

**Efecto del tratamiento con penetamato
iohidrato sobre la curación bacteriológica, el
recuento de células somáticas y la producción
láctea de vacas y cuarterones con infección
subclínica crónica por *Streptococcus uberis* o
*Streptococcus dysgalactiae***

**Suzanne G St. Rose, Jantijn M Swinkels, Wim DJ
Kremer, Cas LJJ Kruitwagen y Ruth N Zadoks**

Journal of Dairy Research (2003) 70 387-394.

Efecto del tratamiento con penetamato iohidrato sobre la curación bacteriológica, el recuento de células somáticas y la producción láctea de vacas y cuarterones con infección subclínica crónica por *Streptococcus uberis* o *Streptococcus dysgalactiae*

Suzanne G St. Rose¹, Jantijn M Swinkels², Wim DJ Kremer¹, Cas LJJ Kruitwagen³ y Ruth N Zadoks¹

¹Departamento de Sanidad de Animales de Producción, Facultad de Veterinaria, Universidad de Utrecht, Yalelaan 7, 3584 CL Utrecht, Holanda

²Consulta Veterinaria VEO, Sluisweg 3, 1474 HL Oosthuizen, Holanda

³Centro de Bioestadística, Universidad de Utrecht, Padualaan 14, 3584 CH Utrecht, Holanda

Se realizó, en Holanda, un estudio de campo controlado y aleatorio para determinar la eficacia terapéutica del penetamato iohidrato parenteral (Mamyzin® Parenteral) en la mastitis crónica estreptocócica, de aparición natural, durante la lactación. Para determinar el efecto del tratamiento sobre la curación bacteriológica y el recuento de células somáticas (RCS) en los cuarterones se tomaron muestras de leche de cuarterones de casos subclínicos de mastitis causada por *Streptococcus uberis* o *Streptococcus dysgalactiae*. Se consideró que un cuarterón estaba curado cuando la bacteria aislada antes del tratamiento no se detectaba en las muestras extraídas de la leche de los cuarterones los días 10 y 20 posteriores al tratamiento (curación bacteriológica) o cuando el RCS de la leche de los cuarterones (RCSLC) era <250.000 células/ml los días 10 y 20 posteriores al tratamiento (curación RCS). El efecto del tratamiento antibiótico sobre el RCS y la producción láctea en las vacas se estudió con un análisis de datos longitudinal. La curación bacteriológica se produjo en un 59% de los 29 cuarterones tratados, mientras que no se observó curación en ninguno de los 21 cuarterones del grupo

control no tratado. El tratamiento produjo una disminución significativa del RCS en las vacas y cuarterones en comparación con los controles no tratados. No hubo un efecto significativo del tratamiento sobre la producción láctea. El tratamiento antibacteriano de infecciones estreptocócicas subclínicas durante la lactación también evitó la mastitis clínica. Además, el tratamiento puede contribuir a la reducción del RCS de la leche del tanque colectivo y a la prevención de la dispersión del patógeno en rebaños lecheros.

Palabras clave: Mastitis, antibiótico, parenteral.

La mastitis subclínica es una de las principales causas de pérdidas económicas en muchas explotaciones lecheras. Las pérdidas se deben a los elevados recuentos de células somáticas (RCS) que presentan las vacas infectadas y por la pérdida de producción de leche asociada (Hortet & Seegers, 1998). Además, si en el rebaño hay un gran número de vacas infectadas, es posible que el valor del RCS de la leche del tanque colectivo (RCSLT) sea elevado. Esto puede acarrear pérdidas económicas adicionales, puesto que las autoridades reguladoras supervisan la calidad de la

leche para determinar si es adecuada para el consumo humano y, además, porque las plantas comerciales de embotellamiento y procesado aplican penalizaciones a la leche con RCS elevados (Tyler *et al.* 1992). La reducción del RCS del rebaño es uno de los principales objetivos de los programas de control de la mamitis (Rosenberg *et al.* 2002). Una forma de cumplir los requisitos del RCSLT es el sacrificio selectivo de vacas con infecciones crónicas, aunque esta opción es costosa. El tratamiento de vacas con mamitis subclínica es otra forma de reducir la duración y el número de infecciones, pero el tratamiento en sí mismo es también una causa de pérdidas económicas, la mayoría de las cuales se deben a la producción perdida a consecuencia de la leche desechada a raíz de la administración del tratamiento antibiótico (Costa *et al.* 1998). A su vez, debemos sumar los costes del tratamiento antibiótico y los riesgos de penalización por los residuos de antibiótico en la leche. Por tanto, para que sea rentable, los beneficios del tratamiento deben compensar los costes del tratamiento.

Streptococcus dysgalactiae y *Streptococcus uberis* se encuentran entre las principales causas de mamitis subclínica en muchos países de producción lechera (Bramley, 1984; Todhunter *et al.* 1995). Ambos patógenos pueden encontrarse en el entorno de la vaca y causar la denominada “mamitis ambiental” (Leigh, 1999; Smith & Hogan, 1993). Las ubres de vacas infectadas son otra posible fuente de infección (Neave *et al.* 1966; Fox & Gay, 1993; Zadoks *et al.* 2001). La prevalencia y la incidencia de infecciones pueden reducirse mediante el manejo adecuado del rebaño o mediante la curación bacteriológica de infecciones tras el tratamiento antibiótico. Los porcentajes de curación bacteriológica tras el tratamiento durante la lactación generalmente son elevados y se sitúan en un 60-90% en el caso de las infecciones con ambos patógenos (Bramley, 1984; Sandholm *et al.* 1990; Wilson *et al.* 1999). Por tanto, cabe esperar un efecto beneficioso del tratamiento de la mamitis subclínica sobre la prevalencia de infección en el rebaño y por tanto sobre el RCSLT. Este efecto puede ser directo, mediante la curación del animal tratado, e indi-

recto, mediante la prevención de nuevas infecciones (Cattell, 1996; Robinson *et al.* 1985). No obstante, se sabe poco sobre el efecto del tratamiento de la mamitis estreptocócica subclínica sobre la calidad de la leche, así como la cantidad, en la vaca. Esta información es necesaria para realizar una valoración minuciosa del beneficio económico del tratamiento.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del tratamiento con penetamato iohidrato (Mamyzin® Parenteral), un profármaco de la benzilpenicilina, sobre las infecciones subclínicas crónicas causadas por *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus uberis* durante la lactación. Los efectos del tratamiento antibiótico parenteral sobre el recuento de células somáticas de la leche de vaca (RCSLV) y la producción láctea se determinaron mediante un análisis de datos longitudinal (o análisis basado en una variable medida para un mismo individuo en diversos puntos de tiempo). Además, el éxito del tratamiento en los cuarterones se evaluó mediante la curación bacteriológica y la disminución del RCS de los cuarterones tratados y no tratados.

