

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**TRATAMIENTO DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN VACAS
HOLSTEIN UTILIZANDO AGUA OZONIZADA Y ANTIBIOTICOS
VÍA AORTA ABDOMINAL**

TESIS

PRESENTADA POR:

GIANELLA ZIRENA VELASQUEZ

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**TRATAMIENTO DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN VACAS HOLSTEIN
UTILIZANDO AGUA OZONIZADA Y ANTIBIOTICOS VÍA AORTA
ABDOMINAL**

**TESIS PRESENTADA POR:
GIANELLA ZIRENA VELASQUEZ**

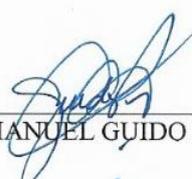


**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE

:

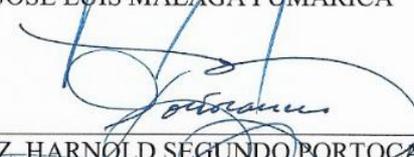

Dr. MANUEL GUIDO PÉREZ DURAND

PRIMER MIEMBRO

:

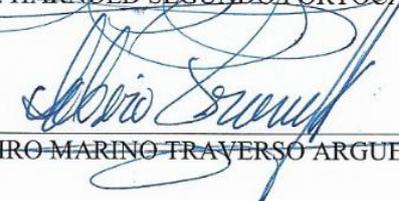

Dr. JOSE LUIS MALAGA PUMARICA

SEGUNDO MIEMBRO:


MVZ. HARNOLD SEGUNDO PORTOCARRERO PRADO

DIRECTOR

:


Dr. CIRO MARINO TRAVERSO ARGUEDAS

Área : Salud animal

Tema : Tratamiento de mastitis subclínica en vacas Holstein

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 11 de diciembre de 2019

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme concluir esta etapa de formación, por guiarme y acompañarme en el camino.

A mi papa Rafael y a mi adorada madre Margarita D. gracias mamá por tu apoyo en este camino porque me inspiraste a seguir adelante a pesar de los obstáculos, tu amor ha sido fundamental y me da fuerzas para seguir adelante, te amo.

A mi amado hijo Mauricio Fernando y mis eternos amores: Zihara, Luis, Fabricio, Valentina, Uds. han sido este tiempo y serán siempre el motor de mi vida.

A mi tío Sergio Zirena quien fue un pilar importante en mi vida, gracias por todo el apoyo y cariño.

A la memoria de quien fue mi Docente y amigo Dr. Juan Pompeyo Zevallos Aragón.

A mis queridos hermanos Manuel, Kelly y Dan.

AGRADECIMIENTOS

A la E.E.T.A.P de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo-Ecuador, en la dirección del Ingeniero Carlos Ramiro Santos Calderón, por todas las facilidades otorgadas al abrir las puertas de su prestigiosa institución para realizar esta investigación; gracias por todo el respaldo y confianza brindados.

Al MVZ Pedro Castillo Castillo por todo el asesoramiento durante la ejecución de este trabajo, por todos los conocimientos compartidos conmigo, referidos al Ozono médico, la técnica de la vía aorta abdominal mediante la aorta punción y los valiosos aportes, acertadas sugerencias, que permitieron realizar este trabajo fortaleciéndolo, gracias por la confianza incondicional y apoyo que me brindo.

Al mi director de Tesis Dr. Ciro M. Traverso por todas las enseñanzas en mi formación profesional y ser también parte de este trabajo gracias.

A los señores miembros del jurado Dr. Manuel Guido Pérez Durand, Dr. Jose Luis Málaga, MVZ. Harnold S. Portocarrero, por haber sido parte de mi formación profesional también por ser parte de esta etapa.

Ing. Sandra Yambay, por su amistad, cariño, y apoyo para la ejecución del trabajo de investigación; también a todo el personal administrativo, trabajadores y pasantes de la Estación Experimental Tunshi por el tiempo y actividades compartidas.

A la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, escuela profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en especial a todos los profesionales Docentes que conforman su prestigiosa plana docente que son fuente de sabiduría y cultura.

A todas las personas que fueron y son parte de mi vida con quienes compartí etapas de aprendizaje y experiencias, Adelaida, Verónica, Mariam Miyany., Cesar Salvador, Richard, Guido, Marita, Elizabeth, Evelyn Indira, Mónica.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	13
1.1 Objetivos de la Investigación	14
1.1.1 Objetivo General	14
1.1.2 Objetivos Específicos	14
II. REVISIÓN DE LITERATURA	15
2.1 La glándula mamaria.....	15
2.2 Fisiología de la glándula mamaria	16
2.2.1 Mecanismo de defensa de la glándula mamaria.....	17
2.3. Mastitis.....	19
2.3.1 Etiología de la mastitis	20
2.3.2 Patogenia de la mastitis	21
2.3.3 Fisiopatología de la mastitis.....	22
2.3.4 Mastitis subclínica.....	26
2.3.5 Diagnóstico de mastitis subclínica	27
2.3.6 Milk checker N-4L	29
2.4 Antecedentes	30
2.5 Fármacos	35
2.5.1 TS-2.....	35
2.5.2 Lidocaína.....	37
2.6 Vía aorta abdominal, aorta punción o endoarterial.....	38
2.7 Ozono	39
2.7.1 Propiedades físico químicas del Ozono.....	39
2.7.2 Obtención del ozono.....	40
2.7.3 Mecanismo de acción	41
2.8 Aplicación del ozono.....	42
2.9 Agua Bi-destilada.....	43
2.9.1 Características del agua Bi-destilada.....	44
III. MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.1 Lugar de estudio.....	45
3.2 Duración del estudio	45
3.3 Material experimental	45
3.3.1 De los animales.....	45
3.4 Manejo de los animales en experimentación	46
3.4.1 Alimentación	46
3.4.2 Sanidad	48
3.5 Métodos.....	48
3.5.1 Diagnóstico de mastitis subclínica mediante la conductividad eléctrica de la leche (fase I).....	49

3.5.2 Tratamientos para la Mastitis Subclínica (Fase II).....	51
3.5.3 Aplicación de los tratamientos por vía Aorta Abdominal	53
3.5.4 Diagnóstico post tratamiento de mastitis subclínica.	58
3.6 Análisis estadístico.....	59
3.7 Del análisis económico	59
3.7.1 Incremento de la producción de leche	59
3.7.2 Pérdidas por efecto del fármaco	60
3.7.3 Costos de los tratamientos	60
3.7.4 Ingresos por producción de leche durante el tratamiento	60
3.7.5 Del B/C	61
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
4.1 Diagnóstico de mastitis subclínica	62
4.2 Evaluación de la efectividad del tratamiento con agua ozonizada y con ts-2 por vía aorta abdominal	66
4.3 Costo beneficio de los tratamientos de mastitis subclínica en vacunos Holstein .	71
V. CONCLUSIONES	75
VI. RECOMENDACIONES	76
VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
ANEXOS.....	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Alimentación con balanceado durante el ordeño	47
Figura 2 Alimentación en potreros con pastos cultivados en una asociación de 60% leguminosas y 40% gramíneas.....	47
Figura 3. Alimentación después del ordeño (tarde).....	48
Figura 4. Toma de muestra de leche.....	49
Figura 5. Lectura y registro de datos obtenidos.....	50
Figura 6. Limpieza de los electrodos.....	50
Figura 7. Preparación del agua ozonizada	52
Figura 8. Preparación de la vaca, ubicación en el brete para la aplicación del tratamiento respectivo	53
Figura 9. Lugar de aplicación de la vía aorta abdominal.....	53
Figura 10. Tricotomía	54
Figura 11. Aplicación de anestesia.....	54
Figura 12. Punción de la piel en el sitio de aplicación de tratamiento.....	55
Figura 13. Ángulo de aplicación de la aguja de Aorto punción.....	56
Figura 14. Cargando la dosis de agua Bi-destilada ozonizada para la aplicación.....	56
Figura 15. Aplicación del tratamiento (antibiótico o agua Bi-destilada ozonizada).....	57
Figura 16. Lavado de la zona de aplicación del tratamiento para retirar restos	57
Figura 17. Protección del sitio de punción.....	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción de leche de vacas del tratamiento 1 y tratamiento 2.	59
Tabla 2. Pérdidas por descarte de leche durante los tratamientos 1 y 2.....	60
Tabla 3. Costo de los tratamientos 1 y 2 en soles.	60
Tabla 4. Incremento de producción de leche después del tratamiento.	60
Tabla 5. Vacas positivas por valores de conductividad eléctrica en la leche a MSC. ...	62
Tabla 6. Resultados del análisis estadístico, conductividad eléctrica de leche por efecto de dos tratamientos.	66
Tabla 7. Resumen de evaluación costo /beneficio de los tratamientos aplicados.....	71
Tabla 8. Incremento de la producción de leche del grupo 1 y grupo 2.....	72
Tabla 9. Costo de la leche descartada del grupo 1 y 2.....	72
Tabla 10. Resumen de evaluación costo /beneficio de los tratamientos aplicados.....	95

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Valores de interpretación del Milk Checker N-4L.....	30
Cuadro 2. Distribución de animales para tratamientos.	51

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

C°	: Grados centígrados
Cm	: Centímetros
DEL	: Días en leche
g	: Gramos
Km	: Kilómetro
L	: Litro
m.s.n.m.	: Metros sobre el nivel del mar
ml	: Mililitro
UI	: Unidades Internacionales
%	: Porcentaje
MSC	: Mastitis Sub clínica
EETAP	: Estación Experimental Tunshi Área Pecuaria.
µg	: microgramos.
PPO2	: Presión parcial de oxígeno.
Kcal	: kilocalorías.
SSO	; Solución salina ozonizada
GO	: Gas Ozono
B/C	: Costo Beneficio

RESUMEN

Este trabajo de investigación se realizó en los meses de julio, agosto y setiembre del 2018, en la Estación Experimental Tunshi Área Pecuaria (EETAP) Unidad Académica y de Investigación en Bovinos Lecheros de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) que está aproximadamente en el km 12 vía Licto - Cantón Riobamba – Provincia Chimborazo – Ecuador, a 2754 m.s.n.m, donde se determinó la efectividad del uso de agua Bi-destilada ozonizada comparado con antibiótico, ambos por vía aorta abdominal en el tratamiento de mastitis subclínica en vacas de la raza Holstein; el diagnóstico se hizo con el método de análisis de conductividad eléctrica de la leche utilizando el equipo Milk Checker N-4L; al diagnóstico se sometieron 36 vacas en etapa de producción láctea, considerándose factores como: vacas en producción, condición corporal, número de partos y edad; 20 vacas fueron positivas a mastitis subclínica formándose dos grupos con 10 vacas cada uno : (tratamiento 1) se aplicó por la vía aorta abdominal antibiótico TS2 (Tilosina + Sulfametoxipiridazina) 20 ml /24 h. / 3 días; (tratamiento 2) 20 ml de agua Bi-destilada ozonizada (60ug/ml) /24h./3 días vía aorta abdominal. Posteriormente, se evaluó la efectividad de los dos tratamientos midiendo la conductibilidad eléctrica de la leche de las vacas tratadas, usando el equipo Milk Checker N-4L, se encontró que los dos tratamientos fueron efectivos en la recuperación de las vacas con mastitis subclínica; el análisis estadístico fue hecho con el programa R 3.4.4, donde se obtuvo el promedio del tratamiento 1 de 0.26 ± 0.09 , y el promedio del tratamiento 2 fue de $0,21 \pm 0,08$ con un nivel de probabilidad de $p= 0,263$; estadísticamente no hubo diferencia significativa; los dos tratamientos tuvieron los mismos resultados siendo efectivos contra mastitis subclínica, se demostró que el agua Bi-destilada ozonizada se puede utilizar en el tratamiento de mastitis subclínica en vacas, tiene efectos positivos y es económica en comparación al tratamiento con antibióticos.

Palabras Clave: Mastitis Subclínica, Aorta abdominal, Ozono, Conductividad eléctrica

ABSTRACT

This research work was done out in the months of July, August and September of 2018, at the Experimental Station Tunshi Livestock Area (EETAP) Academic and Research Unit in Dairy Cattle of the Polytechnic School of Chimborazo (ESPOCH) which is approximately in km 12 via Licto - Canton Riobamba - Chimborazo Province - Ecuador, at 2754 meters above sea level, where the effectiveness of the use of ozonized Bi-distilled water compared with antibiotic was determined, both by abdominal aorta in the treatment of subclinical mastitis in cows of the Holstein breed; the diagnosis was made with the method of analysis of electrical conductivity of milk using the Milk Checker N-4L equipment; The diagnosis was submitted 36 cows in the stage of milk production, considering factors such as: cows in production, body condition, number of births and age; 20 cows were positive for subclinical mastitis forming two groups with 10 cows each one: (treatment 1) was applied by the abdominal aortic route antibiotic TS2 (Tylosin + Sulfamethoxypyridazine) 20 ml / 24 h. / 3 days; (treatment 2) 20 ml of ozonized Bi-distilled water (60ug / ml) / 24h./3 days via abdominal aorta. Subsequently, the effectiveness of the two treatments was evaluated by measuring the electrical conductivity of the milk of the cows treated, using the Milk Checker N-4L equipment, it was found that the two treatments were effective in recovering cows with subclinical mastitis; The statistical analysis was done with the R 3.4.4 program, where the average of treatment 1 of 0.26 ± 0.09 was obtained, and the average of treatment 2 was 0.21 ± 0.08 with a probability level of $p = 0.263$; statistically there was no significant difference; both treatments had the same results being effective against subclinical mastitis, it was shown that ozonized Bi-distilled water can be used in the treatment of subclinical mastitis in cows, has positive effects and is economical compared to antibiotic treatment.

Keywords: Subclinical Mastitis, Abdominal aorta, Ozone, Electrical conductivity

I. INTRODUCCIÓN

Hoy en día la exigencia en la calidad de los alimentos es mayor, lo que significa que el sector pecuario, debe producir leche libre de trazas de medicamentos y sin elevada cantidad de células somáticas de manera que no constituya un riesgo para la salud humana por lo que la mastitis es una enfermedad muy estudiada ya que afecta tanto la salud de los animales como la de los humanos, las pérdidas que deja dicha enfermedad es muy representativa en la economía de cualquier modelo de producción bovina lechera (Cervantes *et al.*, 2017), es por ello que la salud del sistema mamario es fundamental para que la vaca lechera pueda expresar su potencial genético lactacional (Arauz, 2011).

La mastitis subclínica es importante para la producción lechera moderna; ya que la condición anormal del sistema mamario tiene repercusiones económicas debido a que altera la calidad de la leche reduciendo la calidad industrial y el valor nutricional; las pérdidas ocasionadas no son usualmente reconocidas ya que en la práctica el productor no se percata de este problema, en la mastitis subclínica el 70 y 80 % de las pérdidas se debe a la reducción de la capacidad de producción (Arauz, 2011).

Por otro lado, la mayor parte de casos de mastitis se da de forma subclínica por lo que los animales afectados no presentan ningún tipo de sintomatología, sin embargo, estas alteraciones se ven reflejados en bajos niveles de producción y la leche presenta malas condiciones sanitarias y organolépticas (Mendoza, *et al.*, 2017).

Los métodos de diagnóstico de mastitis subclínica pueden ser directos o indirectos: El método directo es el análisis bacteriológico, dirigido a detectar al microorganismo causante de la infección intramamaria, dentro de los métodos indirectos, los más frecuentemente utilizados son la medición de la conductividad eléctrica (CE) y el

recuento de células somáticas (RCS); los métodos indirectos reflejan alteraciones en la composición de la leche debidas a la inflamación, midiendo distintos aspectos de la secuencia de cambios que tienen lugar cuando la glándula está infectada por un organismo patógeno (Sandholm, 1995). La medición de la CE de la leche fue propuesta como una técnica de alta eficacia para la detección de la mastitis ya desde 1942 (Davis, 1975).

Una de las alternativas que ha tomado fuerza en los últimos años ha sido la Ozonoterapia, se ha demostrado su utilidad en la medicina por poseer propiedades antibacterianas, anti fúngicas, antivíricas, cicatrizantes, mejora la circulación, adyuvante en enfermedades neurodegenerativas y autoinmunes, entre otras (Bocci, 2010). El ozono tiene efectos positivos, ya que actúa sobre el metabolismo del Oxígeno y actúa como agente modulador de la respuesta inmune, además de su efecto bactericida entre otras propiedades (Scwhartz y Martínez, 2012).

1.1 Objetivos de la Investigación

1.1.1 Objetivo General

Demostrar la efectividad del agua Bi-destilada ozonizada en el tratamiento de la mastitis subclínica.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Diagnosticar la mastitis subclínica en vacas Holstein mediante la conductividad eléctrica de la leche utilizando el analizador electrónico Milk Checker N-4L.
- Evaluar la efectividad del tratamiento de mastitis subclínica en vacas Holstein utilizando agua Bi-destilada ozonizada por vía Aorta Abdominal comparado con antibiótico TS-2 por vía Aorta Abdominal.
- Evaluar el costo/beneficio del tratamiento de mastitis subclínica en vacunos Holstein con el uso de agua ozonizada por vía A.A comparado con el TS-2 vía A.A.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 La glándula mamaria

Es una glándula sudorípara exocrina modificada, con estructura tubo alveolar cuya función principal es la formación de leche para la nutrición del neonato. Anatómicamente la glándula mamaria está compuesta por la piel, tejido subcutáneo, ligamento suspensorio lateral superficial y profundo, tendón sub-pélvico, el ligamento suspensorio medio que es la principal estructura de soporte de la ubre que se encuentra adosado a la pared abdominal del animal. La estructura interna de la glándula mamaria está conformada principalmente por: -El parénquima está formado por alveolos glandulares los que producen la excretan leche, la unión de varios de estos alveolos dan a la formación de lobulillos glandulares mamarios que estos a su vez están separados por tabiques por donde pasan numerosos vasos y nervios, los que son necesarios para la formación de leche. Para la formación de un litro de leche deben circular entre 300 y 500 litros de sangre por la glándula mamaria para que se produzca esta acción -Encontramos también los conductos lactíferos, estos se encargan de drenar entre los senos de las cisternas ya a la vez tienen la capacidad de almacenar la leche que llega de los alveolos por medio de los conductos de los lobulillos de la glándula mamaria. -La cisterna de la glándula es un sistema colector ubicado dorsal al pezón, que tiene la capacidad de almacenar aproximadamente 100 a 400 ml. Esta cisterna del pezón también conocida como meato del pezón o conducto del pezón, que al momento de realizar presión en el área se da la apertura y permite la salida de la leche. - La vascularización de la glándula está irrigada por la arteria pudenda externa de donde surgen las arterias mamarias craneales y caudales (Acosta, *et al.*, 2017).

2.2 Fisiología de la glándula mamaria

La ubicación de la glándula mamaria es la región inguinal, consta de cuatro cuartos mamarios, funcionalmente cada glándula es una entidad por separado, el interior de cada cuarto mamario consta de un tejido secretor, cisterna del pezón, cisterna de la glándula y numerosos conductos galactóforos (Bradford, 2010). El tejido secretor o porción glandular está rodeada por una cápsula de tejido conectivo que forma parte del aparato suspensorio mamario, cuyas prolongaciones laminares penetran en el interior y dividen el parénquima en lóbulos y por medio de ellas los vasos y nervios alcanzan el interior de la glándula mamaria (Gloobe, 1989).

