

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD AGROPECUARIA Y RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA OZONOTERAPIA
COMO MEDIDA ALTERNATIVA PARA EL TRATAMIENTO
DE MASTITIS CLÍNICA BOVINA**

Trabajo de tesis previo a la obtención del título de
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

AUTOR

Jackson Estuardo Campoverde Veintimilla

DIRECTOR

MVZ. Roberto Claudio Bustillos Huilca, MSc.

LOJA - ECUADOR
2020

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

MVZ. Roberto Claudio Bustillos Huilca, MSc.
DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICA

Que he revisado la presente tesis titulada **“EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA OZONOTERAPIA COMO MEDIDA ALTERNATIVA PARA EL TRATAMIENTO DE MASTITIS CLÍNICA BOVINA”** realizada por el Sr. Egresado **Jackson Estuardo Campoverde Veintimilla**, la misma que **CULMINÓ DENTRO DEL CRONOGRAMA APROBADO**, cumpliendo con todos los lineamientos impuestos por la Universidad Nacional de Loja, por lo cual, **AUTORIZO QUE SE CONTINÚE CON EL TRÁMITE DE GRADUACIÓN.**

Loja, 20 de ENERO de 2020

Atentamente



MVZ. Roberto Claudio Bustillos Huilca, MSc.
Director de Tesis

CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO


EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA OZONOTERAPIA COMO MEDIDA ALTERNATIVA PARA EL TRATAMIENTO DE MASTITIS CLÍNICA BOVINA

Jackson Estuardo Campoverde Veintimilla

Tesis presentada al tribunal de grado como requisito previo a la obtención del título de:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

HA SIDO APROBADO

ENERO 2020



Dr. Manuel Benjamin Quezada Padilla. Mg.Sc
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Dr. Mauro Iván Guevara Palacios Ph.D.
VOCAL



MVZ. Edwin Geovanny Mizquero Rivera. Mg.Sc
VOCAL

AUTORÍA

Yo, **Jackson Estuardo Campoverde Veintimilla**, declaro ser autor del presente trabajo de tesis que ha sido desarrollado con base a una investigación exhaustiva y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma; los conceptos, ideas, resultados, conclusiones, y recomendaciones vertidos en el desarrollo del presente trabajo de investigación, son de absoluta responsabilidad de su autor.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

AUTOR: Jackson Estuardo Campoverde Veintimilla

FIRMA:



CÉDULA: 1105211773

FECHA: ENERO 2020

**CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA
LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN
ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO**

Yo **Jackson Estuardo Campoverde Veintimilla**, declaro ser el autor de la tesis titulada “EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA OZONOTERAPIA COMO MEDIDA ALTERNATIVA PARA EL TRATAMIENTO DE MASTITIS CLÍNICA BOVINA”, como requisito para optar al grado de Médico Veterinario Zootecnista, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la reproducción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera, en el Repositorio Digital Institucional (RDI): Las Personas puedan consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de Información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad. La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero, con fines académicos. Para constancia de esta autorización, firmo en la ciudad de Loja, a los 20 días del mes de enero del 2020.

FIRMA:



Autor: Jackson Estuardo Campoverde Veintimilla

Cédula de identidad: 1105211773

Dirección: Loja, Diego D.Velazquez y Miguel Angel, Sauces Norte

Correo electrónico: jackascampoverde@gmail.com

Teléfono: 0962804499

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de Tesis:

MVZ. Roberto Claudio Bustillos Huilca, MSc.

Tribunal de Grado:

Manuel Benjamin Quezada Padilla. Mg.Sc (Presidente)

Dr. Mauro Iván Guevara Palacios (Vocal)

Edwin Geovanny Mizquero Rivera. Mg.Sc (Vocal)

AGRADECIMIENTOS

Tras la culminación de este trabajo de tesis quiero agradecer a mis padres Milton Francisco Campoverde y María Esther Veintimilla, a mis hermanas Yajaira y Krupskaya Campoverde quienes me apoyaron a lo largo de esta carrera velando por mi bienestar y educación, por su fuerza y apoyo que me han ayudado y llevado hasta donde estoy. A mi director de tesis el Doctor Roberto Bustillos docente de la carrera que me brindó su apoyo a lo largo del desarrollo de este tema así como amigos y compañeros que me ayudaron a lo largo de este trayecto.

Mi sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de Loja, por abrirme sus puertas y por permitirme formar parte de ella y culminar mi carrera en este proceso de formación.

Jackson Estuardo Campoverde Veintimilla

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a mi madre por haberme apoyado a lo largo de esta carrera, por sus insistencias, comprensión y el gran apoyo moral y económico que recibí para poder culminar esta carrera. Gracias por haberme formado como persona y ahora como un profesional.