Materiales y métodos

Rebaños

El estudio se realizó de febrero a septiembre de 1996 y participaron 39 explotaciones lecheras. Las granjas estaban situadas en la zona de prácticas de la Facultad de Veterinaria de Utrecht, Holanda. La mayoría de los rebaños se mantuvieron confinados en establos abiertos desde febrero hasta abril/mayo y pastaron desde abril/mayo a septiembre. Dos rebaños se mantuvieron en establos cerrados. El tamaño del rebaño fue de 16-120 vacas. Inicialmente se incluyeron 70 vacas en el estudio.

Criterios de inclusión

Las vacas incluidas en el estudio tenían que cumplir todos los criterios siguientes: (1) ser de raza Holstein-Friesian, Holstein-Friesian x Friesian-Holstein o de raza Meuse-Rhine-Yssel; (2) periodo de lactación menor de 200 días en el momento de la inclusión; (3) últimas dos determinacio-

nes del RCSLV > 500.000 células/ml; (4) mismas bacterias aisladas (*Str. uberis* o *Str. dysgalactiae*) de dos muestras consecutivas de leche del mismo cuarterón previas al tratamiento; (5) un máximo de tres cuarterones infectados; (6) esperanza de vida en la granja y periodo de lactación posterior al tratamiento de como mínimo 3 meses después de la inclusión en el ensayo. Los registros del Sindicato Holandés de Ganado (NRS, Arnhem, Holanda) proporcionaron los datos relativos a la etapa de lactación y al RCSLV previo al tratamiento puesto que estos datos se recogían rutinariamente cada 3-4 semanas para todas las vacas de las explotaciones participantes.

Crterios de exclusión

Quedaron excluidas las vacas con: (1) una temperatura rectal >39,5°C y una frecuencia cardiaca >100 latidos/min en la exploración clínica previa al tratamiento; (2) algún trastorno clínico que había requerido tratamiento en los últimos 4 días antes de la admisión en el ensayo; (3) una lesión de la ubre en las últimas 2 semanas antes de la inclusión; (4) mamitis clínica en las últimas 2 semanas antes de la inclusión; (5) tratamiento antibiótico y/o corticoide en las últimas 2 semanas antes de la inclusión; (6) durante el ensayo, alguna enfermedad, incluyendo mamitis clínica, que requiriese tratamiento y que se sospechara pudiera afectar las determinaciones finales; (7) un registro inadecuado de los datos de las vacas en las hojas de registro durante el periodo del ensayo de aproximadamente 90 días; o si (8) el granjero decidió retirar la vaca del ensayo.

Distribución aleatoria y tratamiento de las vacas

En cada granja, las vacas que cumplían los criterios de inclusión se asignaron aleatoriamente al grupo que iba a recibir el tratamiento (grupo tratamiento) o al grupo que no recibiría tratamiento (grupo control). Para la distribución aleatoria de las vacas, se utilizó una serie de sobres numerados consecutivamente, cada uno de los cuales contenía un papel en el que se especificaba 'Mamyzin® Parenteral' o 'Control'. Los números en los sobres se generaron mediante una tabla de números aleatorios. Tras la inclusión de una

vaca, se abría el primer sobre disponible. Se anotó el número del sobre, el número de la vaca, la edad de la vaca, el número de lactación, la fecha del último parto y si iba a recibir o no tratamiento.

El tratamiento fue una inyección intramuscular de penetamato iohidrato (Mamyzin® Parenteral, Boehringer Ingelheim). El antibiótico se obtuvo de fuentes comerciales en forma de polvo seco y se administró en forma de suspensión acuosa. La administración de Mamyzin® Parenteral se realizó de acuerdo con las instrucciones del etiquetado y los procedimientos normalizados de trabajo facilitados por el fabricante a los investigadores y los granjeros. Las vacas en el grupo de tratamiento recibieron Mamyzin® Parenteral por vía intramuscular durante 3 días consecutivos. Las inyecciones se practicaron en la zona del cuello con una jeringa de 30 ml y una aguja de 18 G x 25 mm, alternando el lado del cuello en cada tratamiento consecutivo. El día 1, se administró una dosis de 15 mg/kg de peso corporal y los días 2 y 3 se administraron 5 g por vaca (5 g de penetamato iohidrato equivalen a $5,0 \times 10^6$ u.i. de penicilina G). El peso corporal se estimó mediante una cinta métrica combinada Rondo® (para ganado y cerdos). La circunferencia torácica se midió en el punto del codo y la lectura del peso vivo en kilogramos se realizó a partir de la cinta. Como consecuencia del protocolo de tratamiento, todos los cuarterones infectados en una vaca recibieron el mismo tratamiento. Las vacas en el grupo control no recibieron tratamiento.

Toma de muestras de leche

Se tomaron muestras de calostro de todos los cuarterones de las vacas elegibles 4 días antes del tratamiento, el día del tratamiento (día 0) antes de la administración del antibiótico y 10 y 20 días después del tratamiento. Las muestras se utilizaron para el cultivo bacteriológico y la determinación de RCS de la leche de cuarterones (RCSLC). Antes de la toma de muestras, los extremos de las ubres se limpiaron con algodón humedecido con alcohol metilado y los 2-3 primeros chorros de leche se desecharon. En primer lugar, se tomaron muestras (de aproximadamente 3-4 ml) para el cultivo bacteriológico. A

continuación, se tomaron muestras adicionales (de aproximadamente 10 ml) por separado para la determinación del RCSLC. Tras la recolección, las muestras de leche se transportaron al laboratorio a 5°C.