La glándula mamaria contiene millones de sacos microscópicos denominados alveolos (Bradford, 2010), en cada alveolo está incluido las células epiteliales (lactocitos) (Smith, 2010), que también está rodeada de capilares sanguíneos y células mioepiteliales, además se presentan en grupos encapsulados por tejido conjuntivo (115 a 220 alvéolos) y tienen un tamaño de 7-8 mm de diámetro y forman los lobulillos (Ayadi, 2003), la separación entre lobulillo y lobulillo es por medio de tejido conectivo intralobulillar y conjunto de lobulillos dentro del tejido conectivo forman lóbulos (Baravalle, 2011).

La glándula mamaria se caracteriza por ser una glándula exocrina capaz de transmitir el alimento de la madre a la cría (Elizondo, 2010), al inicio de la lactancia aumenta la producción cardíaca, volumen sanguíneo, flujo sanguíneo gastrointestinal, hepático y mamario, siendo la ubre la responsable de transformar en leche todos los nutrientes de la sangre (Glauber, 2007). Para 1 litro de leche son necesarios de 400 a 500 litros de sangre, por lo que es indispensable una buena alimentación de las vacas, más aún si la vaca es alimentada durante el ordeño ya que obtiene una mayor respuesta por parte de la oxitocina, hormona relacionada directamente con el reflejo de eyección de la leche.

Otra hormona involucrada en la eyección de leche es la vasopresina (Elizondo, 2010). Existen factores que pueden alterar el ciclo normal de la lactancia como la mastitis, catalogada como la afección en las vacas lecheras más costosa a nivel mundial (Bedolla, 2008).

2.2.1 Mecanismo de defensa de la glándula mamaria.

Los principales mecanismos de defensa de la glándula mamaria son todas aquellas barreras internas y externas que impedirán la colonización de agentes exógenos hacia el parénquima del pezón y esto a su vez evitara la infección, el pezón debe de estar sano para que actué como barrera y evite la penetración de los microorganismos (Acosta, *et al.*, 2017). La estructura del pezón es la primera línea de defensa contra la mastitis, está recubierto por epitelio estratificado escamoso, cuya superficie contiene una gran cantidad de tejido queratinizado muerto lo que supone un medio hostil para el crecimiento bacteriano. En el ápice tenemos un canal de 8-12 mm rodeado por un esfínter (musculo liso) que se cierra antes de haber pasado 20-30 minutos tras el ordeño (Phillips, 2003), la efectividad de la defensa está relacionado con el diámetro del conducto del pezón, profundidad, constitución y distribución de la capa de queratina (Kremer, *et al.*, 2014).

La queratina es producida continuamente por células epiteliales que recubren el conducto galactóforo del pezón, su función es taponar físicamente el conducto y atrapar a los microorganismos invasores mediante interacciones electrostáticas y por ser una sustancia cerosa limita la disponibilidad de humedad para las bacterias colonizadoras (Phillips 2003; Chaneton 2010), se ha determinado que en las vacas de alta producción puede haber una pérdida excesiva de tejido epitelial queratinizado en el interior del canal del pezón, lo que reduce sus propiedades

protectoras entre ordeños (Phillips, 2003). La glándula mamaria tiene la capacidad de resistir una infección sin la asistencia inmediata del sistema inmune, esto ocurre mediante la participación de la queratina, que se encuentra presente en los ductos del pezón siendo esta la principal función de barrera de defensa. La alta capacidad de adherencia de los microorganismos a la mucosa regional y la lactoperoxidasa que es una enzima que se encuentra en la leche, cuyas propiedades inhiben el crecimiento bacteriano (Leal, 2014). El primer mecanismo de acción es la inmunidad innata, entre ellos están las barreras físicas, factores solubles como lactoferrina y el componente celular. La respuesta celular se inicia una vez que el agente patógeno se encuentra en el organismo y es reconocido por los macrófagos que se encuentran en el interior del pezón, a partir de aquí se produce la quimiotaxis en donde los neutrófilos son los encargados de la fagocitosis (Acosta, et *al.*, 2017).

Una vez activada la tarea de la fagocitosis, estimulan al neutrófilo a captar el agente infeccioso y adherirlo al fagosoma para posteriormente unirse con los gránulos citoplasmáticos para así formar y dar origen al fagolisosoma donde se realiza la degranulación del neutrófilo y posteriormente la muerte del microorganismo que provoca la infección sistémica; durante este proceso de defensa de la glándula mamaria también intervienen los macrófagos y los linfocitos, por lo que estos forman la mayor parte de las células en los cuartos sanos; estos macrófagos son muy necesarios principalmente en las infecciones de tipo crónico o en los periodos de secado de la glándula mamaria, a su vez los macrófagos presentan antígeno a los linfocitos T y estos liberan citoquinas para activar los linfocitos B; los linfocitos son las únicas células del sistema inmune que reconoce a los antígenos por receptores de membrana y que son específicos para patógenos y la función de los

linfocitos B es reconocer sustancias para producir anticuerpos y secretar inmunoglobulinas (Acosta, *et al.*, 2017)

2.3. Mastitis

La mastitis o inflamación de la glándula mamaria (del griego mastos = glándula mamaria y del sufijo itis = inflamación), como su nombre lo indica es una reacción inflamatoria de la glándula mamaria; considerada como la afección más común y costosa en el ganado lechero a nivel mundial (Acuña y Rivadeneria, 2008). A menudo es asociada con infecciones bacterianas intramamarias, sin embargo, se han reportado que virus, hongos, daños físicos, traumas, disturbios secretorios de origen metabólico-nutricional, toxinas, situaciones de estrés, neoplasias o cualquier otro tipo de problema que cause inflamación en el tejido mamario puede ser la causa de la mastitis en el ganado (Green, 2002). Considerada una afección multifactorial debido a que depende de la virulencia del patógeno involucrado y la susceptibilidad del animal frente a cada infección (Bonetto, 2014). Es una enfermedad infecciosa muy común en la mayoría de hatos lecheros (Ayala *et al.*, 2017); que se trata de la inflamación de las glándulas mamarias de causa, curso y consecuencias diversas que afecta a todas las especies de mamíferos (Peláez, 2015). Esta enfermedad tiene un impacto muy alto en la industria lechera constituyendo la primera causa de pérdidas económicas en la producción de leche a nivel mundial por su reducción significativa en la producción y calidad de la leche, generando así al productor un aumento en el costo de su producción, mano de obra y tratamiento de la enfermedad (Ayala *et al.*, 2017). Entre los factores predisponentes a la alteración de la leche es el uso de agua no potable para la limpieza de los utensilios, equipos de ordeño, tanques de refrigeración, higienización de la ubre (Martínez, *et al.*, 2017).

La leche secretada con mastitis sufre cambios en la membrana del glóbulo de grasa promoviendo la lipólisis, existiendo un aumento de las proteínas solubles y altera los valores de sal, ocasionado la disfunción de las células de la glándula mamaria dando una vía directa de los compuestos de la sangre a la leche; la proliferación de microorganismos colabora a la destrucción del tejido secretor, disminuyendo las concentraciones de caseína y lactosa sintetizadas en la glándula mamaria (Mariscal *et al.*, 2014).

Esta patología es una de las principales que causa a los productores pérdidas que oscila entre un 70% y 80% (Mera *et.al.*, 2017), se da un descarte de 7% de los cuartos afectados (Acosta *et al.*, 2017).

2.3.1 Etiología de la mastitis

La etiología de la mastitis tanto clínica como subclínica varía según la región o el país, debido a esto es importante identificar los agentes circulantes antes de implementar cualquier plan de tratamiento (Ruiz, *et al.*, 2011). Existe un número de bacterias Gram positivas que resultan siendo útiles, sin embargo, otras como las saprofitas y patógenas son contaminantes; a estas últimas pertenecen: *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Listeria*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*, *Propionibacterium*, *Bacillus* y *Clostridium*. Otro tipo de bacterias, que alteran tanto composicional como físicamente la leche y afectan negativamente en la salud son las bacterias Gram negativas entre las que se encuentran *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* y *Acinetobacter*, y las bacterias *coliformes*, las cuales incluyen los géneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella* (Ramírez, *et al.*, 2001).

Otro tipo de clasificación de los agentes bacterianos se describe a continuación: Al grupo de los patógenos menores pertenecen: *Mycoplasma*,

Pasteurella, *Nocardia*, *Listeria* y algunos hongos y levaduras (Ramírez *et al.*, 2011). Dentro de los patógenos mayormente aislados en cuadros de mastitis subclínica podemos encontrar: *Staphylococcus coagulasa* negativa, que tiene una prevalencia comprendida entre 5,5 y 27,1% por cuarto positivo. Y de los *Streptococcus coagulasa* positivos, bacterias *Coliformes* y *Estaphylococcus coagulasa* positiva se destaca el *Staphylococcus aureus* (Ramírez, *et al.*, 2011).

2.3.2 Patogenia de la mastitis

Una vez que el patógeno llega a la ubre, ya sea por vía ascendente o descendente, desencadena la reacción inflamatoria producida por la presencia de los microorganismos; esta reacción también se puede producir debido a algún tipo de lesión traumática (Martínez, 2015).

La mastitis está relacionada con la patogenicidad de los distintos microorganismos y la habilidad para invadir los tejidos mamarios, así como la resistencia que tiene la glándula mamaria (Chaves, *et al.*, 2017). La patogenia presente en las inflamaciones mamarias, son los principales gérmenes causantes de la mamitis y pueden llegar al tejido glandular a través del esfínter del pezón, canal, cisterna y conducto galactóforo y a través de soluciones que entran en contacto con piel lesionada de los pezones y de las mamas (Peláez, 2015).

Dentro de estos factores se determina la severidad de los síntomas, que pueden ir desde el incremento en el conteo de células somáticas sin cambios macroscópicos presentes en leche hasta la fibrosis progresiva o a su vez toxemia (Chaves, *et al.*, 2017); siendo un factor que interfiere mucho manejo y factores medioambientales (Mendoza, *et al.*, 2017); entre estos factores tenemos la contaminación microbiana que ocurre a partir de cuatro fuentes principales: -Por

medio de la ubre, el microorganismo que se encuentra siempre presente y a la vez están asociados a la mastitis. -Considerando el buen estado de la ubre, podremos determinar si existe algún tipo de lesión siendo una vía de entrada para el microorganismo (Mendoza, *et al.*, 2017), teniendo en cuenta que los organismos ambientales son transferidos por medio de la suciedad presente en la ubre y la superficie de los pezones sin desinfectar, así como la inadecuada limpieza e higiene del equipo de ordeño y sus utensilios (Martínez, *et al.*, 2017). -La forma de la punta del pezón y la longitud son características anatómicas muy influyentes en la predisposición a la mastitis (Acosta *et al.*, 2017). -Por medio del lavado y secado de las ubres se puede dar una contaminación, a través de las manos de los ordeñadores o por el mal uso de pezoneras que no fueron desinfectadas entre cada vaca durante el proceso del ordeño mecánicos (Mendoza, *et al.*, 2017)

Otros de los factores que se rige es el medio ambiente ya que engloba todas las medidas higiénicas donde se debería de dar importancia a: garantizar buenas pasturas y la aplicación de buenas prácticas ganaderas, presencia el estrés, el cual influye en los mecanismos de defensa del animal (Acosta, *et al.*, 2017).

2.3.3 Fisiopatología de la mastitis.

En el proceso patogénico de la mastitis se considera que casi siempre la infección ocurre a través del canal del pezón (exceptuando algunas entidades como la tuberculosis). Con el objeto de entender la patogénesis del proceso infeccioso de la glándula mamaria, este se divide en tres fases: En la fase de invasión hace referencia a los factores de hábitat de los microorganismos que son potencialmente patógenos para la glándula mamaria como también los mecanismos de defensa de la glándula. En el caso de *Streptococcus agalactiae*, se considera que es un parásito

obligado de la glándula mamaria, el cual en ausencia de un control efectivo puede convertirse en un serio problema. La fase de infección ocurre una vez que el microorganismo ha ganado acceso al interior del pezón; estos microorganismos ya en el interior se multiplican en el epitelio que recubre los conductos de la glándula y en el tejido secretorio de la misma. Estos agentes infecciosos van por los conductos hacia el resto de la glándula, invadiendo otras áreas del cuarto. En infecciones crónicas, el proceso de infección es lento y se localiza principalmente en las partes inferiores del cuarto durante los primeros meses de infección; en cambio en otras infecciones son dependientes de la tasa de multiplicación del agente infeccioso. Algunas infecciones pueden permanecer confinadas a los conductos y otras pueden penetrar por los espacios de recubrimiento de los conductos y proliferan en todos los tejidos de la glándula mamaria. También los microorganismos producen ácidos, tóxicos y otras sustancias que alteran la glándula acelerando la reacción inflamatoria. En la fase de inflamación tan pronto como las células del epitelio ductal son alteradas, ya sea por la presencia y crecimiento bacteriano o por la liberación de sustancias, se produce una respuesta inmediata de la ubre. El primer cambio como consecuencia de esta respuesta es un incremento en el contenido de albúmina sérica en la leche que coincide con la iniciación del proceso inflamatorio que se sucede en los estados tempranos de mastitis. En estos estados tempranos, los vasos sanguíneos de los cuartos sufren una vasodilatación y conducen más sangre de lo normal; los capilares se vuelven más porosos por incremento de su permeabilidad y por consiguiente permitiendo un flujo de plasma a la leche. En este mismo proceso, el fibrinógeno también pasa a la leche convirtiéndose en fibras de fibrina, las cuales atrapan células somáticas, leucocitos, bacterias, y otros desechos formando grumos y coágulos comunes en la mastitis.

En inoculaciones experimentales de aerógenos o endotoxinas, los leucocitos pueden ser demostrados solo a las tres horas post-inoculación; este retardo en comparación con las alteraciones de la permeabilidad parece ser debido al tiempo que demoran los leucocitos en migrar a través de los tejidos de la glándula. Además, como consecuencia de las alteraciones de la permeabilidad vascular, se presentan otros cambios físico y bioquímicos en la leche. En pocas horas la leche cambia su apariencia a un blanco opaco o acuoso, las síntesis de caseína y lactosa se reducen, además hay componentes del suero que entran a la leche tales como albumina sérica, inmunoglobulinas, cloruro y sodio. Debido a que la leche es isotónica con el plasma, la disminución de la síntesis de caseína se ve proporcionalmente compensada por la introducción de proteína del plasma; también hay disminución de los sólidos no grasos. La glándula responde al incremento de cloruro de sodio disminuyendo la síntesis de lactosa y esto produce un incremento en la relación cloruro/lactosa tratando de mantener la isotonicidad de la leche con respecto al plasma. De otro lado el pH normal de la leche que oscila entre 6,6 y 6,7 se ve alterado en la mastitis, sufriendo un incremento a medida que penetra bicarbonato en la leche (Espinoza, 1986).

En relación a los neutrófilos que empiezan a ser detectados, a las tres horas pos-inoculación en casos experimentales y que en casos naturales aumentan en número en la leche, son la mayor fuente de células somáticas en leches mastíticas. Estas células blancas son estimuladas a migrar a la glándula mamaria por factores quimiotácticos liberados en el daño al tejido y por lo mismos neutrófilos que parecen ser los más implicados en la perpetuación de la migración leucocitaria. Los leucocitos continúan migrando aun después de la remoción o neutralización del agente irritante. Como consecuencia de esta alta migración de neutrófilos a la

glándula mamaria, la medula ósea no es capaz de suplir esta alta demandas inmediatamente (la medula ósea tiene reservas para 4 o 5 días para las demandas normales). Esto se refleja en la sangre como una neutropenia, con desviación a la izquierda, sin embargo, la granulopoyesis se intensifica de tal manera que en 4 o 5 días puede restaurar los niveles de neutrófilos; como consecuencia del proceso inflamatorio y de la coagulación de la secreción láctea puede presentarse un bloqueo de los conductos. Este bloqueo puede ocurrir a pesar de que las células ductales son más resistentes a la inflamación que los alveolos, estas células son alteradas o destruidas. Como consecuencia de la inflamación hay una proliferación que engrosa los conductos, conduciendo a un drenaje pobre de la glándula mamaria (Ayadi, 2003).

Cuando el agente infeccioso ha sido controlado en el curso de unos tres días, la reacción inflamatoria disminuye y la ubre tiende a la involución o a la fibrosis dependiendo del grado de virulencia y la patogenicidad del agente. En el proceso de involución hay una disminución en el número de patógenos, los tapones disminuyen el tamaño y tienden a ser evacuados, aunque algunos pueden ser atrapados y continúan bloqueando los conductos (Ribeiro, *et al.*, 2008).

En el caso de la inflamación moderada, que empieza a desaparecer, hay un aumento de la producción de leche en el área afectada y la ubre va hacia la normalidad en pocos días, pero en el caso del que proceso inflamatorio sea lo suficientemente severo o si hay bloqueo de los conductos por más de tres o cuatro días, las células productoras de leche involucionan hasta la próxima lactancia. En el caso de un daño severo demasiadas células son destruidas y se forma tejido cicatrizal, que puede conducir a una atrofia terminal. En casos de obstrucción

permanente de los conductos, esto conduce a la acumulación de pus detrás del bloqueo y esta área eventualmente puede cicatrizar y permanecer indefinidamente como un área potencial de infección del cuarto, por el hecho de que se rompen periódicamente liberando bacterias (Boscam, *et al.*, 2009).

2.3.4 Mastitis subclínica.

La mastitis es una enfermedad de la glándula mamaria que afecta sobre todo a las vacas de alta producción, puede presentarse de forma asintomática (subclínica) y sintomática (clínica) que, al no poder ser identificada pasa desapercibida (Martínez, 2015). La forma clínica se presenta apenas en un 1.40%, mientras que la subclínica en un 98.6%; además, se caracteriza por disminución del volumen de producción, y el aumento de células somáticas con cambios importantes en la composición de la leche, lo que afecta su calidad y la economía del productor (Murillo, *et al.*, 2017).

En la mastitis subclínica no son visibles los cambios en la ubre o en la leche, estos solo se perciben al realizar la prueba de California Mastitis Test (CMT) donde se observa alteración en la composición de la leche por la presencia de factores inflamatorios o cuando la producción de leche disminuye. En la práctica la mastitis subclínica no se detecta a tiempo, por eso es importante realizar con frecuencia el conteo de células somáticas mediante técnicas de laboratorio y hacer un cultivo bacteriológico; de lo contrario el impacto económico será mayor por reducción en la producción y por el aumento de células somáticas en los tanques de enfriamiento de la leche (Bolaños, 2012). Sin embargo, los casos de mastitis subclínica se caracterizan por disminución en la producción y calidad de la leche encontrando en las pruebas diagnósticas un aumento en el conteo celular por aumento de

componentes inflamatorios y bajas concentraciones en caseína, lactosa y lactoalbúmina (Ramírez, *et al.*, 2011; Smith, 2010). La duración de la mastitis subclínica depende del microorganismo causal y de la eficacia de los mecanismos de defensa del huésped (Reyes y Arguello, 2015). Es importante señalar que la mastitis subclínica sigue siendo la primera causa de uso de antibacterianos para su control y, es el uso de esta leche con residuos de antibióticos el principal problema en la producción de alimentos sanos, cuando se intente tratar un caso de mastitis se deben tener en cuenta tres aspectos fundamentales: Eficacia del tratamiento; relación costo: beneficio; residuos de fármacos en la leche (Sumano & Gutiérrez, 2014).

