Vet. Rec.*
- Bradley, A. J., and M. J. Green.** 2001b. Adaptation of *Escherichia coli* to the bovine mammary gland. *J. Clin. Microbiol.* 39:1845-1849.
- Dohoo, I. R., and K. E. Leslie.** 1991. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. *Prev. Vet. Med.* 10:225-237.
- Eberhart, R. J., and J. M. Buckalew.** 1977. Intramammary infections in a dairy herd with a low incidence of *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus* infections. *JAVMA* 171:630-634.
- Erskine, R. J., R. J. Eberhart, L. J. Hutchinson, S. B. Spencer, and M. A. Campbell.** 1988. Incidence and types of clinical mastitis in dairy herds with high and low somatic cell counts. *JAVMA* 192:761-765.
- Erskine, R.J., J. H. Kirk, J. W. Tyler, and F. J. DeGraves.** 1993. Advances in the therapy for mastitis. *Vet. Clin. North. Am. [Food Anim. Pract.]* 9:499-517.
- Green, M. J., and A. J. Bradley.** 1998. Coliform mastitis-an evolving problem. *Cattle Practice* 6:91- 94.
- Green, M. J., and A. J. Bradley.** 2000. Current knowledge and E. Coli mastitis-what can the practitioner do? *Cattle Practice* 8:243-248.
- Kleinbaum, D.G.** 1994. Logistic Regression. Statistics in Health Sciences. New York, Springer-Verlag, New York, NY.
- Kossaibati, M.A.** 2000. The costs of clinical mastitis in UK dairy herds. *Cattle Practice* 8:323-328.
- Kossaibati, M.A., M. Hovi, and R.J. Esselmont.** 1998. Incidence of clinical mastitis in dairy herds in England. *Vet. Rec.* 143:649-653.
- McDonald, J.S., and A.J. Anderson.** 1981. Experimental intramammary infection of the dairy cow with *Escherichia coli* during the nonlactating period. *AJVR* 42:229-231.
- Murphy, J.M., and J.J. Hanson.** 1943. Infection of the bovine udder with coliform bacteria. *Cornell Vet.* 33:61-77.
- Nemeth, J., C.A. Muckle, and C.L. Gyles.** 1994. In vitro comparison of bovine mastitis and fecal *Escherichia coli* isolates. *Vet. Microbiol.* 40:231-238.
- Oliver, S.P., and B.A. Mitchell.** 1983. Susceptibility of the bovine mammary gland to infections during the dry period. *J. Dairy Sci.* 66:1162-1166.
- Pearson, J.K.L.** 1950. The use of penicillin in the prevention of *C. Pyogenes* infection of the non-lactating udder. *Vet. Rec.* 62:166-168.
- Pearson, J.K.L.** 1951. Further experiments in the use of penicillin in the prevention of *C. Pyogenes* infection of the non-lactating bovine udder. *Vet. Rec.* 63:215-220.
- Quinn, P.J., M.E. Carter, B. Markey, and G.R. Carter.** 1994. *Clinical Veterinary Microbiology.* Wolfe, London.
- Smith, A., F. K. Neave, and F.H. Dodd.** 1966. Methods of reducing the incidence of udder infection in dry cows. *Vet. Rec.* 79:233-236.
- Smith, K.L., D.A. Todhunter, and P.S. Schoenberger.** 1985. Environmental pathogens and intramammary infection during the dry period. *J. Dairy Sci.* 68:402-417.
- Todhunter, D.A., K.L. Smith, J.S. Hogan, and P.S. Schoenberger.** 1991. Gram-negative bacterial infections of the mammary gland in cows. *AJVR* 52:184-188.