Procedimientos de laboratorio

Las muestras de leche se cultivaron inmediatamente o se conservaron (4-5°C) y se cultivaron antes de 24 h. El cultivo bacteriológico y la identificación se llevaron a cabo de acuerdo con los estándares del Consejo Nacional de Mamitis (Harmon et al. 1990). En suma, una muestra de leche de 0,01 ml se cultivó en agar de sangre bovina al 6% (en condiciones aerobias y anaerobias), en agar de sulfato de talio, cristal violeta y toxina beta de *Staphylococcus* (Merck, Darmstadt, Alemania) y en agar MacConkey Número 3 (Oxoid, Basingstoke, Inglaterra). Las placas se incubaron a 37°C y el crecimiento bacteriano se midió después de 24 h y 48 h. Si la primera prueba bacteriológica resultaba negativa, las muestras de leche se incubaban a 37°C durante 24 h y se volvían a cultivar. La muestra se consideró contaminada si se detectaban tres o más especies diferentes de bacterias a partir de una sola muestra.

Los cultivos gram-positivos se diferenciaron con la prueba de la catalasa. Las cepas catalasa positivas se consideraron micrococos. *Staphylococcus aureus* y los micrococos coagulasa negativos se diferenciaron utilizando la prueba de la coagulasa en tubo (Difco, Detroit, EE.UU.). Las cepas catalasa negativas se consideraron estreptococos y se identificaron mediante la reacción de Christie Atkins Munch-Petersen (CAMP), catalasa, bilis de buey al 40%, esculina e hipurato de sodio. Las cepas gram-negativas se identificaron utilizando citocromo oxidasa, agar triple azúcar hierro, urea, indol, ornitina descarboxilasa, reducción de nitrato y liquefacción de gelatina. No se ensayó la sensibilidad al penetamato iohidrato en las muestras bacterianas.

El Centro de Control de Calidad de la Leche (*Slichting Melkcontrolestation Nederland*, Zutphen, Holanda) determinó el RCSLC el día del muestreo utilizando un aparato Fossomatic (Fossomatic 400 Series, Tipo 72100, Foss Electric,

Hillerad, Dinamarca). Los datos sobre el RCSLV y la producción láctea después del tratamiento se obtuvieron a partir de los registros del Sindicato Holandés de Ganado. Los registros se obtuvieron durante un periodo de hasta 14 semanas antes del tratamiento y 14 semanas después del tratamiento. Los datos del RCSLC y del RCSLV se utilizaron para el análisis estadístico en los cuarterones y las vacas, respectivamente.

Definición de curación

Se utilizaron dos definiciones de curación. Para la definición I (curación bacteriológica), un cuarterón se consideró curado cuando las especies bacterianas (aisladas antes del tratamiento) no se aislaban de las muestras de leche de cuarterones tomadas el día 10 y el día 20 después del tratamiento. Para la definición II (curación RCS), un cuarterón se consideró curado cuando el RCSLC era <250.000 células/ml los días 10 y 20 después del tratamiento. En todos los demás casos el cuarterón no se consideró curado.

Análisis estadísticos

Antes del análisis estadístico, se comprobó si faltaban valores en las observaciones, en cuyo caso dichas observaciones se eliminaron posteriormente del análisis. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante S-PLUS 2000 para Windows, Math-soft Inc., Seattle, WA, EE.UU. Para determinar que los grupos de tratamiento y control no eran significativamente diferentes en la inclusión, antes del tratamiento se realizó una comparación basal de las características de las vacas incluidas en los grupos de tratamiento y control. Los datos del RCSLV se normalizaron mediante una transformación logarítmica (para obtener el LNRCs de la vaca) (Allore et al. 1998). Las diferencias en las medias del LNRCs y la producción láctea de la vaca, la etapa de lactación (días en leche) y el número de lactación (parto) entre los grupos se evaluaron utilizando la prueba de t agrupada. El número de lactación se trató como una variable continua. Para determinar diferencias en la distribución de la etapa de lactación para los grupos tratamiento y control se utilizó la prueba Kolmogorov-Smirnov. La prueba exacta de Fisher se utilizó para determinar la

diferencia en el número total de vacas retiradas del estudio y la diferencia en el número de vacas que desarrollaron mamitis clínica durante el ensayo para los grupos tratamiento y control. La significación estadística se estableció en $P < 0,05$.

En primer lugar, se analizó el efecto del tratamiento a nivel de vaca. Se utilizaron modelos mezclados para determinar la influencia de efectos fijos (tratamiento y tiempo) y efectos aleatorios (granja y vaca) sobre el LNRCS y la producción láctea de la vaca. También se examinó la interacción entre el tratamiento y el tiempo. Los procedimientos permitieron el ajuste de la supuesta ausencia de independencia entre las determinaciones del RCS y la producción láctea entre vacas y granjas (McDermott & Schukken, 1994). Los modelos para los efectos fijos y aleatorios se establecieron utilizando los métodos de la probabilidad máxima y de la probabilidad máxima restringida, respectivamente. Se examinaron diversas estructuras de varianza y correlación para obtener el mejor modelo. Las estructuras de varianza se utilizaron para corregir la heterogeneidad de los residuales. Las estructuras de correlación se exploraron para contribuir a valorar cualquier correlación adicional que no se

hubiese tenido en cuenta después de considerar los efectos aleatorios. El mejor modelo se determinó basándose en los valores logarítmicos de probabilidad.

En segundo lugar, se analizó el efecto del tratamiento en las ubres de los cuarterones individuales. Para evaluar la eficacia del tratamiento antibiótico sobre la curación bacteriológica y la curación del RCSLC de los cuarterones individuales se utilizó la regresión logística. La variable dependiente fue binomial (curación=1; no curación=0), al igual que la variable independiente (tratamiento=1; no tratamiento=0). Las especies bacterianas, la etapa de la lactación, el número de lactación, la localización del cuarterón (anterior frente a posterior) y el LNRCS del cuarterón justo antes del tratamiento se incluyeron en el análisis como covariables. Al igual que para los datos del RCSLV, los datos del RCSLC antes del tratamiento se normalizaron mediante una transformación logarítmica (para obtener el LNRCS del cuarterón justo antes del tratamiento) (Allore et al. 1998). La etapa de la lactación se clasificó en lactación inicial (0-100 días) y media (101-200 días). El LNRCS del cuarterón se trató como una variable continua. Todas las demás variables se evaluaron

TABLA 1. Comparaciones iniciales previas al tratamiento para los grupos tratamiento y control. Los valores son medias \pm DE para $n = 30$ (grupo tratamiento) y 25 (grupo control)

Variable	Grupo tratamiento	Grupo control
Producción láctea diaria de la vaca en el último test (kg/vaca)	30,5 \pm 7,5	31,9 \pm 8,2
LNRCS de la vaca en el último test (células/ml leche)	7,1 \pm 0,5	7,1 \pm 0,6
Etapa de la lactación (días en leche)	122,2 \pm 40,4	110,4 \pm 46,5
Número de lactación	4,1 \pm 1,8	4,4 \pm 2,0

No se observaron diferencias significativas entre los grupos tratamiento y control ($P > 0,05$).

utilizando la categorización de los datos. La significación estadística se estableció en $P < 0,05$.