2.3.5 Diagnóstico de mastitis subclínica

a) Observación y palpación de la ubre.

La ubre se observa aparentemente sana en la mastitis subclínica. Una infección más severa que produzca una inflamación puede provocar diversos cambios en uno o varios cuartos; esto produce un incremento de la temperatura en la zona afectada, dolor y enrojecimiento. Además de esto, la leche también se altera lo que produce un cambio en su coloración y formación de grumos; se puede observar coágulos con pus o sanguinolentos, entre otros (Fernández, *et al.*, 2012).

b) Conductividad eléctrica de la leche.

Se basa en el aumento de la conductividad eléctrica de la leche para medir el grado de mastitis, ya que se produce debido al incremento de iones de sodio y cloro (Bedolla, 2007).

La leche tiene propiedades conductoras debido a sus componentes, especialmente las sales minerales, la conductividad eléctrica se debe al

contenido total iónico de la leche, mayormente de cloro, sodio, y la disminución drástica de calcio, potasio y fósforo. Esta se determina, fundamentalmente por los iones de sodio y cloro; el incremento de la permeabilidad celular asociado a las infecciones bacterianas y a otros cambios fisiológicos o traumáticos, son la causa de una disminución de la lactosa y del incremento de sodio y cloruros (Lensbergen, *et al.*, 1994).

La conductibilidad eléctrica de la leche se incrementa durante la mastitis debido al alto contenido electrolítico, principalmente de iones Na^+ y Cl^- y la disminución en K^+ , Ca^+ y P^+ y lactosa (Morin y Hurley, 1994). La alteración del tejido mamario causa en la barrera sangre-leche el escape de Na^+ y Cl^- hacia la leche a través de la vía paracelular, por ruptura de las uniones de las células. El incremento de conductividad por encima de un valor determinado es indicación de mastitis (Philpot y Nickerson, 1993). “*La alteración en el contenido electrolítico en leche, es uno de los cambios más tempranos que ocurren en el desarrollo de la mastitis*” de ahí la importancia de este método (National Mastitis Council, 1995).

c) Prueba de California Mastitis Test.

Es el método diagnóstico de mastitis a nivel de campo más utilizado a nivel mundial. Esta técnica nos permite valorar de manera cualitativa el grado de mastitis en que se encuentra el animal (Fernández, *et al.*, 2012).

La prueba consiste en agregar un detergente a la leche conocido como el alquilauril sulfonato de sodio; este compuesto produce la liberación del ADN que se encuentra en el interior de los linfocitos y de este modo forma una

gelatina; es decir a mayor cantidad de ADN mayor será la formación de gelatina y por ende el grado de mastitis (Fernández, *et al.*, 2012).

d) Prueba Wisconsin para mastitis.

Prueba utilizada principalmente en laboratorio; se ocupa un compuesto similar al de la prueba California Mastitis Test con la diferencia que esta prueba da resultados cuantitativos, la prueba consiste en tomar 2 ml de leche y 2 ml del reactivo de CMT con agua destilada en un tubo graduado en milímetros; una vez hecho esto se deja reposar y se vierte el contenido, dependiendo en qué lugar de la escala se encuentra se determina el número de células somáticas (Bedolla, 2007).

e) Monitoreo de células somáticas.

Se utiliza para conocer el estado inflamatorio de la glándula mamaria; esto se puede llevar a cabo de la siguiente manera: cada cuarto de manera individual, vacas individuales y en el hato completo (Bedolla, 2007).

f) Pruebas bacteriológicas.

Consiste en tomar una muestra de leche y colocarla en un medio artificial que posea las condiciones idóneas para el desarrollo de colonias bacterianas y de ese modo determinar el grado de mastitis (Bedolla, 2007).

2.3.6 Milk checker N-4L

Este equipo de diagnóstico hace la detección de mastitis subclínica midiendo la electro-conductibilidad de la leche, el cual mide la composición iónica de la leche que consiste en el incremento de los iones de Na⁺ y Cl⁻, y la disminución del ion K⁺, Ca⁺ y P⁺; lo cual incrementa la CE de la leche, siendo este valor resultante el

indicador de inflamación de la glándula mamaria. Por lo tanto, es positivo a mastitis subclínica si el resultado indica incremento en CE (Hyserve, 2018).

Cuadro 1. Valores de interpretación del Milk Checker N-4L.

	ABS Conductividad (mS/cm) "Conductividad absoluta"	DIF Diferencia (mS/cm) "Conductividad diferencial"
Leche normal	< 6.2	< 0.5
Leche anormal	≥ 6.2	< 0.5
Leche infectada (mastitis)	< 6.2	≥ 0.5
Leche infectada (mastitis)	≥ 6.2	≥ 0.5

Fuente: Manual del *Milk Checker N-4L*.

2.4 Antecedentes

El trabajo de investigación en vacas Brown Swiss de las comunidades del distrito de Cupi, provincia de Melgar, región Puno; ubicado a una altitud de 3 953 m.s.n.m. durante la época de lluvia de enero a marzo del 2014, determinó la prevalencia de mastitis subclínica y se identificó los factores de riesgo; para lo cual se tomó muestra de leche de 213 vacas en producción; los mismos fueron examinados, mediante la prueba de California Mastitis Test (CMT). La prevalencia de mastitis subclínica según número de partos fue de 2,36 %; 4,24 %; 8,02 %; 10,38 %; 6,60 % y 8,96 % de prevalencia al primer, segundo, tercero, cuarto, quinto y sexto parto, respectivamente; mientras en los cuartos mamarios se encontró 35,85 %; 34,91 %; 24,10 % y 22,17 % de prevalencia para el cuarto mamario anterior derecho, anterior izquierdo, posterior derecho y posterior izquierdo, respectivamente (Mamani, 2014).

En los meses de noviembre 2014 a enero 2015 en las comunidades de Huamanruro y Bajo Ccollana del distrito de Macarí – Puno, se muestrearon 285 vacas en la comunidad de Huamanruro y 113 vacas en la Comunidad de Bajo Ccollana todas en producción, con el objetivo de determinar la prevalencia de mastitis subclínica en vacas mediante la prueba

de California Mastitis. Los resultados para vacas de la comunidad de Huamanruro fue de 28,10 % y para la comunidad de Bajo Ccollana fue 23,90 %, los resultados de prevalencia de mastitis subclínica según cuartos mamarios, en la comunidad de Huamanruro: el cuarto más afectado fue el anterior derecho con 28,07 %, y el menos afectado el posterior izquierdo con 21,93 %, y en la comunidad de Bajo Ccollana el cuarto más afectado fue también el anterior derecho con 31,58 %, y menos afectado fue posterior izquierdo con 15,79 %, los cuartos son más afectadas con relación a las posteriores en ambas comunidades. Según número de partos fue para la comunidad de Huamanruro fueron: 45,45 %; 40,98 %; 46,00 %; 26,00 % y 4,40 % para el primero, segundo, tercero, cuarto, y quinto a más respectivamente; para la comunidad de Bajo Ccollana 33,33 %; 40,00 %, 41,18 %; 19,05 % y 5,26 % para el primero, segundo, tercero, cuarto, y quinto a más respectivamente. Concluyéndose que las vacas de cualquier número de partos y cualquier cuarto mamario están igualmente predispuestas a contraer la enfermedad (Esperilla, 2014).

En el distrito de Chamaca, provincia de Chumbivilcas, Cusco-Perú, determinó la prevalencia de mastitis subclínica en vacas Brown Swiss, mediante la prueba de California Mastitis Test (CMT), se encontró en un total de 136 una prevalencia de 19.85%, que estuvo influenciada por el número de parto, de la siguiente manera, 0.00, 0.74, 2.94, 5.88, 5.15, 2.20, 1.47 y 1.47% de prevalencia para vacas del primer, segundo, tercero, cuarto, quinto, sexto, séptimo y octavo a más partos, respectivamente ($P>0.05$), para los meses de lactación se encontró 4.41, 8.82 y 6.62% para 1 a 3 meses, 4 a 6 meses, y de 7 a 9 meses de lactación, respectivamente ($P>0.05$), mientras que en los cuartos mamarios se encontró 18.52, 11.11, 33.33 y 51.85 % para el anterior derecho, anterior izquierdo, posterior derecho y posterior izquierdo, respectivamente ($P<0.05$) (Colque, 2015).

Amplios estudios, realizados en los países productores de leche como son: Israel, Francia, Estados Unidos de América, entre otros, han mostrado que un 50% de todas las vacas padecen mastitis, que, principalmente, son de tipo subclínico. Sin embargo, menciona que los costos de mastitis en Estados Unidos son de alrededor de 107 a 180 dólares por vaca y en total las pérdidas anuales de la mastitis han sido estimadas entre 1.5 a 2 billones de dólares americanos. En México la presencia de la enfermedad arroja pérdidas económicas de aproximadamente \$2'500,000.00 pesos, pero esto representa sólo del 20 al 30% de las mastitis clínicas la otra parte que no presenta síntomas externos perceptibles que son las mastitis subclínicas representan entre el 70% y el 80% (Romero, 2004).

En los últimos tres años, la mastitis en el Perú arroja pérdidas económicas de aproximadamente US\$ 2 500 000, pero este monto solo incluye a la mastitis clínica, la cual representa el 20-30% de la mastitis (SENASA, 2015). Según estimaciones del Ministerio de Agricultura y Ganadería, las pérdidas económicas de la región La Libertad varían entre 25 y 32% debido al deterioro de la calidad de la leche proveniente de vacas con mastitis (SENASA, 2015).

En Santa Cruz de la sierra – Bolivia se hizo un trabajo de investigación para determinar la eficacia del tratamiento de ozono en la mastitis bovina. Para ello se trabajó con un total de 73 vacas Holstein y 156 cuartos, que resultaron positivo a la lectura de CMT. La lectura de CMT utilizada seleccionó animales en grado 1 (trazas), 2 (mastitis subclínica), 3 (mastitis subclínica severa) y 4 (mastitis clínica). Se tomaron muestras para cultivo y antibiograma de todos los cuartos afectados. La dosis de ozono aplicado fue de 35µg/ml en 50 ml de gas/cuarto, el tratamiento se aplicó cada 24 horas y fueron 3 aplicaciones por cuarto, luego de la última aplicación se realizó una nueva lectura del

CMT. El cultivo y antibiograma mostró como resultado que la causa de todas las mastitis fueron *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, y *Staphylococcus spp.*, resistentes a cloxacilina, cefalexina, lincomicina, oxitetraciclina, enrofloxacin y gentamicina. El 23 % de los cuartos tratados sanaron, el 39% mejoraron, 29% de los cuartos tratados continuaron iguales y solo el 9% empeoraron a pesar del tratamiento. El análisis estadístico mostró una diferencia significativa ($p < 0,05$) entre la lectura del CMT previa y la lectura posterior al tratamiento (Rojas, *et al.*, 2018).

Se realizó un estudio en Cuenca Ecuador utilizando: Gas Ozono (GO; $n = 18$), se aplicó 50 ml de gas ozono por vía intramamaria con 35 $\mu\text{g ml} / 24$ horas por tres ocasiones; Solución Salina Ozonificada (SSO; $n = 18$), se aplicó 50 ml de solución salina ozonificada por vía intramamaria con 35 $\mu\text{g ml} / 24$ horas por tres ocasiones y Control ($n = 18$), se aplicó antibioterapia con ceftiofur (1.6 mg kg^{-1}) por vía IM/ 24 horas por tres ocasiones. Donde en el tratamiento con SSO se obtuvieron la menor cantidad de animales recuperados, sólo 6 animales de los 18 tratados, lo que representa una tasa de recuperación del 33.3%. Con el tratamiento de GO se obtuvo un mayor número de animales recuperados (14 de 18) con una tasa de recuperación de 77.8%, existiendo diferencia significativa ($P < 0.05$), con respecto al tratamiento SSO. El tratamiento Control (antibiótico) fue superior numéricamente a los dos tratamientos a base de ozono (15 de 18), obteniendo una tasa de recuperación del 83.3%; sin embargo, no se encontró diferencia estadística significativa ($P > 0.05$) con respecto al tratamiento GO, es decir, el tratamiento GO y el Control, se comportaron igual. (Argudo, D.E., Soria, C.A. 2017).

En Cuba se evaluaron la eficacia terapéutica de los antibióticos para la mastitis, los fármacos empleados fueron, para el grupo I vía aorta abdominal, penicilina (2x10⁶ UI) y estreptomomicina (2g), diluidas en solución de novocaína 0,5% a otro grupo (II), se le aplicó

igual cantidad de antibióticos, pero sin novocaína y vía intrauterina, la eficacia de los tratamientos fue de 97,5% para los grupos I y II respectivamente y la media de tratamiento fue de 1.58 y 2.32 y el tiempo de recuperación de 3.11 y 4,6 días en igual orden de cita. Los autores atribuyen estos resultados a que la vía empleada permite una rápida y mayor difusión de los medicamentos en el órgano afectado y al de la novocaína, que ejerce un efecto beneficioso como terapia etiopatogénica (Rizo, *et al*, 1981). Se emplearon la vía de la aorta abdominal con los mismos antibióticos, pero diluidos en solución de lidocaína y obtuvieron un 100% de recuperación (Menéndez *et al*, 2008).

Peláez, H (2012) realizó un trabajo de investigación en 50 bovinos mestizos en producción láctea con mastitis subclínica. Las mismas que fueron positivas al reactivo CMT (California Mastitis Test) Formó cinco grupos, a los cuales les aplico diferentes tratamientos: Tratamiento 1 (T1) con antibióticos: 10 vacas en ordeño se les aplico con inyectores intramamarios antibiótico Cobactan (Cefquinoma 75mg) y por vía intramuscular Cobactan 2.5% (Cefquinoma 25mg) por un lapso de tres a cuatro días. Tratamiento 2, 3 y 4 (T2 -T3-T4) con ozonoterapia en dosis de: 10mgO₃, 20mgO₃, 60mgO₃ respectivamente. Tratamiento 5 (T5) testigo, se dejó sin tratar; encontró que el ozono en el tratamiento de mastitis con diferentes concentraciones y tiempo de exposición resultó que la dosis más alta del ozono, es decir, la que contiene 60 mg/cuarto en 60 segundos (T4), disminuye la infección considerablemente. Así mismo, se observó que el uso de antibióticos presenta en los animales una mejoría estadísticamente significativa respecto al ozono, pero con un costo mucho más elevado por tratamiento. Los animales infectados con mastitis se recuperan mucho más rápido con el tratamiento de antibiótico, es decir 24 horas antes que con el tratamiento de ozono. El tiempo de recuperación de los animales intervenidos con ozono se inició a partir de las 48 a 72 horas después de aplicar el medicamento. Mediante la prueba de Duncan determinó, que el mejor tratamiento es

el uso de antibiótico y el T4 respectivamente, aunque si se considera el valor económico por tratamiento, el ozono es más conveniente por tener un bajo costo (\$ 9,95 /animal/3días) y no inducir resistencia en los microorganismos, a diferencia del costo del tratamiento con antibiótico (\$ 31,26/animal/3 -4 días) que es económicamente no recomendable.

2.5 Fármacos

2.5.1 TS-2

Composición:

- Tilosina base..... 200mg
- Sulfametoxipiridazina..... 40mg
- Excipiente c.s.p..... 1ml

Periodo de retiro:

- Carne: 15 días
- Leche: 4 días

a) Tilosina

- Familia: macrólido; actúa principalmente contra bacterias Gram positivas y en ocasiones en Gram negativas. Actúa inhibiendo la síntesis de proteínas en la bacteria, tradicionalmente se considera a los macrólidos como agentes bacteriostáticos, sin embargo, pueden ser bactericidas en altas concentraciones, contra microorganismos susceptibles, ejercen sus efectos mediante la unión a la subunidad ribosomal 50s. esta unión inhibe la translocación del aminoacil RNA de transferencia y por ende la síntesis de polipéptidos bacterianos (Madigan, *et al.*, 2003).

- Farmacocinética: Buena absorción y rápida, máximo nivel en plasma a las 3 horas, se metaboliza en hígado, se excreta por bilis y orina.
- Efectos adversos: alteración de la flora intestinal y como consecuencia disminución de bacterias que compiten con microorganismos patógenos, aumentando así el riesgo de la enfermedad.
- Uso en medicina veterinaria: se usa principalmente en infecciones respiratorias y digestivas del ganado, infecciones de mico plasmas, tratamiento de difteria, mastitis, endometritis, pio dermatitis, abscesos hepáticos (ANUPCO 2017). En bovinos, luego de la administración subcutánea, el fármaco se absorbe rápidamente y se distribuye extensamente en todos los tejidos, penetra rápidamente a leche por su afinidad a células epiteliales y alcanza concentraciones altas, su elevado volumen de distribución es la prueba más clara de su gran penetrabilidad tisular. Presenta valores de concentración mínima inhibitoria (MIC) entre 0,2 y 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ frente a varias bacterias y micoplasmas patógenos susceptibles (Nieto, 2016).

b) Sulfametoxipiridazina

- Familia: Sulfonamida. Pertenece al grupo de sulfonamidas de absorción rápida y eliminación lenta. Actúan sobre microorganismos Gram positivos: (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*; *Bacillus anthracis* y *Clostridium*), Gram negativos (*Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*; *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus ducreyii*, *Salmonella* y *Brucella*) Actinomicetas y Clamidias (*Actinomyces israelii*; *Chlamydia trachomatis*) (Pelaez y Henry, 2012).

- **Farmacocinética:** Las sulfonamidas se absorben por vía oral y tópica, tienen mala absorción por vía oral y se absorben bien por el estómago y el intestino delgado, su velocidad de absorción es variable para los distintos compuestos por lo cual se clasifican en acción corta media o larga dependiendo de la vida media. La biotransformación se realiza en el hígado y el riñón conjugándose con el ácido acético a nivel del nitrógeno amínico, la vía de excreción se da por la orina en forma libre y acetilada en forma de glucurónidos. Su concentración terapéutica alcanza entre 50-100ug/ml en procesos de infecciones leves. Se distribuyen en los tejidos incluyendo el líquido cefalorraquídeo, la placenta y el feto, también glándula mamaria (Litter., 2001).
- **Efectos adversos:** Después de la administración prolongada o en dosis altas algunas sulfas pueden provocar problemas de cristalización de estas o de sus metabolitos en los túbulos renales (Pérez, 2010).
- **Excreción:** La orina constituye la principal vía de excreción de las sulfas. También se describe un grado importante de eliminación por vía biliar, la leche y el sudor. La cantidad de fármaco eliminado en la orina depende de la sulfamida administrada y de la especie a la que se administra (Pérez, 2010).