Resultados

Estadística descriptiva y analítica

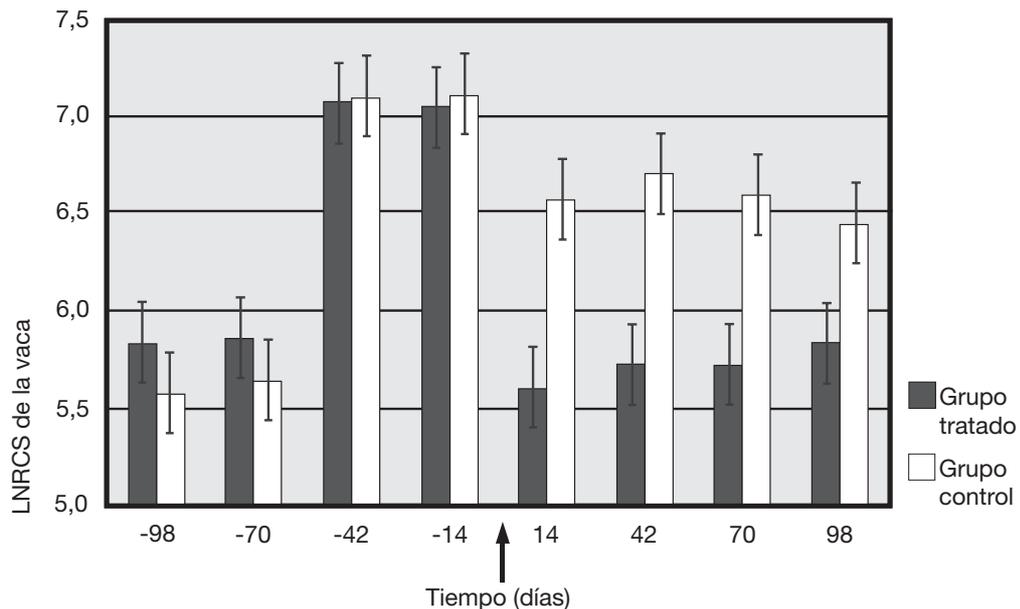
Un total de 90 cuarterones en 70 vacas fueron elegibles para su inclusión en el ensayo de campo. Se realizaron comparaciones en los valores previos al tratamiento para los grupos tratamiento y control (Tabla 1). No hubo diferencias entre los grupos para la producción láctea de la vaca, el RCS en la vaca, la etapa de lactación y el número de lactación. La distribución de la etapa de lactación para el grupo tratamiento no fue diferente de la del grupo control.

De las 70 vacas incluidas inicialmente en el ensayo, 21,4% (15/70) se retiraron debido a las contradicciones en el tipo de bacterias aisladas, por desarrollo de cojera que requirió tratamiento, o por incumplimiento del protocolo. La diferencia numérica en el número de vacas retira-

das de los grupos tratamiento y control fue grande (4/34 para las vacas tratadas frente a 11/36 para las vacas control), pero no estadísticamente significativa ($P = 0,08$). El número de vacas que desarrollaron mastitis clínica durante el ensayo fue menor para el grupo tratamiento que para el grupo control (0/34 para las vacas tratadas frente a 6/36 para las vacas control; $P = 0,03$). Para el análisis estadístico se disponía de los datos de 30 vacas tratadas y 25 vacas control.

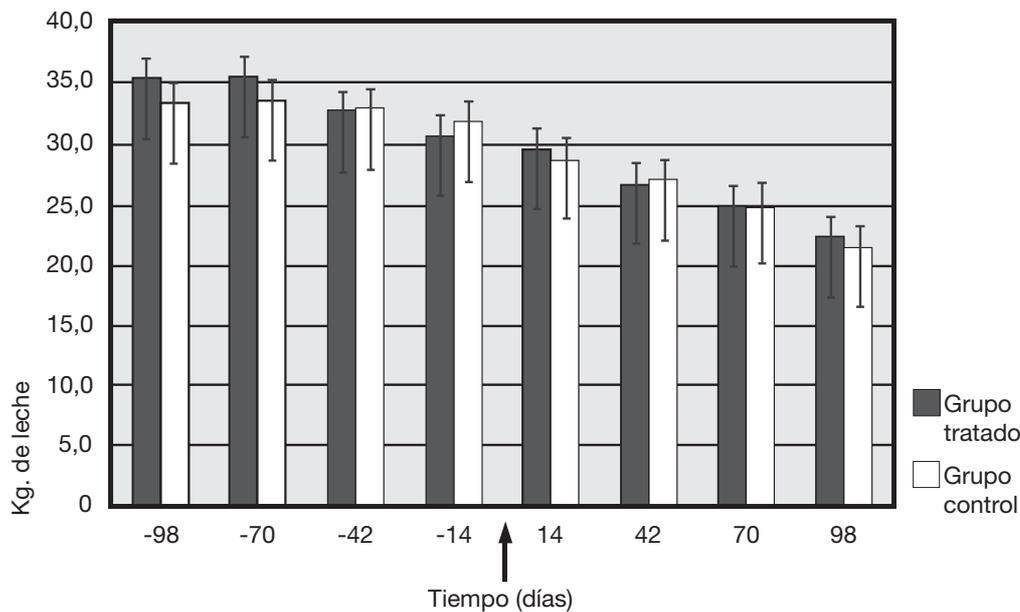
No hubo diferencia ($P = 0,63$) en el número de cuarterones retirados del grupo tratamiento (19/49; 38,8%) y el grupo control (13/41; 31,7%). Cincuenta y ocho cuarterones de 55 vacas en 39 granjas fueron elegibles para su inclusión en el análisis de los datos. El grupo tratamiento estaba formado por 30 cuarterones y el control por 28 cuarterones. Dado que no se disponía de la información completa de todos los cuarterones, en algunos análisis se utilizaron menos observaciones (véase más adelante).

FIGURA 1



LNRCs de la vaca antes y después del tratamiento de mastitis subclínica crónica causada por *Str. uberis* o *Str. dysgalactiae* para animales tratados (barras negras) y controles no tratados (barras blancas). La flecha indica el punto de tiempo (Tiempo ↑ = día 0) en el que se administró el tratamiento.

FIGURA 2



Producción láctea de la vaca antes y después del tratamiento de mamitis subclínica crónica causada por *Str. uberis* o *Str. dysgalactiae* para animales tratados (barras negras) y controles no tratados (barras blancas). La flecha indica el punto de tiempo (Tiempo \uparrow = día 0) en el que se administró el tratamiento.

Efecto del tratamiento sobre la vaca

El efecto del tratamiento sobre el LNRCs de la vaca para los grupos tratamiento y control se refleja en la Fig. 1. El modelo que mejor se ajusta para el LNRCs de la vaca se determinó basándose en el valor de la menor probabilidad logarítmica, suponiendo una estructura de correlación autorregresiva o AR (1) y diferentes varianzas en cada punto de tiempo. El tratamiento produjo una disminución del LNRCs de la vaca en comparación con los controles no tratados ($P=0,01$). Hubo una interacción significativa entre el tiempo y el tratamiento ($P=0,01$), esto es, el cambio en el LNRCs de la vaca con el tiempo fue diferente entre los grupos control y tratamiento.

La Figura 2 muestra el efecto del tratamiento sobre la producción láctea de la vaca. Para la producción láctea de la vaca, al igual que para el LNRCs de la vaca, se utilizó un modelo que supone una estructura de correlación AR (1) y diferentes varianzas en cada tiempo para determinar el efecto de las variables explicativas. El tratamiento no tuvo un efecto

global significativo ($P=0,65$) sobre la producción láctea de la vaca. Se produjo una disminución de la producción láctea de la vaca con el tiempo ($P<0,01$). No se observó una interacción significativa entre el tiempo y el tratamiento ($P=0,18$) lo que indica que la disminución con el tiempo era similar para los dos grupos de tratamiento.

Efecto del tratamiento sobre el cuarterón

La proporción de curación bacteriológica fue de 58,6% (17/29) para el grupo tratamiento y de 0% (0/21) para el grupo control. La curación RCS se basó en 51 cuarterones y fue de 20% (6/30) y de 0% (0/21) para los grupos tratamiento y control, respectivamente. Ninguno de los cuarterones se recuperó espontáneamente sin tratamiento. El tratamiento aumentó la curación bacteriológica y la curación RCS ($P<0,01$; Tabla 2). Los cuarterones de animales en lactación media presentaron una menor tendencia a curarse que los cuarterones de animales en lactación inicial. Ninguna de las otras covariables fue significativa como indicativa de curación bacteriológica o RCS en el análisis multifactorial (Tabla 2).

TABLA 2. Efecto del tratamiento con penetamato hioidrato y las características de la infección en la curación determinado por análisis unifactorial y multifactorial.

Variable dependiente	Variable explicativa	Análisis unifactorial	Análisis multifactorial
Curación bacteriológica	Tratamiento	+**	+**
	LNRCs el día 0	-*	0
	Especie bacteriana	0	0
	Número de lactación	-*	0
	Etapa de la lactación	0	-*
	Cuarterón anterior v. posterior	0	0
Curación RCS	Tratamiento	+**	+**
	LNRCs el día 0	-*	0
	Especie bacteriana	0	0
	Número de lactación	0	0
	Etapa de la lactación (días en leche)	0	0
	Cuarterón anterior v. posterior	0	0

+: Asociación positiva

-: Asociación negativa

0: Sin asociación

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

DISCUSION

Efecto del tratamiento sobre el cuarterón

El porcentaje de curación bacteriológica (CB) de mamitis subclínica causada por *Str. uberis* y *Str. dysgalactiae* fue de 58,6% para los cuarterones de vacas que recibieron tratamiento parenteral, mientras que no se curó ninguno de los cuarterones en el grupo control. Esto muestra que el tratamiento antibiótico parenteral fue eficaz en la reducción de la duración y prevalencia de la infección intramamaria. La CB obtenida en este estudio fue menor que la descrita por otros autores. Se han publicado porcentajes de curación bacteriológica de 82-91%, 90-98% y 50-100% para *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae* y “estreptococos ambientales”, respectivamente (Bramley, 1984; Owens *et al.* 1997; McDougall, 1998; Wilson *et al.* 1999). Es difícil comparar los resultados de ensayos de tratamiento, ya que los procedimientos de diagnóstico, los protocolos de tratamiento, el diseño del estudio y las definiciones de curación difieren entre los estudios. Todos los estudios citados anteriormente (Bramley, 1984; Owens *et al.* 1997; McDougall, 1998; Wilson *et al.* 1999) utilizaron tratamiento intramamario para evaluar la eficacia del fármaco. La comparación es difícil debido a que en nuestro estudio, en lugar del tratamiento intramamario, se optó por el tratamiento parenteral.

Una diferencia considerable entre nuestros resultados y los obtenidos por la mayoría de los autores es que en nuestro ensayo no se observó recuperación espontánea en animales no tratados, mientras que otros autores han descrito porcentajes de curación espontánea de 38,5-73,2% (Smith *et al.* 1985; Wilson *et al.* 1999, McDougall, 1998). Todas las vacas incluidas en nuestro estudio tenían antecedentes de aumento prolongado del RCS, lo que indica una infección intramamaria crónica. Gillespie *et al.* (2002) tampoco han descrito curación espontánea entre las vacas con infecciones estreptocócicas subclínicas crónicas. Nosotros elegimos estudiar específicamente las infecciones crónicas porque, en la práctica, la mayoría de las infecciones subclínicas serán cró-

nicas en el momento en que se detecten, ya que la detección se basa en aumentos repetidos del RCS medidos a intervalos de 3-4 semanas. Otros autores (Smith et al. 1985; McDougall, 1998) pueden haber incluido vacas con infecciones recientes y algunas de estas infecciones pueden haberse curado solas. La diferencia observada en la recuperación espontánea también puede explicar el menor valor detectado en nuestro estudio de la CB tras el tratamiento en comparación con otros estudios: en otros ensayos, la recuperación espontánea habría contribuido al porcentaje de curación en el grupo de tratamiento mientras que en nuestro estudio no se produjo esta situación.