2.5.2 Lidocaína.

Lidocaína es un anestésico local que pertenece a la clase de las amino amidas, mostrando entre uno de sus efectos la actividad anti arrítmica y la pérdida de sensibilidad regional Su estructura química consta de 4 subunidades: Subunidad 1 es el núcleo aromático, formado por un anillo bencénico que da liposolubilidad a la

molécula. Subunidad 2 está conformada por la unión éster-amida que determina el tipo de metabolismo del fármaco, ya sea por pseudocolinesterasas plasmáticas (amino ésteres) o a nivel hepático (amino amidas). Sub-unidad 3 consta de la cadena hidrocarbonada que también influye en la liposolubilidad, en la duración de acción y en la toxicidad. Subunidad 4 que es el grupo amina y le confiere la hidrosolubilidad y unión a proteínas plasmática (Ochoa, *et al.*, 2017) La lidocaína clorhidrato puede ser administrada en concentraciones de 1,5% o 2% y 0,5% o 0,75%, respectivamente, para la anestesia quirúrgica, con cardiotoxicidad, produciendo toxicidad muy reducida en el sistema nervioso central. Estos anestésicos locales son ampliamente utilizados en el control del dolor en pacientes. (Kun Kang *et al.*, 2016). Se indicó que la anestesia de la lidocaína es más rápida teniendo una duración del efecto anestésico, en el ganado se administra en dosis mayores de 10 a 12 ml de lidocaína al 2% (Lumb y Jones, 1979).

2.6 Vía aorta abdominal, aorto punción o endoarterial

La Aorto punción se practica con fines terapéuticos en caso de diferentes patologías de los órganos de las cavidades abdominales y pélvicas, así como en los casos de metritis y en afecciones podales de los miembros posteriores (Gotarenko, *et al.*, 2016; Rizo *et al.*, 1981). En enfermedades urogenitales de los machos, enfermedades ginecológicas de la hembra, en la patología de la ubre y los miembros pelvianos (Plajotin, *et al.*, 1982) con mucha frecuencia se cree que la Aorto punción es un método terapéutico insustituible, que permite obtener resultados excepcionales (Gotarenko, 1969). Realizada correctamente no implica el acompañamiento de hemorragia, puede considerarse un tratamiento terapéutico con resultados espectaculares, permitiendo obtener rápidamente

buenos efectos antimicrobianos por la introducción en la misma de un antibiótico (Castro, 2013).

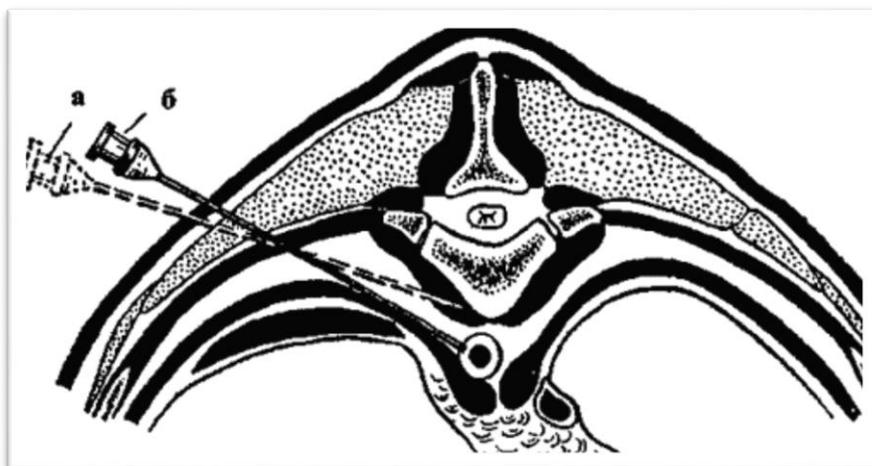


Рис. Схема пункции брюшной аорты по И.И. Магда и И.И. Воронину:
La figura es el esquema de punción de la aorta abdominal por I.I. Magda y I.I. Voronin

Anatómicamente la sangre fluye directamente de la aorta abdominal hacia la parte posterior del animal y retorna por las venas después de haber depositado los medicamentos enviados en los diferentes órganos (Castro, 2013).

2.7 Ozono

El Ozono es un gas que se encuentra sobre la superficie de la tierra en la atmosfera esta se produce de forma natural con los rayos del sol y el relámpago, crea la llamada capa de Ozono que nos protege de la radiación ultravioleta. Las radiaciones poseen una elevada carga de energía que descompone las moléculas de Oxígeno presentes en el ambiente en átomos libres, de esta manera se combinan con otras moléculas de Oxígeno para componer la molécula de Ozono (O₃) (Menéndez, 2008).

2.7.1 Propiedades físico químicas del Ozono

El Ozono es una forma alotrópica del Oxígeno que contiene un átomo más que el Oxígeno atmosférico. El Ozono es particularmente inestable se descompone de forma inmediata en Oxígeno diatómico, lo que hace difícil su transporte y

almacenamiento en la práctica, por esta razón es necesario que su obtención se practique en el lugar y momento de su empleo (Menéndez, 2008). Es un gas inestable, posee una elevada velocidad de descomposición que oscila en el orden de 105-106 mol/s. que no puede envasarse ni almacenarse, por lo tanto, debe usarse de inmediato pues tiene una semivida de 40 min a 20 °C, es color azul cielo solo en altas concentraciones. Este gas además reacciona con una numerosa cantidad de compuestos tanto orgánicos como inorgánicos, se destaca su gran poder oxidante en disolución acuosa-acida. Las investigaciones realizadas en el siglo XIX sobre las propiedades del Ozono mostraron que es capaz de reaccionar con la mayoría de sustancias orgánicas e inorgánicas hasta su oxidación completa, es decir, hasta la formación de agua, óxidos de carbono y óxidos superiores (Schwartz y Martínez, 2012).

2.7.2 Obtención del ozono.

El Ozono se produce en aquellos procesos que incluyen la presencia de Oxígeno, la molécula de dicho gas se genera por tres fuentes fundamentales de energía: Electrólisis química, descargas eléctricas y radiaciones de luz UV (Schwartz y Martínez, 2012).

Para poder generar la combinación de Ozono-Oxígeno para utilizarse con fines médicos el aparato debe emplear Oxígeno químicamente puro y no aire, ya que contiene un 85% de Nitrógeno. Por ende, el Nitrógeno molecular (N₂) al ser expuesto a las descargas de alta tensión se desintegrará atómicamente y favorecerá la integración de óxidos nitrosos altamente tóxicos (Bernal, 2014).

2.7.3 Mecanismo de acción

a.- El Ozono en el metabolismo del Oxígeno

El principio básico de la ozonoterapia es, elevar el potencial oxidativo de la sangre y aumentar la capacidad de la hemoglobina para transportar Oxígeno, debido a que el Ozono es un potente oxidante (cede electrones en forma de Oxígeno a otras moléculas más reducidas). Al mismo tiempo, incrementa la concentración de Oxígeno en el plasma y la sangre estará más oxigenada (García, 2014).

b.- Efecto antiinflamatorio

El efecto antiinflamatorio que posee el Ozono se basa en la capacidad para oxidar compuestos que poseen dobles enlaces de carbono, un ejemplo es el caso del ácido araquidónico y sus derivados como las prostaglandinas y leucotrienos, que son sustancias biológicamente activas que participa en el mantenimiento de procesos inflamatorios (Bernal, 2014).

c.- Efecto modulador de la respuesta inmune

La acción inmunológica del Ozono sobre las células de la sangre está dirigida a los leucocitos principalmente a los monocitos y linfocitos estos al interactuar con dicho gas permite la liberación de citocinas de carácter Inmunomodulador o inmunosupresor de acuerdo a lo que se requiera, las cuales se autorregulan por lo que la producción de citocinas no sobrepasará los valores necesarios. La aplicación de ozonoterapia posee efectos satisfactorios en pacientes que padecen enfermedades caracterizadas por una respuesta inmunológica exagerada como es el caso de las enfermedades autoinmunes y también en aquellas con déficit en sus funciones inmunológicas (Scwhartz, 2012).

Se ha demostrado que concentraciones de Ozono comprendidas entre 10 a 78 $\mu\text{g/ml}$ de sangre es la dosis necesaria que produce la estimulación de los leucocitos para la liberación progresiva de las citocinas (Menéndez, *et al.*, 2008).

A pesar de que existen muchos estudios con ozono medicinal en la medicina humana, así como en animales de experimentación, en la medicina veterinaria es todavía muy poco estudiada (Fernando, 2017).

d.- Efecto viricida.

Los virus son pequeñas partículas, hoy consideradas frontera entre los seres vivos y la materia inerte, que no son capaces de vivir ni de reproducirse si no es parasitando células a las que ocasiona su destrucción; a diferencia de las bacterias, los virus siempre son nocivos y provocan enfermedades a todo organismo al que atacan, enfermedades tan comunes como la gripe, el catarro, el sarampión, la viruela, varicela, rubéola, poliomielitis, y otras muchas son debidas a virus; el ozono actúa sobre ellas oxidando las proteínas de su envoltura y modificando su estructura, al ocurrir esto, el virus no puede anclarse a ninguna célula hospedadora por no reconocer su punto de anclaje, y al encontrarse el virus desprotegido y sin poder reproducirse, muere. La acción viricida es observable a concentraciones de ozono inferiores a la de acción bactericida (Ricaurte, 2006), (Zorrilla, 2001).

2.8 Aplicación del ozono

Ogata, *et al.*, (2000) estudiaron la infusión de ozono en el cuarto inflamado de vacas con mastitis clínica y estiman que el método de ozonoterapia es probado y resulta ser eficaz, seguro, y rentable; y no conlleva ningún riesgo de residuos de medicina en la leche. Arichavala y Argudo (2012), encontraron una recuperación más rápida con el uso de

ozono. El suministro de ozono por medio de inyección en la ubre, ofrece una cura rápida, segura y efectiva contra las mastitis de las vacas, evitando los efectos secundarios de la antibiótico terapia, consiguiendo resultados mucho más rápidos, saludables y efectivos (SESA, 2012).

Rilling y Viebahn (1990) manifestaron que, de cierta forma el ozono higieniza la glándula mamaria, eliminando los patógenos, pero además su efecto promueve los mecanismos de defensa propios del organismo, lo que explicaría como actúa el ozono en estos casos. Resultados similares encontraron Ogata y Nagahata (2000), cuando compararon el ozono gas versus antibiótico sistémico y concluyen que el tratamiento a base de ozono es seguro, efectivo, económico y no deja residuos en la leche. La efectividad cicatrizante a través del uso tópico de ozono como alternativa de tratamiento en la cicatrización de heridas de cerdos castrados, no presentaron riesgos de contaminación de las heridas observando una rápida regeneración de los tejidos sin observar efectos colaterales indeseables, el uso de ozono en forma tópica incrementa la perfusión sanguínea y estimula el proceso de granulación y desinfección del área (Briones, 2012).

2.9 Agua Bi-destilada

Como su nombre lo indica Bi = dos (dos veces destilada). El agua destilada se obtiene al evaporar el agua inicial para separarla de las sales que se encuentran disueltas en ella. Una vez lograda esa separación, el vapor de agua es condensado para volverlo a su estado líquido; una vez que se ha realizado todo ese proceso, el agua destilada es sometida a un nuevo proceso de calentamiento, después del cual se liberará todo el dióxido de carbono que aun contenga. La destilación es un método de separación de mezclas que utiliza la evaporación y condensación de las sustancias aprovechando sus

diferentes puntos de ebullición. De esta manera, al someter a altas temperaturas una mezcla, la primera sustancia en desprenderse será aquella cuyo punto de ebullición sea menor; al ser el punto de ebullición una propiedad intensiva se asegura que se logrará la separación de las sustancias. Las características del proceso de destilación lo convierten en una buena opción, por ejemplo, para eliminar contaminantes presentes en el agua; al destilar pueden ser separados los minerales y otras sustancias que contaminan el agua. Con este método se puede obtener tanto agua destilada como agua Bi-destilada (Quiminet, 2018).

2.9.1 Características del agua Bi-destilada

Las principales características del agua Bi-destilada son:

- Alto nivel de pureza
- Nulo contenido de dióxido de carbono
- Baja conductividad eléctrica
- Alta constante dieléctrica
- Libre de iones de magnesio, calcio y otros. (Quiminet, 2018).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de estudio

El trabajo de investigación se llevó a cabo en la Unidad Académica y de Investigación en Bovinos Lecheros de la Estación Experimental Tunshi Área Pecuaria (EETAP) de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), situado en el km 12 vía Licto - Cantón Riobamba – provincia Chimborazo – Ecuador, a 2754 m.s.n.m., entre las coordenadas $1^{\circ}44,8'0''$ Latitud sur, y a $78^{\circ}37'0''$ longitud oeste (SINAT, 2018).

3.2 Duración del estudio

El estudio se ejecutó en los meses de Julio Agosto y septiembre del año 2018, tiempo en el que se realizaron todas las actividades relacionadas a la toma de muestras de leche para el diagnóstico de mastitis subclínica, aplicación de tratamientos, registros en cada etapa, diagnóstico post tratamiento evaluando la conductividad eléctrica de la leche de las vacas que fueron tratadas y posterior análisis e interpretación de resultados.

3.3 Material experimental

3.3.1 De los animales

Para el estudio se utilizaron 36 vacas de la raza Holstein en etapa de producción láctea, de acuerdo al número de arete se eligieron todas las que estaban en la relación de vacas incluidas en el registro de vacas de ordeño, el tamaño de muestra fue determinado por hallazgo, las 36 vacas fueron evaluadas mediante el método de conductividad eléctrica de la leche, resultando 20 vacas con valores de conductividad diferencial positivas a mastitis subclínica.

A. Criterios de inclusión de las vacas para el estudio.

- Vacas Holstein en etapa de producción láctea (vacas en ordeño).
- Condición corporal de 2.5 a 3.5
- Vacas con uno a más partos.
- Vacas sin evidentes signos de padecer mastitis clínica
- Vacas sin tratamiento previo con antibióticos
- Vacas evaluadas mediante la conductividad eléctrica de la leche que resultaron positivas a mastitis subclínica.

B. Criterios de exclusión de las vacas para el estudio

- Vacas con cualquier tratamiento antibiótico previo dentro último mes antes al estudio.
- Vacas evaluadas mediante la conductividad eléctrica de la leche que resultaron negativas a mastitis subclínica.

3.4 Manejo de los animales en experimentación

El manejo se realizó con un sistema de crianza semi-intensivo, la existencia de instalaciones como: sala de espera, sala de ordeño, bretes, manga de aparto, comederos, bebederos, potreros, que facilitaron el desarrollo del estudio. Durante la investigación los 20 animales (vacas) permanecieron con el hato de ordeño, esto con la finalidad de evitar estrés en las vacas.

3.4.1 Alimentación

- Por la mañana las vacas fueron llevadas a la sala de espera, donde se les dio aproximadamente 188 g de sal.
- Durante el ordeño consumieron 2 Kg de alimento balanceado con un 16 % de proteína total y 2950 kcal/Kg de ración (figura 1).



Figura 1. Alimentación con balanceado durante el ordeño
Fuente: fotografía propia

- Luego del ordeño de la mañana las vacas fueron llevadas a los potreros con pastos cultivados, donde permanecieron desde las 6:00 am hasta las 2:30 pm, los pastos presentes en los potreros fueron: alfalfa (*Medicago sativa*), rye grass (*Lolium multiflorum*); pasto azul (*Dactylis glomerata*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y kikuyo (*Pennisetum clandestinum*); en una proporción de 60% leguminosas y 40% gramíneas, las vacas permanecieron al pastoreo durante 8 horas y media durante todo el año (Figura 2).



Figura 2 Alimentación en potreros con pastos cultivados en una asociación de 60% leguminosas y 40% gramíneas.

Fuente: fotografía propia.

- Después del ordeño de la tarde se les proporcionó aproximadamente 9.5 Kg de ensilado o calcha picada de maíz en época de lluvias (Zea maíz), y en época seca hasta 20 kg por día (figura 3).



Figura 3. Alimentación después del ordeño (tarde).

Fuente: fotografía propia

- El consumo de agua para las vacas en etapa de producción láctea fue *ad libitum*.

3.4.2 Sanidad

- El médico veterinario a cargo en la EETAP realizó chequeos del estado de salud de las vacas una vez al mes.
- Los trabajadores de turno en el área de ordeño higienizaron todos los ambientes e infraestructura antes y después del ordeño.

3.5 Métodos

El trabajo de investigación se realizó en tres fases:

3.5.1 Diagnóstico de mastitis subclínica mediante la conductividad eléctrica de la leche (fase I).

a.- Toma de muestra con Milk checker N-4L para análisis y diagnóstico de MSC.

Procedimiento para la obtención de la muestra:

- Se lavó la ubre y pezones con agua y se secó con papel toalla absorbente.
- Antes de obtener la muestra se eliminaron los primeros chorros de leche (despunte) de los cuatro cuartos.
- Se realizó el encendido del equipo.
- Luego se tomó una muestra de leche de cada cuarto en el receptáculo del equipo detector de mastitis subclínica (Milk checker N-4L). presionando el botón “test” para cada muestra evaluada (*Figura 4*).



Figura 4. Toma de muestra de leche.

Fuente: fotografía propia.

- Por último, se hizo la lectura y registro del resultado de la muestra analizada (*Figura 5*)

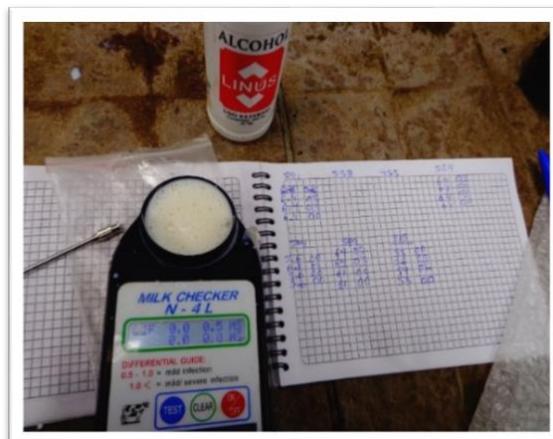


Figura 5. Lectura y registro de datos obtenidos.

Fuente: fotografía propia

- Antes del análisis de cada vaca se presionó el botón “clear “para hacer una nueva lectura entre vaca y vaca.
- Entre cada ubre analizada se lavó y desinfectó con alcohol a 90° el receptáculo del equipo (Milk Checker N.4L) para eliminar posibles residuos de grasa que pudieran obstaculizar una medición normal de los electrodos (*Figura 6*)



Figura 6. Limpieza de los electrodos.

Fuente: fotografía propia.

3.5.2 Tratamientos para la Mastitis Subclínica (Fase II).

Se efectuaron tratamientos en ambos grupos, previo diagnóstico de CE de la leche. Se dividieron a las vacas positivas en 2 grupos con 10 repeticiones.

Cuadro 2. *Distribución de animales para tratamientos.*

	TRATAMIENTO 1 (Cinta de color azul)	TRATAMIENTO 2 (Cinta de color rojo)
PRODUCTO	TS-2(Tilosina base, + Sulfametoxipiridazina, excipiente c.s.p) 20ml (4000mg Tilosina base + 800 mg Sulfametoxipiridazina) /día/3días/aorta abdominal	Agua Bi-destilada Ozonizada (60 µg /ml) 20ml /día / 3 días, vía aorta abdominal
Nº DE REPETICIONES	10 vacas	10 vacas

Fuente: elaboración propia.

a) Tratamiento 1 (Con antibiótico)

El grupo estuvo conformado por 10 vacas de la raza Holstein con 21 cuartos afectados, cuyo distintivo para su identificación fue cinta de color azul en el cuello, las vacas de este grupo recibieron 20 ml TS-2 (4000 mg Tilosina base + 800 mg Sulfametoxipiridazina, excipiente c.s.p) /día / 3 días / por vía aorta abdominal.

- Preparación el antibiótico.

Utilizamos una jeringa descartable de 20 ml en la que procedimos a cargar 20 ml de antibiótico TS-2, cada frasco de antibiótico fue de 100 ml.

b) Tratamiento 2 (agua Bi-destilada ozonizada)

El grupo estuvo conformado por 10 vacas de la raza Holstein con 24 cuartos mamarios afectados, fueron identificadas con cinta de color rojo en el cuello, las vacas recibieron 20 ml de agua ozonizada (60 µg /ml) /día / 3 días, por vía aorta abdominal.

- Preparación del Agua Bi-destilada ozonizada

Utilizando el equipo Ozonificador marca SANITRON ® conectado a un cilindro de oxígeno medicinal de un metro cúbico de capacidad que fue regulado a un flujo de 3 psi conectado al Ozonizador que fue regulado a 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$, se ozonizó 20ml de agua Bi- destilada contenida en un frasco de vidrio transparente conectado a través de una aguja de acero inoxidable por el tiempo de un minuto. Este procedimiento o preparación se hizo en el momento de la aplicación de los tratamientos, es decir “in situ” (Figura 7).



Figura 7. Preparación del agua ozonizada

Fuente: fotografía propia.

El oxígeno que sale del cilindro de oxígeno médico pasa a través del ozonificador, para recibir una descarga eléctrica que lo convierte en ozono, este ozono sale del ozonificador a través de una manguera especial que está conectada al envase de vidrio que contiene en agua Bi-destilada, la misma que al ser ozonizada es cargada en una jeringa estéril para ser aplicada por vía aorta abdominal.

3.5.3 Aplicación de los tratamientos por vía Aorta Abdominal

Procedimiento para realizar la Aorto punción.

Este se llevó a cabo bajo las indicaciones del profesional médico veterinario responsable de la EETAP, siguiendo los siguientes pasos:

- Se ubicó a cada vaca en el brete, una a la vez (figura 8).



Figura 8. Preparación de la vaca, ubicación en el brete para la aplicación del tratamiento respectivo

Fuente: fotografía propia

- Se utilizó como guía el último espacio intercostal para ubicar el lugar de aplicación, llegando al espacio entre la última vértebra torácica y la primera lumbar (figura 9).

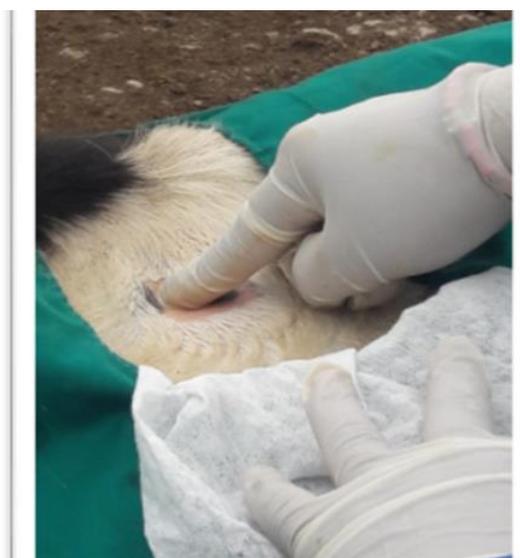


Figura 9. Lugar de aplicación de la vía aorta abdominal.

Fuente: fotografía propia.

- Se hizo la tricotomía de la zona de aplicación, utilizando la tijera mayo y la hoja de afeitar (figura 10).



Figura 10. Tricotomía
Fuente: fotografía propia.

- Se realizó antisepsia en el lugar de punción (lado izquierdo) con alcohol yodado al 3%.
- En este lugar se aplicó 100 mg (5 ml) de anestésico lidocaína 2% por infiltración (figura 11).



Figura 11. Aplicación de anestesia.
Fuente: fotografía propia

- A los 5 minutos de aplicado el anestésico se procedió a la punción de la piel utilizando una aguja número 16 G x 1/2 (se hizo como si fuera sacabocado para que la aguja de Aorto punción no se obstruya con piel al ingresar en el momento de la aplicación), una vez realizada la punción de la piel se retiró la aguja número 16 G x 1/2 (Figura 12).



Figura 12. Punción de la piel en el sitio de aplicación de tratamiento.
Fuente: fotografía propia

- Seguidamente la aguja de aplicación 16G x 20 cm para la vía aorta abdominal fue introducida por entre las vértebras, a la altura del medio del espacio entre la punta de la apófisis espinosa y la apófisis transversa de la vértebra seleccionada para la aplicación del antibiótico o agua Bi-destilada ozonizada; se introdujo oblicuamente en un ángulo aproximado de 25 a 35 grados, en dirección a la aorta abdominal que está en la parte ventral del cuerpo de la vertebra pasando entonces sagitalmente la aguja por la vértebra hasta que se logró puncionar la aorta abdominal, apareciendo un flujo pulsante de sangre por la aguja (figura 13).



Figura 13. Ángulo de aplicación de la aguja de Aorta punción.

Fuente: fotografía propia

- Una vez que la arteria aorta abdominal fue abordada se procedió a cargar la jeringa con 20 ml de agua Bi-destilada ozonizada (60 ug/ml) o antibiótico (figura 14).



Figura 14. Cargando la dosis de agua Bi-destilada ozonizada para la aplicación.

Fuente: fotografía propia

- Inmediatamente se acopló la jeringa con contenido (antibiótico o Agua Bi-destilada ozonizada) y se procedió a aplicar lentamente (figura 15).



Figura 15. Aplicación del tratamiento (antibiótico o agua Bi-destilada ozonizada).
Fuente: fotografía propia

- Después de la aplicación de cada tratamiento se sujetó firmemente la piel para que al retirar la aguja ésta no se levante y no ingrese algún microorganismo, este procedimiento se hizo en dos etapas, primero se halo hacia atrás la aguja hasta que desapareció el flujo de sangre esperando 10 segundos y finalmente se retiró completamente la aguja y se cubrió momentáneamente con algodón estéril el lugar de aplicación.
- Luego de cada aplicación se hizo el lavado de toda la zona utilizando agua con amonio cuaternario para retirar cualquier residuo de sangre que pudiera haber quedado (figura 16).



Figura 16. Lavado de la zona de aplicación del tratamiento para retirar restos de sangre.

Fuente: fotografía propia.

- Se cubrió el lugar de punción con Steri –Strip (figura 18).



Figura 17. Protección del sitio de punción.

Fuente: fotografía propia

- Finalmente se retiró a la vaca del brete, y se registró el procedimiento, para continuar con las demás vacas.

3.5.4 Diagnóstico post tratamiento de mastitis subclínica (fase III)

El diagnóstico post tratamiento se efectuó a través del análisis de conductibilidad eléctrica de la leche con el equipo Milk Checker 4-NL que midió la conductividad eléctrica de las muestras de leche de los cuartos mamarios de las vacas tratadas, y se tomó en cuenta los parámetros del equipo que están en el cuadro 1, la conductividad diferencial permitió interpretar el resultado y concluir en vaca curada o no curada, los resultados dentro de los valores de leche normal (conductividad diferencial < 0.5), fue indicador de que los tratamientos fueron efectivos.

3.6 Análisis estadístico.

En la determinación de la mastitis subclínica con el respectivo tratamiento, y a fin de determinar la significancia de los tratamientos contra la mastitis subclínica fue la Prueba “T” a una probabilidad de confianza $\alpha=0.95$ utilizando el programa R 3.4.4., cuya fórmula fue el siguiente:

$$t = \frac{X_1 - X_2}{\sigma_{x_1 x_2} \sqrt{\frac{2}{N}}}$$

Donde:

T : Valor estadístico del procedimiento.

X₁– X₂ : Valor promedio o media aritmética de las diferencias entre el grupo del antibiótico y el grupo de agua Bi-destilada ozonizada

$\sigma_{x_1 x_2}$: Desviación estándar combinada del antibiótico y del agua Bi-destilada ozonizada.

N : Tamaño de la muestra.

3.7 Del análisis económico

3.7.1 Incremento de la producción de leche

Tabla 1. Producción de leche de vacas del tratamiento 1 y tratamiento 2.

	tratamiento 1 (antibiótico ts-2)	tratamiento 2 (agua Bi-destilada ozonizada)
Antes del tratamiento	531 litros	477.1 litros
Después del tratamiento	542.7 litros	521 litros
Incremento	11.7 litros	44.8 litros

Fuente: elaboración propia.

3.7.2 Pérdidas por efecto del fármaco

Tabla 2. Pérdidas por descarte de leche durante los tratamientos 1 y 2

	Tratamiento 1		Tratamiento 2	
	L	%	L	%
Producción de leche	950.7		927	
Descarte de leche	950.7		0	
Leche para la venta	0		927	
Perdida por descarte de leche	950.7	100%	0	0%

Fuente: elaboración propia.

3.7.3 Costos de los tratamientos

Tabla 3. Costo de los tratamientos 1 y 2 en soles.

Tratamiento 1 con antibiótico TS-2		Tratamiento 2 con agua Bi-destilada ozonizada	
Nombre	Precio S/.	Nombre	Precio S/.
Antibiótico	11.00	Ozonizador	0.07
Jeringa 20 ml	0.50	Botella de oxígeno	0.16
Jeringa 5 ml	0.15	Carga de oxígeno	0.25
Algodón, yodo	0.10	Jeringa de 20 ml	0.50
Lidocaína	0.75	Jeringa de 5 ml	0.15
Aguja 16 G por 1/2	0.10	Aguja 16 G por 1/2	0.10
Mano de obra	10.00	Algodón y yodo	0.10
		Lidocaína 2%	0.75
		Agua Bi-destilada	0.20
		Mano de obra	10.00
TOTAL	22.60	TOTAL	12.28

Fuente: Elaboración propia.

3.7.4 Ingresos por producción de leche durante el tratamiento

Tabla 4. Incremento de producción de leche después del tratamiento.

	Tratamiento 1	Tratamiento 2
Incremento S/.	43.20	162.00

Fuente: elaboración propia.

3.7.5 Del B/C

Para evaluar el costo beneficio se halló la relación costo beneficio con la siguiente fórmula:

$$B/C = \frac{IT}{CT}$$

Donde:

C/B = Relación Costo Beneficio.

IT = Ingreso Total

CT = Costo Total

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Diagnóstico de mastitis subclínica

Los animales fueron evaluados mediante conductibilidad eléctrica de la leche a un total de 36 vacas de acuerdo al registro de vacas en ordeño de las cuales resultaron 20 vacas con valores de conductividad diferencial positivas a mastitis subclínica y que representan un total el 55.56 % de las vacas en etapa de producción láctea.

Tabla 5. Vacas positivas por valores de conductividad eléctrica en la leche a MSC.

VACAS EVALUADAS	VACAS POSITIVAS A MSC	%
36	20	55.56

Fuente: elaboración propia.

La tabla 1 indica que 20 vacas fueron afectadas con MSC, lo que representa el 55.56% de la población total estudiada, que es un porcentaje alto, porque más de la mitad de la muestra tomada presenta mastitis subclínica, este resultado indica que la producción de leche de las vacas con mastitis subclínica no es leche sana, y la producción de la misma se encontró disminuida ya que las alteraciones que se presentan como consecuencia de la mastitis subclínica afectan tanto la salud del animal, la calidad de la leche, el medio ambiente y la economía del productor por las pérdidas que ocasiona esta enfermedad subclínica, La conductibilidad eléctrica de la leche se incrementa durante la mastitis debido al alto contenido electrolítico, principalmente de iones Na^+ y Cl^- y la disminución en K^+ , Ca^+ y P^+ y lactosa (Morin y Hurley, 1994). La alteración del tejido mamario causa en la barrera sangre-leche el escape de Na^+ y Cl^- hacia la leche a través de la vía paracelular, por ruptura de las uniones de las células. El incremento de conductividad por encima de un valor determinado es indicación de mastitis (Philpot y Nickerson, 1993).

“La alteración en el contenido electrolítico en leche, es uno de los cambios más tempranos que ocurren en el desarrollo de la mastitis” de ahí la importancia de este método (National Mastitis Council, 1995), por lo que la conductibilidad eléctrica de la leche se incrementa durante la mastitis debido al alto contenido electrolítico, principalmente de iones Na^+ y Cl^- y la disminución en K^+ , Ca^+ y P^+ y lactosa (Morin y Hurley, 1994) y las alteraciones del tejido mamario causa en la barrera sangre-leche el escape de Na^+ y Cl^- hacia la leche a través de la vía para celular, por ruptura de las uniones de las células y el incremento de conductividad por encima de un valor determinado es indicación de mastitis (Philpot y Nickerson, 1993). *“La alteración en el contenido electrolítico en leche, es uno de los cambios más tempranos que ocurren en el desarrollo de la mastitis”* de ahí la importancia de este método (National Mastitis Council, 1995).

Los datos de mastitis subclínica obtenida en el presente estudio, son considerados altos en comparación con lo encontrado por Esperilla (2014) que realizó en los meses de noviembre 2014 a enero 2015 en las comunidades de Huamanruro y Bajo Ccollana del distrito de Macarí – Puno, con el objetivo de determinar la prevalencia de mastitis subclínica en vacas mediante la prueba de California Mastitis, los resultados para vacas de la comunidad de Huamanruro fueron de 28,10 % y para la comunidad de Bajo Ccollana fue 23,90 %. Y frente a los datos reportados por Colque (2015) en el distrito de Chamaca, provincia de Chumbivilcas, Cusco-Perú, determinó la prevalencia de MSC en vacas Brown Swiss, mediante la prueba de California Mastitis Test (CMT), que encontró en un total de 136 una prevalencia de 19.85%, valores inferiores a los hallados en esta investigación, esta diferencia puede deberse a el sistema de crianza que en los animales que se sometieron a estudio, que todas ellas son sometidas a ordeño mecánico a diferencia que en nuestra zona en la gran mayoría es por ordeño manual, por otra parte la raza estaría

influyendo en la presencia de la MSC es mayor en vacas de alta producción como lo es la raza Holstein, tal como se muestra en los resultados obtenidos para la mastitis subclínica.

Por otra parte la mastitis subclínica está presente en los animales que se sometieron a estudio en el distrito de Cupi, provincia de Melgar, realizado por Mamani, (2014), durante la época de lluvia de enero a marzo del 2014, quien determinó la prevalencia de mastitis subclínica en los cuartos mamarios el cual encontró el 35,85 %; 34,91 %; 24,10 % y 22,17 % de prevalencia para el cuarto mamario anterior derecho, anterior izquierdo, posterior derecho y posterior izquierdo, respectivamente, estos datos son inferiores a los encontrados en el trabajo de investigación, que pueda deberse al sistema de crianza de los animales que es muy distinta en Chimborazo que es a menor altitud a los reportado por Mamani (2014).

Cabe indicar que existen factores que pueden alterar el ciclo normal de la lactancia como la mastitis, catalogada como la afección en las vacas lecheras más costosa a nivel mundial (Bedolla, 2008) estando de acuerdo que la mastitis subclínica es considerada una afección multifactorial debido a que depende de la virulencia del patógeno involucrado y la susceptibilidad del animal frente a cada infección (Bonetto, 2014), por lo que se considera como una enfermedad infecciosa muy común en la mayoría de hatos lecheros (Ayala, *et al.*, 2017); que se trata de la inflamación de las glándulas mamarias de causa, curso y consecuencias diversas que afecta a las vacas en producción (Peláez, 2015), ya que la zona de estudio fue a 2 754 metros de altitud y todas ellas fueron animales de la raza *Holstein*, y es probable que la susceptibilidad frente a la mastitis sub clínica es mayor en estos animales comparando con las vacas de la raza *Brown Swiss*, y también influye el

sistema de crianza, clima que es muy distinto a de nuestra zona, tipo de manejo y sistema de alimentación.

En las vacas que muestran mastitis subclínica la leche secretada sufre cambios existiendo un aumento de las proteínas solubles y altera los valores de sal, ocasionado la disfunción de las células de la glándula mamaria dando una vía directa de los compuestos de la sangre a la leche y la proliferación de microorganismos colabora a la destrucción del tejido secretor, que esta característica se dio en los animales que se sometieron a estudio, estando de acuerdo con lo manifestado por Mariscal, *et al.*, (2014) y la mastitis está relacionada con la patogenicidad de los distintos microorganismos y la habilidad para invadir los tejidos mamaros, así como la resistencia que tiene el animal (Chaves, *et al.*, 2017), que este hecho está influenciado por la alimentación que se imparte a los animales y condiciones de manejo en los animales sometidos a producción de leche, ya que los animales de la raza *Holstein* son más susceptibles a la invasión de patógenos que causan inflamación de la ubre, el microorganismo que se encuentra siempre presente y a la vez están asociados a la mastitis, podremos determinar si existe algún tipo de lesión siendo una vía de entrada para el microorganismo (Mendoza, *et al.*, 2017), teniendo en cuenta que los organismos ambientales son transferidos por medio de la suciedad presente en la ubre y la superficie de los pezones sin desinfectar, así como la inadecuada limpieza e higiene del equipo de ordeño y sus utensilios, estos factores es probable que conllevaron a la presencia de la mastitis subclínica en los animales que se sometieron a estudio.

En las vacas que se sometieron a estudio para la determinación de la mastitis subclínica que no se detecta a tiempo, por eso es importante realizar con frecuencia la detección de la mastitis; de lo contrario el impacto económico será mayor por reducción en la producción (Bolaños, 2012), sin embargo, los casos de mastitis subclínica se

caracterizan por disminución en la producción y calidad de la leche encontrando en las pruebas diagnósticas un aumento en el conteo celular por aumento de componentes inflamatorios y bajas concentraciones en caseína, lactosa y lacto albúmina (Ramírez *et al.*, 2011; Smith, 2010) y frente a la durabilidad de la mastitis subclínica depende del microorganismo causal y de la eficacia de los mecanismos de defensa del huésped (Reyes y Arguello, 2015), es por ello que la monitorización de los animales que están en producción es fundamental a fin de contrarrestar la presencia de la enfermedad y a ella se suma el tratamiento oportuno frente a la mastitis subclínica.

4.2 Evaluación de la efectividad del tratamiento con agua ozonizada y con ts-2 por vía aorta abdominal

La tabla 6 muestra el promedio y la desviación estándar de la conductividad eléctrica obtenida luego del tratamiento con agua ozonizada y el tratamiento con antibiótico (TS-2) siendo los resultados los siguientes:

Tabla 6. Resultados del análisis estadístico, conductividad eléctrica de leche por efecto de dos tratamientos.

	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Valor de P
N	10 vacas	10 vacas	
Promedio ± DS	0,21 ± 0,08_n	0,26 ± 0,09_n	0,263

N = Numero de muestras

DS = Desviación Estándar

P = Promedio

Fuente: elaboración propia.