La mayoría de las infecciones intramamarias por *Str. uberis* son subclínicas (Jayarao et al. 1999; Zadoks et al. 2003). Las infecciones subclínicas pueden empeorar y desencadenar una mamitis clínica. En nuestro estudio, la retirada debida a episodios clínicos de mamitis fue mayor en el grupo control que en el grupo tratamiento. Por tanto, el tratamiento de la mamitis subclínica disminuyó la incidencia de mamitis clínica y redujo la necesidad de tratamiento antibiótico adicional.

Estudios sobre *Staphylococcus aureus* muestran que el nivel del RCS antes del tratamiento, el número de parto, la etapa de lactación, la localización del cuarterón y el número de cuarterones infectados son factores de riesgo significativos para el éxito del tratamiento (Sol et al. 1997). En nuestro estudio, las vacas en lactación media presentaron una CB menor que las vacas en la etapa inicial de la lactación. Esto puede deberse a una mayor duración de las infecciones en las vacas cuyo periodo de lactación ha sido más prolongado. Ningún otro factor de la vaca o del cuarterón fue estadísticamente significativo, lo que puede ser el resultado de la ausencia de asociaciones biológicas o de la falta de potencia estadística. Otros autores (Bramley, 1984; Owens et al. 1997; McDougall, 1998; Wilson et al. 1999) no consideraron la influencia de las características de la vaca o del cuarterón sobre el efecto del tratamiento. Se propone que, en estudios posteriores, se tengan en cuenta las características de la vaca y del cuarterón, preferentemente definidas de forma estandarizada, para permitir así una mejor

comparación e interpretación de los resultados entre los diferentes estudios.

Para el grupo tratamiento se obtuvo un porcentaje de curación RCS del 20%. La curación RCS fue menor que la CB, lo que indica una lesión residual en algunos cuarterones curados bacteriológicamente. Se sabe que incluso después de que se haya eliminado un agente infeccioso, el RCS puede permanecer elevado durante largo tiempo (Deluyker et al. 1993).

Además de un efecto sobre el cuarterón, el tratamiento antibiótico puede tener un efecto beneficioso en el rebaño porque la curación de la infección previene la dispersión de la infección a otros cuarterones o vacas. *Str. dysgalactiae* ha sido descrito con frecuencia como un patógeno contagioso (Fox & Gay, 1993; Leigh, 1999) y se han atribuido a la transmisión vaca a vaca brotes de mamitis causados por *Str. uberis* (Cattell, 1996; Zadoks et al. 2003). No está claro en qué grado la transmisión ambiental de mamitis estreptocócica podría limitarse por la curación de los cuarterones infectados. Si el entorno está contaminado a causa de las deposiciones, tal y como describe Bramley (1984), el tratamiento de infecciones de la ubre no tendrá impacto sobre la exposición ambiental. Sin embargo, si el entorno está contaminado por vertido de leche infectada (Zadoks et al. 2001), el tratamiento antibiótico puede ser beneficioso en la reducción de la contaminación estreptocócica del entorno.

Efecto del tratamiento sobre la vaca

Aunque el porcentaje de cuarterones con RCS <250.000 células/ml fue bajo, en los grupos tratamiento y control se observó una reducción en el LNRCs de la vaca. El LNRCs de la vaca fue considerablemente menor en vacas tratadas que en vacas no tratadas. El tratamiento de la infección estreptocócica subclínica fue por tanto mejor que la ausencia de tratamiento en la reducción de la inflamación del tejido intramamario. En vacas con RCS elevados (Rosenberg et al. 2002) e infecciones por *Str. dysgalactiae* (Shephard et al. 2000) se han obtenido resultados similares. Incluso en las vacas no tratadas, se observó una disminución del LNRCs con el tiempo. Una posi-

ble explicación para esta disminución es que en los cuarterones infectados la producción láctea disminuye y que esta pérdida queda compensada parcialmente por los cuarterones no infectados (Woolford, 1985). Por tanto, la leche con un RCS elevado de un cuarterón infectado se sustituiría de manera efectiva por leche con un RCS bajo de cuarterones no infectados, por lo que el RCS de la vaca disminuiría. El RCS es importante para el ganadero ya que es el RCS antes que la infección bacteriana de la ubre lo que se utiliza rutinariamente en la industria de procesamiento de la leche como medida de la calidad de la leche.

El tratamiento antibiótico no aumentó la producción láctea. Teniendo en cuenta la gran variabilidad inherente en la producción láctea en una misma vaca y entre vacas, si al estudio le faltara la potencia suficiente, es posible que no se detectara una diferencia en la producción entre los grupos tratamiento y control. No obstante, otros autores publicaron una ausencia similar de aumento en la producción láctea. Según McDermott *et al.* (1983), no hubo una respuesta positiva sobre la producción láctea cuando se trataron con antibióticos vacas con mamitis subclínica y un RCS de 400.000 células/ml o superior. Wheelock *et al.* (1966) y Smith *et al.* (1968) observaron que la producción láctea de cuarterones infectados experimentalmente permanecía reducida a lo largo de la lactación al eliminar la infección, ya fuese de forma espontánea o mediante tratamiento antibiótico. Además, la recuperación de la producción en la lactación siguiente era incompleta. La ausencia de un aumento en la producción láctea en animales tratados respecto a los animales control indica que los tejidos secretores de leche no volvieron a la normalidad aun después del tratamiento antibiótico, posiblemente debido a una involución y fibrosis del tejido de la ubre, que resulta en una pérdida de epitelio secretor que se hace patente tan sólo una semana después de la infección estreptocócica (Thomas *et al.* 1994). Parece que el principal beneficio del tratamiento de la mamitis subclínica reside en la prevención de la mamitis clínica a nivel individual y la prevención de la dispersión del patógeno en el rebaño, más que

en una reducción del RCS o un aumento de la producción láctea.