La tabla 6 muestra como promedio del tratamiento 1, $0,21 \pm 0,08$ mili Siemens (ms/cm) mientras que el promedio para el tratamiento 2 fue de $0,26 \pm 0,09$ mili Siemens (ms/cm), sometidos a la prueba estadística de T, no se halló diferencia significativa; por lo tanto, podemos indicar que el tratamiento con antibiótico y el tratamiento con agua Bi-destilada ozonizada tienen efecto similar contra la MSC.

Al realizar el análisis de conductividad eléctrica en la leche al tercer día post-tratamiento (tratamiento 1 y 2) en todas las vacas tratadas en ambos grupos, encontramos valores de conductividad general menores que 6.2 y valores de conductividad diferencial menores que 0.5 milisiemens (anexo B), que indica que la leche está dentro de los parámetros establecidos para las vacas sanas lo que se demostró que el 100% de vacas de cada grupo se recuperaron con los tratamientos, confirmando así la efectividad del agua Bi-destilada ozonizada en comparación con el antibiótico.

Los resultados de esta investigación muestran que con el tratamiento 1 se recuperaron las 10 vacas, del mismo modo que con el tratamiento 2 también se recuperaron las 10 vacas tratadas, lo que significa que el porcentaje de recuperación fue del 100% en ambos tratamientos y es mayor en comparación con lo que encontraron Arichabala y Argudo (2012) quienes aplicaron ozono gas vía intramamaria (50 ml con 35 μ g/ml/ 3 días), suero ozonizado vía intramamaria (50 ml con 35 μ g/ml/ 3 días), ceftiofur (1.6 mg /kg /pv / 3 días), habiendo obtenido como resultados en el tratamiento con antibiótico el 83% de las vacas curadas; tratamiento con gas ozono vía intramamaria el 76,7% de vacas curadas y el tratamiento con suero ozonizado vía intramamaria obtuvo el 33.3 % de vacas sanas; los resultados de nuestra investigación son diferentes a los resultados obtenidos por Argudo y Soria, (2017) que con el tratamiento con Gas Ozono por vía intramamaria 35 μ g/ml /24 horas /3 veces mostro la recuperación del 77.8% de animales con mastitis; de los tratados con solución Salina Ozonificada vía intramamaria 35 μ g mL /24 horas /3 veces, se recuperaron el 33.3%, y con el uso del ceftiofur vía IM/ 24 horas /3 veces, se recuperaron el 83.3% de los animales con mastitis, no encontraron diferencia estadística significativa ($P>0.05$) con respecto al tratamiento GO, es decir, el tratamiento GO y el Control (ceftiofur), tuvieron la misma respuesta frente al tratamiento de la mastitis, lo que indica que la reducción de la carga bacteriana y la recuperación de las células epiteliales de los

acinis mamarios fue eficiente con estos tratamientos. En consecuencia, con estos resultados como evidencias queda probado el efecto positivo del ozono al igual que el antibiótico, pese a que existe una diferencia en cuanto al porcentaje de vacas sanas logradas, es posible que la causa sea la concentración de ozono utilizada, a diferencia que en el presente trabajo de investigación se utilizó la ozono a una concentración de $60\mu\text{mL}$ y la vía que se utilizó fue la aorta abdominal. Se ha demostrado que concentraciones de Ozono comprendidas entre 10 a $78\ \mu\text{g/mL}$ de sangre es la dosis necesaria produce la estimulación de los leucocitos por un metabolismo hemodinámico con la reducción de la liberación progresiva de las citocinas (Menéndez, 2008).

Por otro lado, el tratamiento con agua Bi-distilada ozonizada recupera eficazmente los cuartos mamarios afectados con mastitis subclínica, gracias a la acción biológica y efecto del ozono, que interfiere e interrumpe el metabolismo de las células bacterianas a través de la inhibición y el bloqueo de la operación metabólica del sistema de control enzimático, estando de acuerdo con lo que menciona Schwartz (2012), que al ser administrada por vía aorta abdominal el Ozono se disuelve en el plasma, en fluidos extracelulares o en la fina capa de agua que cubre la piel o las mucosas, rápidamente reacciona con compuestos orgánicos que poseen dobles enlaces de carbono-carbono, principalmente antioxidantes, proteínas, carbohidratos, ácidos grasos poliinsaturados que se encuentran en un nivel elevado en fluidos y estructuras celulares del organismo (Menéndez, *et al.*, 2008). El Ozono también actúa en el metabolismo del oxígeno, elevando el potencial oxidativo de la sangre y aumentando la capacidad de la hemoglobina para transportar oxígeno, debido a que el Ozono es un potente oxidante (cede electrones en forma de oxígeno a otras moléculas más reducidas), al mismo tiempo, incrementa la concentración de oxígeno en el plasma y la sangre estará oxigenada (García, 2014).

La ozonoterapia utilizada en la presente investigación para el tratamiento de la mastitis está relacionada con el estrés oxidativo y su mecanismo de acción en este proceso es a través de la producción de un pequeño y controlado estrés oxidativo que se da por las defensas antioxidantes del organismo según lo que indica Schwartz (2012), en la que la generación de pro-oxidantes se da por una equilibrada relación de consumo por los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. De acuerdo con investigaciones realizadas se ha dado a conocer que las bajas concentraciones fisiológicas de agentes pro-oxidantes pueden desempeñar funciones importantes dentro de la célula (Menéndez *et al.*, 2008).

Comparando el efecto antiinflamatorio del ozono utilizada en el tratamiento de la mastitis subclínica, se han realizado investigaciones obteniendo resultados que demostraron que la ozonoterapia disminuye significativamente las citoquinas pro inflamatorias (IL- 1 β , IL-6 y TNF- α) que están aumentadas en procesos inflamatorios crónicos, tal es el caso de la mastitis clínica entre otras patologías mamarias, por ende, al disminuir los mediadores pro inflamatorios reduce el dolor (Instituto Argentino de Ozonoterapia, 2015), el mismo hecho se ha suscitado en las vacas que se sometieron a estudio para el tratamiento de la mastitis subclínica, por lo que el ozono medicinal disminuye la concentración de mediadores bioquímicos como las quininas, histamina y bradicinina a nivel local, permitiendo obtener una acción antiinflamatoria y analgésica (González, 2011).

En el estudio realizado en Santa Cruz de la sierra – Bolivia por Rojas *et al* (2018) determinó que la eficacia del tratamiento con ozono gas en la mastitis en dosis de 35 μ g/mL en 50 mL de gas/cuarto; encontraron que el 23% de los cuartos tratados se recuperaron, el 39% mejoraron, 29% de los cuartos tratados continuaron iguales y solo el 9% empeoraron a pesar del tratamiento (Rojas, *et al.*, 2018); si bien es cierto que en este

caso los porcentajes de vacas recuperadas de mastitis son mucho menores que los obtenidos por Arichabala y Argudo (2012), Argudo y Soria, (2017) y el presente trabajo de investigación, también muestra el efecto curativo del ozono frente a la mastitis subclínica.

Por otra parte, a partir de los hallazgos encontrados en esta investigación a través de los cuales se demostró la efectividad del agua Bi-destilada ozonizada contra la MSC aplicada por vía aorta abdominal coincide con lo manifestado por Gotarenko (1969) y Rizo *et al*, (1981) que la Aorto punción tiene fines terapéuticos en caso de diferentes patologías de los órganos de las cavidades abdominales y pélvicas. En la patología de la ubre y los miembros pelvianos la Aorto punción es un método terapéutico insustituible, que permite obtener resultados excepcionales (Plajotin, 1982). Puede considerarse un tratamiento terapéutico con resultados buenos, permitiendo obtener rápidamente buenos efectos antimicrobianos cuando los antibióticos son administradas por vía aorta abdominal (Castro, 2013).

En virtud a la resultados de esta investigación en que el total de vacas tratadas de cada grupo se recuperaron con los tratamientos, guarda relación con los resultados de la investigación que hicieron Rizo, *et al*, (1981) en Cuba, donde evaluaron la eficacia terapéutica de los antibióticos para la mastitis, los fármacos empleados fueron, para el grupo 1 vía aorta abdominal con penicilina (2x106 UI) y estreptomycin (2g), diluidas en solución de novocaína 0,5% a otro grupo (II), se le aplicó igual cantidad de antibióticos, pero sin novocaína y vía intrauterina, la eficacia de los tratamientos fue de 97,5% para los grupos I y II respectivamente y la media de tratamiento fue de 1.58 y 2.32 y el tiempo de recuperación de 3.11 y 4,6 días en igual orden de cita, el mismo hecho se presentó en la vacas que se sometieron a estudio, en la que los resultados a que la vía empleada

permite una rápida y mayor difusión de los medicamentos en el órgano afectado, que ejerce un efecto beneficioso como terapia etiopatogénica, estando de acuerdo con lo manifestado por Rizo, *et al*, (1981). También se empleó la vía de la aorta abdominal con los mismos antibióticos, pero diluidos en solución de lidocaína y obtuvieron un 100% de recuperación según lo manifestado por Menéndez *et al*, (1982), anatómicamente la sangre fluye directamente de la aorta abdominal hacia la parte posterior del animal y retorna por las venas después de haber depositado los medicamentos enviados en los diferentes órganos (Castro, 2013), esta fue la característica por la que se utilizó esta vía en los animales que se sometieron a tratamiento de la mastitis subclínica.

El tratamiento con el antibiótico (TS-2) recupera los cuartos mamarios afectados por su acción bactericida de amplio espectro que actúa contra bacterias Gram positivas, Gram negativas y micoplasmas, por lo tanto, disminuye la MSC.

4.3 Costo beneficio de los tratamientos de mastitis subclínica en vacunos Holstein

Evaluación de la relación costo /beneficio, considerando todos los gastos adicionales incurridos para cada tratamiento,

Tabla 7. Resumen de evaluación costo /beneficio de los tratamientos aplicados.

	Ingreso Total Mg	Costo Total Mg	Relación. C/B
Tratamiento 1 (TS-2)	162	S/12.28	13.2
Tratamiento 2 (agua Bi-destilada ozonizada)	43.2	S/22.6	1.91
		Diferencia	11.29

Fuente: elaboración propia.

La tabla 7 muestra los ingresos adicionales obtenidos que se basan en el nivel de producción antes y después del tratamiento para lo cual se consideró el promedio de producción diario multiplicado por producción mensual.

Tabla 8. *Incremento de la producción de leche del grupo 1 y grupo 2.*

	Tratamiento 1 (antibiótico TS-2)	Tratamiento 2 (agua Bi-destilada ozonizada)
Antes del tratamiento	531 litros	477.1 litros
Después del tratamiento	542.7 litros	521 litros
incremento	11.7 litros	44.8 litros
TOTAL	2.17 %	8.96 %

Fuente: elaboración propia.

La evaluación costo/beneficio permite afirmar que el tratamiento con agua ozonizada permite obtener el logro de mayores beneficios que el tratamiento con antibiótico

La tabla 8 muestra el incremento en la producción de leche comparando la producción de antes del tratamiento (4 días) y después del tratamiento (4 días); en ambos casos existe incremento de la producción de leche, lo que significa que los tratamientos tuvieron un efecto positivo en la producción de leche, sin embargo, comparando las cantidades, el tratamiento con ozono tuvo un mayor incremento en comparación con el tratamiento con antibiótico.

Tabla 9. *Costo de la leche descartada del grupo 1 y 2*

Grupo de tratamiento	Total de leche producida durante el tratamiento y post tratamiento (7 días)	Descarte de leche	cantidad descartada (litros)	%	Costo en s/.
GRUPO 1 TS-2 (Tilosina+ Sulfametoxipiridazina)	950.7	SI	950.7	100%	1140.84
GRUPO 2 Agua Bi-destilada Ozonizada	927	NO	0	0%	1112.64

Fuente: elaboración propia.

En la tabla 9 se muestra la producción de leche del grupo con tratamiento 1 durante los días de tratamiento y post tratamiento con antibiótico (Tilosina + Sulfametoxipiridazina), con este tratamiento hay descarte de leche por los residuos de antibiótico que contiene, que hacen que no sea apta para consumo humano; lo que genera una pérdida económica para el productor y a la vez también representa contaminación para el medio ambiente. También muestra que el grupo con el tratamiento 2 (Agua Bi-destilada Ozonizada) en los 7 días de tratamiento, la cantidad de leche producida es apta para el consumo humano puesto que no tiene cambios en su composición por que no se utilizaron químicos o fármacos, se aplicó un tratamiento completamente ecológico, que no es nocivo, por lo tanto, NO hay descarte de leche, lo que representa una mejora positiva para la producción de leche y consecuentemente una gran ventaja, además de no contaminar el medio ambiente.

Peláez, H (2012) realizó un trabajo de investigación en 50 bovinos mestizos en producción láctea con mastitis subclínica. Las mismas que fueron positivas al reactivo CMT (California Mastitis Test) Formó cinco grupos, a los cuales les aplico diferentes tratamientos: Tratamiento 1 (T1) con antibióticos: 10 vacas en ordeño se les aplicó con inyectores intramamarios antibiótico Cobactan (Cefquinoma 75mg) y por vía intramuscular Cobactan 2.5% (Cefquinoma 25mg) por un lapso de tres a cuatro días. Tratamiento 2, 3 y 4 (T2 -T3-T4) con ozonoterapia en dosis de: 10mgO₃, 20mgO₃, 60mgO₃ respectivamente. Tratamiento 5 (T5) testigo, se dejó sin tratar; encontró que el ozono en el tratamiento de mastitis con diferentes concentraciones y tiempo de exposición resultó que la dosis más alta del ozono, es decir, la que contiene 60 mg/cuarto en 60 segundos (T4), disminuye la infección considerablemente. Así mismo, se observó que el uso de antibióticos presenta en los animales una mejoría estadísticamente significativa respecto al ozono, pero con un costo mucho más elevado por tratamiento. Los animales

infectados con mastitis se recuperan mucho más rápido con el tratamiento de antibiótico, es decir 24 horas antes que con el tratamiento de ozono. El tiempo de recuperación de los animales intervenidos con ozono se inició a partir de las 48 a 72 horas después de aplicar el medicamento. Mediante la prueba de Duncan determinó, que el mejor tratamiento es el uso de antibiótico y el T4 respectivamente, aunque si se considera el valor económico por tratamiento, el ozono es más conveniente por tener un bajo costo (\$ 9,95 /animal/3días) y no inducir resistencia en los microorganismos, a diferencia del costo del tratamiento con antibiótico (\$ 31,26/animal/3 -4 días) que es económicamente no recomendable. En efecto los costos generados en este trabajo de investigación con similares a los encontrados por Peláez, si bien es cierto ambos tratamientos son efectivos, con el mismo porcentaje de vacas logradas sanas, en cuanto al gasto o costo por tratamiento es desventajoso en el tratamiento 1 con antibiótico TS-(S/ 22.60 cada tratamiento) en comparación con el tratamiento 2 con agua Bi-destilada ozonizada (S/ 12.28 cada tratamiento).en efecto estos resultados indican que, pese a que ambos tratamientos son efectivos, el tratamiento con agua ozonizada tiene mayores ventajas para el usuario en cuanto a efectividad, economía y cuidado del medio ambiente.

V. CONCLUSIONES

- El tratamiento con agua Bi-destilada ozonizada por vía aorta abdominal es efectivo contra la MSC.
- Como resultado del diagnóstico 20 vacas fueron positivas a MSC que es el 55.56% del total de vacas en producción.
- El tratamiento con agua Bi-destilada ozonizada tuvo el mismo porcentaje de vacas curadas que el tratamiento con antibiótico.
- El uso de agua Bi-destilada ozonizada en el tratamiento de MSC representa un menor costo y un mayor beneficio que el tratamiento con antibiótico.
- El tratamiento con agua Bi-destilada ozonizada tuvo más ventajas a comparación del uso de antibiótico como: obtener leche de calidad y mejorar la producción incrementándola.
- El uso del agua Bi-destilada ozonizada por vía aorta abdominal es un tratamiento ecológico y su importancia radica en que permite obtener leche orgánica.
- El uso de agua Bi-destilada ozonizada en el tratamiento de MSC no representa pérdida de leche por descarte.

VI. RECOMENDACIONES

- Utilizar el agua Bi-destilada ozonizada por vía Aorta Abdominal como tratamiento para curar la mastitis subclínica.
- Establecer protocolos de tratamiento en base a los resultados obtenidos.
- Realizar capacitaciones dirigidas a profesionales técnicos y usuarios, sobre la aplicación de tratamientos por la vía aorta abdominal.
- Realizar trabajos de investigación sobre el uso de agua Bi destilada ozonizada como alternativa de tratamiento para otras enfermedades.
- Se debe contar con la infraestructura adecuada para una correcta sujeción de los animales y una adecuada aplicación de los tratamientos por vía aorta abdominal

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta Moreno A, Mira Hernández J, Posada Arias S. 2017. *Tópicos en mastitis bovina: desde la etiología hasta algunas terapias alternativas*. Journals of Agriculture and Animal Sciences, 6(1): p. 45
- Actas Iberoamericanas de Conservación Animal AICA. 2015 6 598-616.
- Acuña, V., & Rivadeneria, A. 2008. *Aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de pichincha*. Escuela politécnica del ejército. Sangolquí: Escuela Politécnica del Ejército. Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2553/1/T-ESPEIASA%20I003435.pdf>
- Aguilera, R. 1983. *Influencia del curso de la mastitis y del tipo de secreción mamaria sobre la efectividad del tratamiento con estreptomicina por diferentes vías*. Rev. Salud Anim., 5, 1-13.
- ANUPCO Medicina Veterinaria. 2018. obtenido de:
<http://www.nutropic.com/productos/medicina-veterinaria-anupco.html>
- Arauz S, E. 2011. *La mastitis subclínica y su influencia en la producción, calidad y economía lechera y medidas de manejo estratégico para su prevención y control apropiado*. Obtenido de <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/mastitis-subclinica-t28995.htm>
- Argudo, D.E., Soria, C.A. 2017. *La ozonoterapia como alternativa de tratamiento para la mastitis clínica en ganado de leche*. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Ecuador. MASKANA, Producción Animal-2017
<https://www.researchgate.net/publication/322147774>.
- Ayadi, M. 2003. *Evaluación de la estructura interna de la ubre mediante ecografías y efecto de la frecuencia de ordeño en vacas lecheras*. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma. Barcelona, España
- Ayala T, Andía JJ, Vidalina A. 2017. *Mastitis bovina por recuento de células somáticas con PortaSCC® y Test de California en el fundo de Allpachaca –UNSCH, Ayacucho, Perú*. REDVET.; 18(7).