Hoy en día, el papel de los antibióticos en la agricultura se está evaluando. Se cree que cualquier uso de antibióticos fomenta la posibilidad de desarrollar bacterias resistentes a antibióticos. Por este motivo, se hace un llamamiento para reducir el uso de antibióticos (Isaacson & Torrence, 2002; McEwen & Fedorka-Cray, 2002). Se puede hacer un uso prudente de los antibióticos si se eligen las vacas y los cuarterones correctos para el tratamiento (Sol *et al.* 2000). La presencia de un RCS elevado no debe ser el único criterio para iniciar el tratamiento de las vacas con antibióticos. En este estudio, no se curaron todas las vacas y cuarterones. Probablemente, el porcentaje de curación habría mejorado con una selección más rigurosa de los ejemplares. Deben desarrollarse los criterios de selección para el tratamiento de la mamitis estreptocócica, tal y como se ha hecho en el caso de la mamitis estafilocócica (Sol *et al.* 1994, 1997). Además, cuando el tratamiento se reserva sólo para las vacas seleccionadas, se podría realizar una mayor inversión en el tratamiento, es decir, un tratamiento más prolongado. Gillespie *et al.* (2002) mostraron que el tratamiento prolongado proporciona unos porcentajes de curación mayores que el tratamiento corto, y por tanto, los porcentajes de curación no sólo dependen de las características de la vaca y la sensibilidad al antibiótico, sino también de los días de tratamiento. Se subraya no obstante que los beneficios económicos del tratamiento prolongado deben valorarse frente a los costes. El tratamiento no tiene que ser necesariamente parenteral; tal y como apuntan Hillerton & Kliem (2002), en el caso de la mamitis clínica aguda causada por *Str. uberis*, el antibiótico intramamario puede ser más eficaz por gramo de fármaco utilizado. No obstante, esta conclusión debe todavía contrastarse en el caso de la mamitis estreptocócica subclínica crónica.

Dos factores importantes en la selección de los casos a tratar que no se evaluaron en este estudio son la resistencia a los antibióticos y los signos de mamitis crónica. La sensibilidad de los estreptococos al penicilinato iohidrato no se ana-

lizó, aunque la presencia de bacterias resistentes posee implicaciones obvias en el tratamiento de animales infectados (Teale & David, 1999). Los resultados del análisis de la sensibilidad antibiótica de los patógenos estreptocócicos aislados ayudarían a determinar si estos resultados pueden haber influenciado los porcentajes de curación tras el tratamiento antibiótico. No obstante, la resistencia de los estreptococos a la penicilina en Europa es muy rara (Salmon *et al.* 1998; Guerin-Faubleee *et al.* 2002). Por tanto, parece poco probable que la falta de un análisis de sensibilidad pudiera haber tenido un gran impacto sobre los resultados de nuestro estudio. Las características clínicas de las ubres no se registraron en nuestro estudio. Por tanto, no se pudieron establecer relaciones entre los signos de mastitis crónica (por ejemplo, tejido endurecido) y los porcentajes de curación. Si se tienen en cuenta las características de las ubres así como de las vacas al seleccionar los candidatos para el tratamiento antibiótico, el porcentaje de tratamientos con éxito puede aumentar.

Para minimizar el sesgo, este ensayo de campo controlado debería haber sido doble ciego. No

obstante, dado que la curación se estableció sobre criterios bacteriológicos y citológicos, y el personal del laboratorio no conocía las asignaciones del grupo de tratamiento, es poco probable que la ausencia de un diseño doble ciego haya afectado al resultado de manera importante.

Como conclusión, la administración parenteral de Mamyzin® Parenteral (Boehringer Ingelheim) a vacas lecheras en lactación con mastitis estreptocócica subclínica crónica contribuyó al control de la mastitis en el cuarterón, la vaca y el rebaño. En el cuarterón y la vaca, los beneficios fueron la curación bacteriológica, la disminución del RCS de la leche y la prevención de la mastitis clínica. No hubo un aumento en la producción láctea posterior al tratamiento. En el rebaño, el tratamiento de las infecciones subclínicas contribuyó a la disminución del RCS de la leche del tanque colectivo y puede haber ayudado a prevenir la dispersión del patógeno o la aparición de brotes de mastitis en el rebaño. El tratamiento no redujo el riesgo de exposición ambiental a *Str. dysgalactiae* y *Str. uberis*. La viabilidad económica del tratamiento de la mastitis subclínica debe valorarse y considerar los efectos en la vaca y los beneficios en el rebaño.

Los autores agradecen la colaboración de los granjeros que participaron en este estudio, y agradecen también la participación del personal de laboratorio y de campo.