- Arichavala N, Argudo D. 2012. *El empleo de la ozonoterapia en ganadería de leche como alternativa de tratamiento para la mastitis clínica*. Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Agropecuarias Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Bannerman D., Paape M., Hare W., Sohn E. 2003. *Increased levels of LPS-binding protein in bovine blood and milk following bacterial lipopolysaccharide challenge*. J. Dairy Sci., Vol. 86, pp.3128–3137
- Baravalle, C. 2011. *Aplicación de Panax ginseng como inmunomodulador intramamario durante el periodo de involución de la glándula mamaria bovina*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina
- Bedolla, C. 2007. *Métodos de Detección de la Mastitis Bovina*. REDVET, 1-15.
- Bedolla. 2008. *Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera*. REDVET, 1-26. Recuperado el 30 de enero de 2018
- Bernal RMR. 2014. *Evaluación del efecto de la ozonoterapia en perros con problemas de dermatitis bacteriana en la ciudad Cuenca Provincia del Azuay*. Tesis de licenciatura, Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador.
- Bocci, V. 2010. *Ozone: A new medical drug* (2a ed.). Springer Science & Business Media.
- Bolaños, F.O. 2012. *Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico*. REDVET; 13(11)
- Bonetto, C. C. 2014. *Mastitis bovina causada por Staphylococcus coagulasa negativos*. Buenos Aires: Universidad Nacional de La Plata.
- Boscan J., Villaroel R., Oviedo A., Sánchez A., Pino D., García D., Hernández L. y Pérez M. 2009. *Bacterias patógenas potenciales al inicio del período seco de vacas doble propósito con mastitis subclínicas*. Rev. Científica 19 (3), pp: 277 – 283.
- Bradford, P. 2010. *Medicina Interna de grandes animales*. Cuarta edición. Editorial El sevier. España
- Briones, D. 2012. *Uso de aceite ozonizado en la castración de cerdo*. Tesis médico veterinario, Universidad Agraria del Ecuador.
- Castro, L. 2013. *Punción de la aorta abdominal en bovinos*. Cuba <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/puncion-aorta-abdominal-bovinos-t30181.htm>
- Cervantes P, Portela S, Hernández A, Domínguez B, Gómez-Boucrin F, VillagómezCortes J. 2017. *Aislamiento de patógenos causantes de Mastitis Subclínica en vacas del trópico húmedo en Veracruz- México*. Actas Iberoamericanas en Conservación Animal.

- Chaneton, L. 2010. *Nuevos enfoques en el diagnóstico, prevención y tratamiento de la mastitis bovina a través del uso de moléculas con acción antimicrobiana*. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.
- Chaves Velásquez, Vallejo Timarán, Astaíza Martínez, Benavides Melo J, Chaves Chunata. 2017 enero-junio. *Hallazgos histopatológicos en la glándula mamaria de bovinos diagnosticados con mastitis clínica en la planta de beneficio del municipio de Ipiales, Colombia*. Revista de Medicina Veterinaria-La Salle, (33), p. 45.
- Clement Pelaez Elizabeth Gheder 2010. *Sulfonamidas y Antivirales*, Revista de Actualización Clínica (28). Recuperado de cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fam828e/doc/fam828e.pdf.
- Colque P.U. 2015. *Determinación de la prevalencia e incidencia de mastitis subclínica en vacunos Brown Swiss del distrito de Chamaca - Chumbivilcas – Cusco*. Universidad Nacional del Altiplano, facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – Puno.
- Davis, J.G. 1975. *The detection of sub-clinical mastitis by electrical conductivity measurements*. Dairy Industries. 286-291
- Elizondo, J. 2010. *Anatomía de la ubre y secreción de la leche*. ECAG informa (54), 32-35.
- Esperilla, 2014. *Prevalencia de mastitis sub clínica bovina en las Comunidades de bajo Ccollana y Huamanruro del distrito de Macarí - Melgar – Puno*, Tesis para optar el título profesional de M.VZ., Puno – Perú. 29 pp.
- Espinoza, O. 1986. *Fisiopatología de la mastitis*, Artículo en revista colombiana de ciencias pecuarias
- FAO (Food and Agriculture Organization, IT). 1999. *Comisión Del Codex alimentarius* (en línea). ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/CCS/CCS7/S00_03s.pdf.
- Faria, J., 2005. *Detección de mastitis subclínica en bovinos mestizos doble propósito ordeñados en forma manual o mecánica*. <http://www.serbi.luz.edu.ves/scielo.pdf>, 30pp
- Fernández, O., Trujillo, J., Peña, J., Cerquera, J., & Granja, Y. 2012. *Mastitis Bovina: Generalidades Y Métodos de Diagnóstico*. REDVET, 1-11
- Fernando Mosquera Jaramillo. 2017. *Influencia de la ozonoterapia en el balance oxidativo de équidos*. Universidad de los Llanos Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

- García LJ. 2014. *Efectividad de la inyección eco guiada de peróxido de Oxígeno (Ozono) en artropatías intervertebrales del equino*. Tesis de maestría. Universidad de Buenos Aires en medicina deportiva del equino. Buenos Aires, Argentina.
- Gasque, R. 2008. *Enciclopedia Bovina*. 1st ed. México: Universidad Nacional Autónoma de México. p 433
- Glauber, C. 2007. *Fisiología de la lactación en la vaca*. Argentina: M.V. Dpto. Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias
- Gloobe, H. 1989. *Anatomía aplicada de bovino*. Servicio Editorial II CA. Turrialba, Costa Rica
- Gontarenko V.N., Чехоева О.А, Бурякина С.А., Алимурзаева М.З. 2016 *Аневризма инфраренального отдела аорты в сочетании с подковообразной почкой: клиническое наблюдение (Aneurisma de la aorta infrarrenal en combinación con un riñón en herradura: una observación clínica)* N 3.-S.63-70. Biblia 19 títulos <http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=338302>
- Gontarenko, V.S. 1969. *Las investigaciones clínicas experimentales de la acción terapéutica de la novocaína inyectada intra-arterial en casos de endometritis puerperal del ganado bovino*. Trabajos Científicos del Instituto Zootécnico de Jarkov, Rusia
- González E. 2011. *Ozonoterapia en flebología*. International Journal of Ozone Therapy. 12:43-60.
- Green, M. 2002. *Mastitis in dairy cows*. University of Nottingham: School of Veterinary Medicine and Science. Obtenido de <https://www.nottingham.ac.uk/...talks/mastitis-in-dairy-cows.pdf>
- [https://www.QUIMINET.com/articulos/el-agua-bidestilada-y-sus aplicaciones-2848611.htm](https://www.QUIMINET.com/articulos/el-agua-bidestilada-y-sus-aplicaciones-2848611.htm)
- IAOT (Instituto Argentino de Ozonoterapia). 2015. *Ozonoterapia. Efecto analgésico y antiinflamatorio del dolor*. www.iaot.com.ar/analgesicoantiinflamatorio (01 de septiembre de 2015).
- Kramer MS, Chalmers B, Hodnett ED, Sevkovskaya Z, Dzikovich I, Shapiro S, Collet JP, Vanilovich I, Mezen I, Ducruet T, Shishko G, Zubovich V, Mknuk D, Gluchanina E, Dombrovskiy V, Ustinovitch A, Kot T, Bogdanovich N, Ovchinnikova L, Helsing E. 2014, for the PROBIT Study Group. *Promotion of Breastfeeding Intervention Trial (PROBIT): a randomized trial in the Republic of Belarus*. JAMA; 285:413-20

- Kun Kang D, Zhao LY, Li Wang. 2016. *Efeitos citotóxicos de anestesia local com lidocaína/ropivacaína em linhagens celulares de melanoma humano*. REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA. Septiembre; 66(6): p. 595.
- Leal M. 2014, enero-junio. *Eficacia antibacteriana de extractos de plantas: aplicación clínica en mastitis bovina*. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica; 17(1): p. 180.
- Lensbergen L, M. Nielen, A. Pengov y H. Schukken, 1994. *Evaluation of prototype On-Line Electrical conductivity system for detection of subclinical mastitis*. J Dairy Science.
- Litter M. 2001. *Compendio de Farmacología; Sulfonamidas y otros quimioterápicos*; 4ta edición; Editorial “El Ateneo”; Buenos Aires - Argentina; 292-293; 750-759
- Lumb W, Jones W. 1979. *Anestesia Veterinaria*. In Lumb W. Anestesia Veterinaria. México: Continental S.A; p. 380-387.
- Madigan M.T., J.M. Martinko and J. Parker, Brock. 2003. *Biology of Microorganisms*. 10th Edition, Prentice Hall. USA
- Mamani, 2014. *Prevalencia y factores de riesgo de mastitis subclínica en vacunos Brown Swiss del distrito de Cupi- Melgar*. Tesis para optar el título profesional de M.VZ., Puno – Perú. 27 pp.
- Mariscal P, Anderson Z, Gutiérrez M. 2014, noviembre. *Concentración de células somáticas en leche cruda de vaca en mercados de abasto, Trinidad-Bolivia*. Revista Boliviana- Scielo.; 1(4): p. 23
- Martínez, P. 2015. *Evaluación de Dos Dosis de Ozono en el Tratamiento de Mastitis Bovina*. Quito: Universidad Central del Ecuador Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Martínez-Vasallo, Ribot-Enríquez, Villoch-Cambas, Montes de Oca N, Remón Díaz D, Ponce-Ceballo. 2017. *Calidad e inocuidad de la leche cruda en las condiciones actuales de Cuba*. Rev. Salud Animal.; 39(1): p. 56.
- Mendoza JA, Vera YA, Peña LC. 2017. *Prevalencia de mastitis subclínica, microorganismos asociados y factores de riesgo identificados en hatos de la provincia de Pamplona, norte de Santander*. Rev Med Vet Zoot; 64(2): p. 2.
- Menéndez S, González R, Ledea O, Hernández F, León O, Díaz F. 2008. *Ozono, aspectos básicos y aplicaciones clínicas*. Cenic, la Habana Cuba.

- Mera A, Muños E, Artiaga R, Ortiz T, González S, Vega F. 2017. *Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche* Bovine mastitis and its impact on milk quality. REDVET. 18(11): p. 2.
- Morin, D.E. and W.L. Hurley. 1994. *Mastitis. Lesson B. Lactation Biology*. University of Illinois.
- Murillo, Y..2017. *the routine of milking in the prevalence of subclinical mastitis in dairy farms of the South of the Ecuador*. MASKANA, Producción Animal-.UC Facultad de Ciencias Agropecuarias 41.
- National Mastitis Council. 1995. *Mastitis Control in Dairy Herds*.
- Nieto I. 2016. *Farmacocinética y depleción de residuos de tilosina en truchas (Oncorhynchus Mykiss)* (Tesis de Doctorado). Universidad Complutense de Madrid, Madrid. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/38807/1/T37629.pdf>
- Ochoa – Ana, Aguirre-Ibarra P, Franco-Cabrera. 2017 julio-septiembre. *Lidocaína: aspectos generales y nuevas implicaciones en la inflamación*. Revista Mexicana de Anestesiología- medigraphic.; 40(3): p. 221.
- Ogata, A., Nagahata, H. 2000. *Intramammary application of ozone therapy to acute clinical mastitis in dairy cows*. Journal of Veterinary Medical Science, 62(7), 681-686.
- Oltenucu P. y Broom D. 2010. *The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows*. Animal Welfare 19: 39-49.
- Peláez Reyes M. 2015. *Principales vulnerabilidades en la mastitis bovina en una Empresa Pecuaria Oriental de Cuba* (Main vulnerabilities in bovine mastitis in Eastern Cattle Company of Cuba). REDVET; 16(5).
- Peláez, Henry.O. 2012. *Uso de Ozonoterapia para el tratamiento de Mastitis Subclínica en Bovinos*. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil Ecuador. repositorio.ucsg.edu.ec › bitstream › T-UCSG-POS-MSPA-3.
- Pérez Fernández R. 2010. *Farmacología veterinaria* Universidad de Concepción Chile http://www.sibudec.cl/ebook/UDEC_Farmacologia_Veterinaria.pdf
- Philips, C.J. 2003. *Principios de producción bovina*. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. Kremer, W.D.J.; Noordhuizen, E.N.; Stassen, J.A.; Lohuis, C.M. 2014. Host defence and bovine coliform mastitis. Rev. Veterinary Quarterly, 12 (2):103-113
- Philpot, W.N. y S.C. Nickerson. 1993. *Mastitis: El contraataque. Una estrategia para combatir la mastitis*. Publicado por Babson Bros. Co.

- Plajotin, M. V., Danilova, I. V., & Valdez Tergas, H. 1982. *Manual de cirugía veterinaria*. Mir. Moscú.
- Ramírez Vásquez, N., Arroyave Henao, O., Cerón- Muñoz, M., Jaramillo, M., Cerón, J., & Palacio, L. G. 2011. *Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuena lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia* TT - Factors Associated to Mastitis in Cows from the Dairy Production Basin in the Northern Highlands of Antioquia, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, (22) ,31–42.
- Ramírez, N., Gaviria, G., Arroyave, O., Sierra, B. & Benjumea, J. 2001. *Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia*. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 14(1), 76–87.
- Reyes E.A.; Argüello, J.S. 2015. *Estudio comparativo entre los métodos diagnósticos para mastitis subclínicas, California Test y DRAMINSKI 4Q en vacas Jersey, Diriamba-Carazo*. Tesis de Médico Veterinario. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua.
- Ribeiro M., Motta R., Paes A., Allendorf S., Salerno T., Siqueira A., Fernandes M., Lara G. 2008. *Mastite bovina hiperaguda causada por Klebsiella pneumoniae*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 60(2). Belo Horizonte.
- Ricaurte, S. 2006. *Ozonoterapia, una opción para el sector agropecuario*. En: revista electrónica de veterinaria redvet, vol.7, #10, octubre. [http://www.engormix.com/MA avicultura/sanidad/articulos/ozonoterapia-opcionsectoragropecuario-t872/p0.htm](http://www.engormix.com/MA_avicultura/sanidad/articulos/ozonoterapia-opcionsectoragropecuario-t872/p0.htm)
- Rilling, S., Viebahn, R. 1990. *Praxis der ozon-sauerstoff-therapie: Ein informations-und arbeitsbuch*. Verlag für Medizin Fischer
- Rizo, J.M.; Gil, A.; González, J.L. 1981. *Eficacia de la estreptopenicilina y novocaína vía aorta abdominal en el tratamiento de las endometritis de la vaca*. *Revista de Salud Animal*. La Habana, Cuba. Vol. 3. Nº 1.
- Rodríguez G., Contreras D. y Ordóñez M. 2002. *Caracterización de la mastitis bovina en el Valle de Ubaté*. *Revista de Medicina Veterinaria*, 2 (4), 57-66.
- Rojas C, Rapp I, Borges O. 2018. *Eficacia de la Ozonoterapia en el control de Mastitis Bovina*. ASCISTEGAN. Departamento de Sanidad Animal Santa Cruz de la sierra – Bolivia.
- Romero, A. T. 2004. *Situación actual de la mastitis en México*. Dpto. Producción Animal, FMVZ-UNAM. México D. F. pp.122-134.

- Ruiz A., Ponce P., Gomes G., Mota R., Sampaio E., Lucena E. y Benone S. 2011. *Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil*. Rev. Salud Animal 33(1): 57 – 64.
- Schwartz, A; Martínez-Sánchez, G. 2012. *La Ozonoterapia y su fundamentación científica*. Revista Española de Ozonoterapia. Vol. 2, nº 1, pp. 163-198.
- SENASA- Servicio Nacional de Sanidad Agraria. 2015. *Atributos del sistema de vigilancia*. Mayor coordinación. Lima: SENASA. [Internet]. Disponible en: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/atributos/>
- SESA 2012. *Servicios y Sistemas Ambientales Ozono en granjas vacunas / granjas lecheras* (en línea) <http://www.pctopinformatica.es/sesa/vacuno.pdf>
- SINAT (Sistema Nacional para la Administración de Tierras). 2018. en: http://geoportalide.sigtierras.gob.ec:10102/sinat_nacional_ide/index#
- Smith, B.P. 2010. *Medicina Interna de Grandes Animales*. 4ta edición. Editorial Elsevier S.L. Barcelona, España.
- Sumano, H.; Gutierrez, L. 2014. *Bases farmacológicas del tratamiento de la mastitis bovina*. Conferencia Internacional sobre ganado lechero. Recuperado el 4 de junio del 2013 de http://www.cigal.biz/boletin/abril_14.html
- Zorrilla, D. 2001. *Cálculo teórico de propiedades moleculares mediante bases no estándar*. Recuperado el 14 de noviembre del 2014 de http://www2.uca.es/dept/quimica_fisica/documentos/CTPM/Tesis2.pdf

ANEXOS

ANEXO A

EQUIPOS Y MATERIALES UTILIZADOS**Equipos**

- Detector de mastitis subclínica Milk CheckerN-4L ®
- Ozonificador SANITRON®
- Tanque de oxígeno medicinal 870

Materiales

- Botas
- Overol
- Guantes
- Sogas
- Mocheta
- Amonio cuaternario
- Tablero
- Fichas de registro individual
- Cuaderno
- Bolígrafo
- Cámara fotográfica
- Alcohol 96°
- Papel toalla absorbente
- Steri – Strip o curitas.
- Algodón
- Alcohol yodado
- Agua Bi-destilada
- Agua para lavado de ubre
- Hoja de afeitar
- Cámara fotográfica
- Agujas hipodérmicas 18G x 1 1/2

- Agujas hipodérmicas 16G x 1/2
- Aguja para punción Aorta abdominal 16G x 20 cm
- Jeringas descartables de 10 ml, 20 ml
- Lidocaína 2 %
- Ts2 (Tilosina + Sulfametoxipiridazina)
- Tijeras mayo
- Jabón carbólico
- Formato de registros de evaluación
- Marcador indeleble
- Mesa
- Cable de extensión eléctrica

ANEXO B: Tabla con valores de conductividad diferencial en mili Siemens, antes y después: del tratamiento 1 (celeste) tratamiento 2 (rosado).

ANTES DEL TRATAMIENTO (DIAGNOSTICO)				AL TERCER DIA POST-TRATAMIENTO			
AD	AI	PD	PI	AD	AI	PD	PI
1.7		0.8		0.3		0.0	
1.1				0.3			
0.9		1.1		0.3		0.3	
0.8		1.4	0.8	0.3	0.3		0.0
1.1		1.7		0.3		0.3	
1.1		0.6		0.0		0.0	
0.5	1.1	0.8		0.3	0.3	0.0	
1.4		1.7		0.3		0.2	
0.8		0.8		0.0		0.3	
2.0		1.4		0.3		0.0	
2.5				0.0			
2.2	0.6			0.3	0.3		
2.3	0.6	1.1		0.3	0.0	0.3	
1.7		1.2		0.3		0.0	
	1.7	1.7			0.2	0.2	
0.8	0.8	0.8		0.3	0.3	0.0	
1.2		1.2		0.3		0.3	
0.8			0.8	0.3			0.0
1.1		2.5		0.3		0.4	
0.8		0.8	0.5	0.0		0.2	0.2

Cuarto mamario:
 AD= Anterior Derecho.
 AI=Anterior Izquierdo.
 PD=Posterior Derecho.
 PI=Posterior Izquierdo.

ANEXO C: ficha de producción de leche de las vacas de los tratamientos 1 y 2 respectivamente, con valores obtenidos antes durante y después los tratamientos 1 y 2 respectivamente

FICHA N° 1																				
PRODUCCION INDIVIDUAL DE LECHE GRUPO 1 (TS-2)																				
DATOS																				
Lugar: ETTAP - ESPOCH - RIOBAMBA - ECUADOR																				
Especie: VACUNO																				
Raza: HOLSTEIN																				
Tratamiento recibido : Ts2 (20 ml - Aorta abdominal)																				
N°	Arete N°	Edad años . meses	Peso kg	ER	N° Partos /Abort.	Cond Corp	Prod. Antes del tratamiento /L				total 1	Prod. Durante el tratamiento/ L				total	Prod. Despues del tratamiento / L			
							DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4		DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4		DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4
1	584	4.3	615	PR	1	3	12.2	9.0	9.0	10.1	40.3	10.9	13.6	9.5	34.0	9.9	10.0	10.0	9.5	
2	592	3.6	576	PR	1	3	6.5	7.9	7.7	7.6	29.7	7.3	7.0	7.5	21.8	7.6	7.4	7.9	9.1	
3	607	2.8	471	ATR	1	2.5	9.9	12.4	9.6	9.9	41.8	10.4	9.8	11.9	32.1	10.1	9.9	10.0	9.9	
4	609	2.6	410	ATR	1	2.5	11.1	12.0	11.9	12.6	47.6	11.3	11.2	9.9	32.4	10.6	9.8	10.4	12.7	
5	608	2.6	404	FOD	1	2.5	12.3	12.9	12.4	12.5	50.1	13.7	12.6	12.8	39.1	13.0	13.6	12.5	13.1	
6	565	6.3	495	CLOD	3	2.5	21.5	11.1	20.4	21.0	74.0	20.5	20.8	19.8	61.1	19.2	21.6	22.1	23.0	
7	586	4.0	622	FOD	1	3	21.1	21.3	20.7	21.1	84.2	20.6	20.8	19.7	61.1	19.1	18.0	20.0	21.6	
8	461	11.7	416	FOD	6/1	2.5	14.0	15.3	14.8	14.1	58.2	13.9	15.2	14.5	43.6	14.1	13.3	18.1	14.0	
9	604	2.8	484	CLOD	1	3	14.3	14.7	15.3	14.9	59.2	16.2	16.3	16.2	48.7	16.1	16.4	15.4	17.1	
10	617	2.2	404	ATR	1	2.5	10.9	10.9	12.1	12.0	45.9	11.2	11.3	11.6	34.1	11.6	11.9	11.1	12.0	
						TOTAL	133.8	127.5	133.9	135.8	531.0	136.0	138.6	133.4	408.0	131.3	131.9	137.5	142.0	
										PROM/VACA	53.1								PROM/VACA	
FICHA N° 2																				
PRODUCCION INDIVIDUAL DE LECHE GRUPO 2 (AGUA BE-DESTILADA OZONIZADA)																				
DATOS																				
Lugar: ETTAP - ESPOCH - RIOBAMBA - ECUADOR																				
Especie: VACUNO																				
Raza: HOLSTEIN																				
Tratamiento recibido : Agua Ozonificada (20 ml vía Aorta Abdomin)																				
N°	Arete N°	Edad años . meses	Peso Kg	E R	N° Partos /Abort	Cond Corp	Prod. Antes del tratamiento/ L				total 1	Prod. Durante el tratamiento/ L				total	Prod. Despues del tratamiento / L			
							DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4		DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4		DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4
1	605	2.8	434	ATR	1	2.5	9.5	9.4	9.3	8.5	36.7	9.3	9.9	9.5	28.7	10.3	11.9	9.1	8.9	
2	610	2.4	397	ATR	1	2.5	13.3	14.0	14.2	14.9	56.4	13.5	13.3	13.7	40.5	11.0	10.5	17.3	15.2	
3	524	9.3	477	PR	5	3	7.8	8.7	8.5	8.4	33.4	10.2	10.5	10.1	30.8	9.9	9.0	8.6	8.4	
4	602	3.2	507	FOI	1	3	1.1	9.6	10.5	10.7	31.9	16.4	11.0	11.9	39.3	11.7	11.4	10.4	11.2	
5	591	3.7	528	CLOD	1	3	10.4	9.4	12.4	13.9	46.1	14.2	14.5	14.2	42.9	14.0	14.1	12.1	15.1	
6	538	7.9	552	FOD	4	3	12.0	13.7	13.6	13.9	53.2	14.6	15.8	16.3	46.7	16.2	16.2	15.7	10.8	
7	453	12.3	543	FOI	6/1	3	18.1	18.6	18.2	20.0	74.9	19.1	19.7	21.3	60.1	20.4	18.8	20.4	19.7	
8	515	9.5	523	PR	5	3	7.7	7.7	7.7	8.6	31.7	7.4	9.2	10.6	27.2	10.6	9.4	10.7	5.5	
9	574	4.8	484	PR	2	3	10.4	11.6	10.4	10.2	42.6	11.6	11.0	12.4	35.0	13.1	11.9	11.4	10.8	
10	589	3.8	528	CLOI	1	2.5	19.8	17.0	17.8	15.6	70.2	17.6	17.5	19.0	54.1	19.7	15.7	17.7	17.1	
						TOTAL	110.1	119.7	122.6	124.7	477.1	133.9	132.4	139.0	405.3	136.9	128.9	133.4	122.7	
										PROM/VACA	47.7								PROM/VACA	

ANEXO D: tabla con el total de litros leche producida durante y después de los días de tratamiento, y el costo de la leche que representa en soles.

PRODUCCION DE LECHE DURANTE EL TRATAMIENTO Y PERIODO DE RETIRO												
N°	Arete N°	Prod. Durante el tratamiento / L				Prod. Despues del tratamiento. / L				TOTAL	PRECIO S/.	
		DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4			
1	584	10.9	13.6	9.5	9.5	9.9	10.0	10.0	9.5	73.4	88.08	
2	592	7.3	7.0	7.5	7.5	7.6	7.4	7.9	9.1	53.8	64.56	
3	607	10.4	9.8	11.9	11.9	10.1	9.9	10.0	9.9	72.0	86.40	
4	609	11.3	11.2	9.9	9.9	10.6	9.8	10.4	12.7	75.9	91.08	
5	608	13.7	12.6	12.8	12.8	13.0	13.6	12.5	13.1	91.3	109.56	
6	565	20.5	20.8	19.8	19.8	19.2	21.6	22.1	23.0	147.0	176.40	
7	586	20.6	20.8	19.7	19.7	19.1	18.0	20.0	21.6	139.8	167.76	
8	461	13.9	15.2	14.5	14.5	14.1	13.3	18.1	14.0	103.1	123.72	
9	604	16.2	16.3	16.2	16.2	16.1	16.4	15.4	17.1	113.7	136.44	
10	617	11.2	11.3	11.6	11.6	11.6	11.9	11.1	12.0	80.7	96.84	
	TOTAL	136.0	138.6	133.4	133.4	131.3	131.9	137.5	142.0	950.7	1140.84	
PRODUCCION DE LECHE DURANTE EL TRATAMIENTO Y PERIODO DE RETIRO												
N°	Arete N°	Prod. Durante el tratamiento / L				Prod. Despues del tratamiento. / L				TOTAL	PRECIO S/.	
		DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4			
1	605	9.3	9.9	9.5	9.5	10.3	11.9	9.1	8.9	68.9	82.68	
2	610	13.5	13.3	13.7	13.7	11.0	10.5	17.3	15.2	94.5	113.4	
3	524	10.2	10.5	10.1	10.1	9.9	9.0	8.6	8.4	66.7	80.04	
4	602	16.4	11.0	11.9	11.9	11.7	11.4	10.4	11.2	84.0	100.80	
5	591	14.2	14.5	14.2	14.2	14.0	14.1	12.1	15.1	98.2	117.84	
6	538	14.6	15.8	16.3	16.3	16.2	16.2	15.7	10.8	105.6	126.72	
7	453	19.1	19.7	21.3	21.3	20.4	18.8	20.4	19.7	139.4	167.28	
8	515	7.4	9.2	10.6	10.6	10.6	9.4	10.7	5.5	63.4	76.08	
9	574	11.6	11.0	12.4	12.4	13.1	11.9	11.4	10.8	82.2	98.64	
10	589	17.6	17.5	19.0	19.0	19.7	15.7	17.7	17.1	124.3	149.16	
	TOTAL	133.9	132.4	139.0	139.0	136.9	128.9	133.4	122.7	927.2	1112.64	

ANEXO E: Modelo de ficha de registro para el grupo tratado con antibiótico.

FICHA DE EJECUCION DE TRABAJO EN CAMPO - grupo 1 (TS-2)																
DATOS																
FICHA N° 01		Ettap - ESPOCH - RIOBAMBA - ECUADOR		Especie: Vacuno		Raza: Holstein		N° Arete: 604		Edad: 2 a 8 m						
Estado Reproductivo: CLOD		Peso: 484 k		N° Partos: 1		N° Partos: 1		Cond. Corporal: 3		Observaciones: TS-2 (20ml /3 dias/V. Aorta Abdominal)						
CUARTO MAMARIO																
Dia	ANTERIOR				POSTERIOR				Trat	Cuartos con Mastitis Subclinica						
	DER.	Dif	IZQ.	Dif	DER.	Dif	IZQ.	Dif		AD	Dif	AI	Dif	PD	Dif	PI
1	6.4	0.8	5.6	0.0	6.1	0.5	5.9	0.3		6.4	0.8					
2	6.4	0.8	5.9	0.3	5.6	0.0	5.6	0.0		6.4	0.8					
3	6.7	1.1	5.6	0.0	6.4	0.8	5.6	0.0		6.7	1.1			6.4	0.8	
4	6.1	0.8	5.3	0.0	6.1	0.8	5.9	0.6		6.1	0.8			6.1	0.8	
5	5.3	0.8	4.7	0.2	5.0	0.5	4.5	0.0	I	5.3	0.8			5.0	0.5	
6	6.4	0.8	5.9	0.3	6.4	0.8	5.6	0.0	II	6.4	0.8			6.4	0.8	
7	5.6	0.6	5.0	0.0	5.6	0.6	5.3	0.3	III	5.6	0.6			5.6	0.6	
8	5.6	0.3	5.3	0.0	5.6	0.3	5.3	0.0								
9	5.9	0.3	5.6	0.0	5.9	0.3	5.6	0.0								
10	6.4	0.0	6.4	0.0	6.7	0.3	6.4	0.0								
11	6.1	0.2	5.9	0.0	6.1	0.2	5.9	0.0								

ANEXO F: Modelo de ficha de registro para el grupo tratado con agua Bi-destilada ozonizada

FICHA DE EJECUCION DE TRABAJO EN CAMPO - Grupo 2 (Agua Ozonizada)																
DATOS																
FICHA N° 01		Ettap - ESPOCH - RIOBAMBA - ECUADOR		Especie: Vacuno		Raza: Holstein		N° Arete: 605		Edad: 3						
Estado Reproductivo: ATR		Peso: 434 k		N° Partos: 1		N° Partos: 1		Cond. Corporal: 2.5		Tratamiento: Agua Ozonizada 20 ml (60 ug / ml)/3 dias /V. Aorta Abdominal						
CUARTO MAMARIO																
Dia	ANTERIOR				POSTERIOR				TRAT	Cuartos con Mastitis Subclinica						
	DER.	Dif	IZQ.	Dif	DER.	Dif	IZQ.	Dif		AD	Dif	AI	Dif	PD	Dif	PI
1	7.8	1.9	5.9	0.0	6.1	0.2	5.9	0.0		7.8	1.9					
2	9.5	3.9	5.9	0.3	7.0	1.4	5.6	0.0		9.5	3.9			7.0	1.4	
3	7.3	1.7	5.6	0.0	6.1	0.5	5.9	0.3		7.3	1.7			6.1	0.5	
4	8.1	2.5	5.6	0.0	5.9	0.3	5.6	0.0		8.1	2.5					
5	9.2	3.3	5.9	0.0	7.5	1.6	6.7	0.8	I	9.2	3.3			7.5	1.6	6.7
6	6.1	0.5	5.6	0.0	5.9	0.3	5.9	0.3	II	6.1	0.5					
7	6.7	0.8	5.9	0.0	6.4	0.5	5.9	0.0	III	6.7	0.8			6.4	0.5	
8	6.1	0.5	5.3	0.0	5.9	0.3	5.6	0.0		6.1	0.5					
9	6.1	0.3	5.6	0.0	6.1	0.3	5.9	0.2		6.1	0.5					
10	5.9	0.0	5.9	0.0	5.9	0.0	5.9	0.0								

ANEXO G: Valores de conductividad diferencial obtenidos durante todo el proceso en las vacas de los dos Tratamiento 1 (azul) y tratamiento 2 (rojo)

ID	Fecha	Tratamiento	parte	condigo	estado	VALORES DE CONDUCTIVIDAD DIFERENCIAL DE LA LECHE DE LAS VACAS DE LOS TRATAMIENTOS 1 Y 2															
						CUATROS EFECTOS POSITIVOS A MAESTROS SUBGRUPO(A)						VALORES DE CONDUCTIVIDAD DIFERENCIAL									
						1.AO		2.AI		3.PI		primera da		segunda da		tercera da		cuarta da			
1	584	192	1	3	43	AD	PD	1.7	0.8	0.5	0.2	0.5	0.5	0.2	0.2	0.3	0.0	0.3	0.0	0.2	0.2
2	592	192	1	3	36	AD	PD	1.1	1.1	0.5	0.2	0.5	0.5	0.2	0.2	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.3
3	607	192	1	25	28	AD	PD	0.9	0.8	1.1	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5	0.2	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3
4	609	192	1	25	28	AD	AI	0.8	0.8	0.0	0.2	0.2	0.0	0.0	0.5	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3
5	609	192	1	25	28	AD	PD	1.1	0.8	1.4	0.5	1.4	0.8	0.5	0.5	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3
6	585	192	3	25	63	AD	PD	1.1	0.6	1.4	0.5	1.4	0.8	0.5	0.5	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3
7	586	192	1	3	4	AD	AI	0.5	0.6	1.4	0.0	0.3	0.0	0.0	0.3	0.3	0.3	0.0	0.3	0.2	0.2
8	604	192	6	25	117	AD	PD	1.4	0.5	2.2	0.5	0.5	0.2	0.2	0.3	0.3	0.0	0.3	0.2	0.2	0.2
9	604	192	1	3	28	AD	PD	0.8	0.8	0.5	0.8	0.6	0.6	0.3	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.2	0.2
10	617	192	1	25	22	AD	PD	2.0	0.3	0.6	0.5	0.5	0.0	0.0	0.3	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.3
1	605	aguanoni	1	25	28	AD	AI	2.5	3.3	0.8	0.5	0.5	0.5	0.5	0.3	0.3	0.0	0.3	0.3	0.0	0.3
2	610	aguanoni	1	25	24	AD	AI	2.2	1.4	0.2	0.3	0	0.2	0	0.5	0.0	0.3	0.3	0.3	0.0	0.3
3	524	aguanoni	5	3	53	AD	AI	2.3	1.7	0.8	1.7	0	1.1	0.5	0	0.3	0.3	0.3	0.3	0.0	0.3
4	602	aguanoni	1	3	32	AD	PD	1.7	1.1	0.5	0.8	0.2	0.2	0.6	0.6	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.3
5	591	aguanoni	1	3	37	AD	AI	1.7	1.7	0.8	0.8	0.6	0.6	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.2	0.2	0.3
6	538	aguanoni	4	3	75	AD	AI	0.8	0.8	0.8	0.8	0	0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.3	0.0	0.3	0.3
7	653	aguanoni	6	3	23	AD	PD	1.2	1.2	0.9	0.3	0.3	0.2	0.5	0.5	0.0	0.3	0.3	0.0	0.3	0.3
8	512	aguanoni	3	3	45	AD	PD	0.8	0	0.8	0.2	0.3	0.5	0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3
9	512	aguanoni	3	3	45	AD	PD	1.1	0	0.8	0.3	0.5	0	0.5	0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.3
10	589	aguanoni	1	25	38	AD	PD	0.8	0.3	0.3	0	0.6	0.3	0	0.2	0.2	0.0	0.0	0.2	0.2	0.3

CUATROS EFECTOS				
AD	AI	PD	PI	TOTAL
10	2	8	1	21
GROUP 1	10	2	8	21
GROUP 2	3	4	7	14
TOTAL	13	6	8	27

ANEXO H

EVALUACIÓN DE COSTO /BENEFICIO

A. GASTO: COSTO

• PARA EL TRATAMIENTO 1

TS-2 =s/. **11** (por vaca)

Jeringa de 20 ml = s/. **0.50** (por vaca/ 1 tratamiento)

Jeringa de 5 ml = s/. **0.15**

Algodón y yodo = s/. **0,10**

Lidocaína = s/. **0.75** (por vaca)

Aguja 16 G ½ = s/. **0.10**

Mano de obra = s/ **10** (por vaca)

TOTAL = s/22.60 TRATAMIENTO /POR VACA

Costo Marginal = s/ 22.6

• PARA EL TRATAMIENTO 2

Ozonizador = s/.5000 ÷ 10 (vida útil) = s/.500 (por año) ÷ 365 (días) =s/
1,37(por día)

= s/. 1,37(por día) ÷ 20 vacas = **0.07** (por vaca)

Botella de oxígeno =s/.600 ÷ 10 (vida útil) = s/.60 (por año) ÷365 (días)= S/
0.16

Carga de oxigeno =s/25÷ 100 vacas = **0.25** (por vaca)

Jeringa de 20 ml = s/. **0.50** (por vaca/ 1 tratamiento)

Jeringa de 5 ml = s/. **0.15**

Aguja 16 G ½ = s/. **0.10**

Algodón y yodo = s/. **0,10**

Lidocaína = s/. **0.75** (por vaca)

Agua Bi-destilada = s/ **0.20** (por vaca)

Mano de obra = s/ **10** (por vaca)

TOTAL = s/12.28 TRATAMIENTO /POR VACA

Costo Marginal = s/12.28

B. INGRESOS: BENEFICIO

- PRODUCCION DE LECHE GRUPO 1 (tratamiento 1)

Antes del tratamiento = 53.1 litros

Después del tratamiento = 54.3 litros

Incremento = 1.2 L × s/1.20 = s/ 1.44

s/ 1.44 × 30 (días) = s/ 43.20 (por mes)

Ingreso Marginal = s/ 43.20

- PRODUCCION DE LECHE GRUPO 2 (tratamiento 2)

Antes del tratamiento = 47.7 litros

Después del tratamiento = 52.2 litros

Incremento = 4.5 L × s/1.20 = s/ 5.4

s/ 5.4 × 30 (días) = s/ 162.00 (por mes)

Ingreso Marginal = s/ 162.00

C. ANALISIS DE LA RELACION COSTO /BENEFICIO

- Para el grupo con el tratamiento 1

$$C/B = \frac{IT}{CT} = \frac{IMg}{CMg} = \frac{43.2}{22.6} = 1.91 = \mathbf{1: 1.91}$$

Se ha invertido s/ 1.00 más en la producción mensual, se recupera un sol invertido y se ha ganado s/ 0.91 por cada vaca.

- **Para el grupo con el tratamiento 2**

$$C/B = \frac{IT}{CT} = \frac{I Mg}{C Mg} = \frac{162}{12.28} = 13.20 = \mathbf{1: 13.20}$$

Se ha invertido s/ 1.00 más en la producción mensual, se recupera un sol invertido y se ha ganado s/ 12.20 por cada vaca.

D. RESUMEN DE EVALUACIÓN DE COSTO BENEFICIO / MES.

Tabla 10. Resumen de evaluación costo /beneficio de los tratamientos aplicados

	Ingreso. Total Marginal s/	Costo. Total Marginal s/	Relación. Costo/Beneficio s/
Tratamiento 1	162	12.28	13.2
Tratamiento 2	43.2	22.6	1.91
		Diferencia	11.29