REFERENCIAS

- Allore HG, Wilson DJ, Erb HN & Ottenacu PA 1998 Selecting linear-score distributions for modelling milk-culture results. *Preventive Veterinary Medicine* **33** 11–29
- Bramley AJ 1984 *Streptococcus uberis* udder infection – a major barrier to reducing mastitis incidence. *British Veterinary Journal* **140** 328–335
- Cattell MB 1996 An outbreak of *Streptococcus uberis* as a consequence of adopting a protocol of no antibiotic therapy for clinical mastitis. In *Proceedings 35th National Mastitis Council Annual Meeting*, Nashville, TN, USA, pp. 123–130. Arlington, VA, USA: National Mastitis Council, Inc
- Costa IO, Ribeiro AR, Watanabe ET & Melville PA 1998 Infectious bovine mastitis caused by environmental organisms. *Journal of Veterinary Medicine* **45** 65–71
- DeLuyker HA, Gay JM & Weaver LD 1993 Interrelationships of somatic cell count, mastitis and milk yield in a low somatic cell count herd. *Journal of Dairy Science* **76** 3445–3452
- Fox LK & Gay JM 1993 Contagious mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **9** 475–487
- Gillespie BE, Moorehead H, Lunn P, Dowlen HH, Johnson DL, Lamar KC, Lewis MJ, Ivey SJ, Hallberg JW, Chester ST & Oliver SP 2002 Efficacy of extended pirlimycin hydrochloride therapy for treatment of environmental *Streptococcus* species and *Staphylococcus aureus* intramammary infections in lactating dairy cows. *Veterinary Therapeutics* **3** 373–380
- Guerin-Faublee V, Tardy F, Bouveron C & Carret G 2002 Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus* species isolated from clinical mastitis in dairy cows. *International Journal of Antimicrobial Agents* **19** 219–226
- Harmon RJ, Eberhart RJ, Jasper DE, Langlois BE & Wilson RA 1990 *Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection*. Arlington, VA, USA: National Mastitis Council, Inc
- Hillerton JE & Klieem KE 2002 Effective treatment of *Streptococcus uberis* clinical mastitis to minimize the use of antibiotics. *Journal of Dairy Science* **85** 1009–1014
- Hortet P & Seegers H 1998 Calculated milk production losses associated with elevated somatic cell counts in dairy cows: review and critical discussion. *Veterinary Research* **29** 497–510
- Isaacson RE & Torrence ME 2002 *The Role of Antibiotics in Agriculture*, pp. 1–15. Washington, DC: American Academy of Microbiology
- Jayarao BM, Gillespie BE, Lewis MJ, Dowlen HH & Oliver SP 1999 Epidemiology of *Streptococcus uberis* intramammary infections in a dairy herd. *Zentralblatt Für Veterinärmedizin [B]* **46** 433–442
- Leigh JA 1999 *Streptococcus uberis*: a permanent barrier to the control of bovine mastitis? *Veterinary Journal* **157** 225–238
- McDermott MP, Erb HN, Natzke RP, Barnes FD & Bray D 1983 Cost benefit analysis of lactation therapy with somatic cell counts as indications for treatment. *Journal of Dairy Science* **66** 1198–1203
- McDermott JJ & Schukken YH 1994 A review of methods used to adjust for cluster effects in explanatory epidemiological studies of animal populations. *Preventive Veterinary Medicine* **18** 155–173
- McDougall S 1998 Efficacy of two antibiotic treatments in curing clinical and subclinical mastitis in lactating dairy cows. *New Zealand Veterinary Journal* **46** 226–232
- McEwen SA & Fedorka-Cray PJ 2002 Antimicrobial use and resistance in animals. *Clinical Infectious Diseases* **34** 593–5106
- Neave FK, Dodd FH & Kingwill RG 1966 A method of controlling udder disease. *The Veterinary Record* **78** 521–523
- Owens WE, Ray CH, Watts JL & Yancey RJ 1997 Comparison of success of antibiotic therapy during lactation and results of antimicrobial susceptibility tests for bovine mastitis. *Journal of Dairy Science* **80** 313–317
- Robinson TC, Jackson ER & Marr A 1985 Factors involved in the epidemiology and control of *Streptococcus uberis* and coliform mastitis. *British Veterinary Journal* **141** 635–642
- Rosenberg JB, Love B & Patterson DL 2002 Bacterial cure and somatic cell count response of dairy cows with a positive California mastitis test at calving to therapy with cephapirin sodium. *Veterinary Therapeutics* **3** 381–386
- Salmon SA, Watts JL, Aarestrup FM, Parkey JW & Yancey JR 1998 Minimum inhibitory concentrations for selected antimicrobial agents against organisms isolated from the mammary glands of dairy heifers in New Zealand and Denmark. *Journal of Dairy Science* **81** 570–578
- Sandholm M, Kaartinen L & Pyörälä S 1990 Bovine mastitis – why does antibiotic therapy not always work? An overview. *Journal of Veterinary Pharmacological Therapeutics* **13** 248–260
- Shephard CW, Malmø J & Pfeiffer DU 2000 A clinical trial to evaluate the effectiveness of antibiotic treatment of lactating cows with high somatic cell counts in their milk. *Australian Veterinary Journal* **78** 763–768
- Smith A, Dodd FH & Neave FK 1968 Intramammary infection during the dry period and the milk production of the affected quarters at the start of the succeeding lactation. *Journal of Dairy Research* **35** 287–290
- Smith K, Todhunter D & Schoenberger P 1985 Environmental mastitis: Cause prevalence, prevention. *Journal of Dairy Science* **68** 1531–1553
- Smith KL & Hogan JS 1993 Environmental Mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **9** 489–498
- Sol J, Sampimon OC & Snoep JJ 1994 Factors associated with bacteriological cure after dry cow treatment of subclinical staphylococcal mastitis with antibiotics. *Journal of Dairy Science* **77** 75–79
- Sol J, Sampimon OC, Snoep JJ & Schukken YH 1997 Factors associated with bacteriological cure during lactation after therapy for subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science* **80** 2803–2808
- Sol J, Sampimon OC, Barkema HW & Schukken YH 2000 Factors associated with cure after therapy of clinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science* **83** 278–284
- Teale CJ & David GP 1999 Antibiotic resistance in mastitis bacteria. In *Proceedings of the British Mastitis Conference*, Institute for Animal Health, Stoneleigh, UK: Axient/Institute for Animal Health/Milk Development Council/Novartis, pp. 24–29
- Thomas LH, Haider W, Hill AW & Cook RS 1994 Pathological findings of experimentally induced *Streptococcus uberis* infection of the mammary gland of cows. *American Journal of Veterinary Research* **55** 1723–1728
- Todhunter DA, Smith KL & Hogan JS 1995 Environmental streptococcal intramammary infections of the bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science* **78** 2366–2374
- Tyler JW, Wilson RC & Dowling P 1992 Treatment of subclinical mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **8** 17–28
- Wheelock JV, Rook JAF, Neave FK & Dodd FH 1966 The effect of bacterial infections of the udder on the yield and composition of cows' milk. *Journal of Dairy Research* **33** 199–215
- Wilson DJ, Gonzalez RN, Case KL, Garrison LL & Gröhn YT 1999 Comparison of seven antibiotic treatments with no treatment for bacteriological efficacy against bovine mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science* **82** 1664–1670
- Woolford MW 1985 The relationship between mastitis and milk yield. *Kieler Milchwirtschaftliche* **37** 224–232
- Zadoks RN, Allore HG, Barkema HW, Sampimon OC, Grohn YT & Schukken YH 2001 Analysis of an outbreak of *Streptococcus uberis* mastitis. *Journal of Dairy Science* **84** 590–599
- Zadoks RN, Gillespie BE, Barkema HW, Sampimon OC, Oliver SP & Schukken YH 2003 Clinical, epidemiological and molecular characteristics of *Streptococcus uberis* infections in dairy herds. *Epidemiology and Infection* (in press)

Visita:

www.solomamitis.com



División Veterinaria
Prat de la Riba s/n
Sector Turó Can Matas
08153 Sant Cugat del Vallès (Barcelona)
www.boehringer-ingelheim.es