Jackson Estuardo Campoverde Veintimilla

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
RESUMEN	XIV
ABSTRACT	XV
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. MASTITIS	3
2.1.1. Generalidades	3
2.2. ETIOLOGÍA	4
2.3. FACTORES PREDISPONENTES	4
2.3.1. Físicos	5
2.3.2. Genéticos	5
2.3.3. Número de Lactaciones	6
2.3.4. Paridad	6
2.3.5. Nutricional	6
2.3.6. Clima y Época de Año	7
2.4. TIPOS DE MASTITIS	7
2.4.1. Mastitis Sublínica	7
2.4.2. Mastitis Clínica	8
2.4.3. Mecanismo de Infección	9
2.5. DIAGNÓSTICO DE LA MASTITIS	12

2.6.	TRATAMIENTO	15
2.7.	IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA MASTITIS BOVINA	27
2.8.	TRABAJOS RELACIONADOS	30
3.	METODOLOGÍA	33
3.1.	MATERIAL Y MÉTODOS	33
3.1.1.	Ubicación	33
3.1.2.	Descripción del Experimento	33
3.1.3.	Tratamientos	34
3.1.4.	Tamaño de la Muestra	35
3.1.5.	Toma de las Muestras	35
3.1.6.	Preparación de las Muestras	36
3.1.7.	Variables de Estudio	36
3.1.8.	Análisis Estadístico	37
4.	RESULTADOS	38
4.1.	GRADO DE AFECCIÓN DURANTE EL PRE Y POST TRATA- MIENTO	38
4.2.	EFECTO DEL OZONO EN EL NÚMERO DE CÉLULAS SOMÁTI- CAS	40
4.2.1.	Recuento de CS/ml de leche previo al tratamiento	40
4.2.2.	Recuento de CS/ml de leche en los días 1, 2 y 3 post tratamiento	41
4.3.	RELACIÓN COSTO - BENEFICIO DE LOS TRATAMIENTOS . . .	43
4.3.1.	Análisis económico por costos parciales en cada uno de los tratamientos	44
5.	DISCUSIÓN	47
5.1.	GRADO DE AFECCIÓN DURANTE EL PRE Y POST TRATA- MIENTO	47

5.2. EFECTO DEL OZONO EN EL NÚMERO DE CÉLULAS SOMÁTICAS	48
5.3. RELACIÓN COSTO - BENEFICIO DE LOS TRATAMIENTOS . .	49
6. CONCLUSIONES	51
7. RECOMENDACIONES	52
8. BIBLIOGRAFÍA	53

ÍNDICE DE TABLAS

1.	Interpretación de la Prueba CMT-Detector y Cuantificador de Mastitis.	13
2.	Diagnóstico de un cuarto según el conteo de células somáticas.	14
3.	Clasificación de las cefalosporinas.	22
4.	Interpretación y pérdidas en la producción mediante CMT.	29
5.	Número y porcentaje de animales según el grado de mastitis mediante la prueba de CMT, pre y post-tratamiento	40
6.	Modelo de ANOVA para el recuento de CS/ml previo al tratamiento	41
7.	Modelo de ANOVA para el recuento de CS/ml en el día 1 post tratamiento	41
8.	Modelo de ANOVA para el recuento de CS/ml en el día 2 post tratamiento	42
9.	Modelo de ANOVA para el recuento de CS/ml en el día 3 post tratamiento	42
10.	Costos directos e indirectos en la aplicación de tratamientos	44
11.	Costos directos e indirectos en la aplicación del tratamiento 1	45
12.	Costos directos e indirectos en la aplicación del tratamiento 2	45
13.	Costos directos e indirectos en la aplicación del tratamiento 3, antibiótico (cobactan 2.5 %)	46

ÍNDICE DE FIGURAS

1.	Promedio de células somáticas por tratamiento, día 1.	41
2.	Promedio de células somáticas por tratamiento, día 2.	42
3.	Promedio de células somáticas por tratamiento, día 3.	43
4.	Área de estudio.	63
5.	Identificación y toma de muestras mediante la prueba reactiva CMT.	63
6.	Conteo del número de células somáticas previa a la aplicación de cada tratamiento mediante las tiras reactivas The Porta SCC Quick Somatic Cell Test.	64
7.	Preparación de la solución ozonificada en diferentes dosis.	64
8.	Aplicación del Tratamiento 1 a base de 35 $\mu\text{g/ml}$ solución salina ozonificada cada 24h con 3 repeticiones.	65
9.	Aplicación del Tratamiento a base de 40 $\mu\text{g/ml}$ solución salina ozonificada cada 24h con 3 repeticiones.	65
10.	Finalización de la aplicación del tratamiento a base de antibiótico (Cobactan 2.5 %).	66
11.	Preparación y análisis de muestras a través de un lector digital y tiras reactivas para el RCS.	66
12.	Conteo del NCS tras la finalización de cada tratamiento.	67

**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA OZONOTERAPIA
COMO MEDIDA ALTERNATIVA PARA EL TRATAMIENTO
DE MASTITIS CLÍNICA BOVINA**

RESUMEN

La ganadería en el Ecuador está considerada como una actividad económicamente rentable siendo una desventaja muy común en estas fincas el desarrollo de cuadros mastíticos. La presente investigación fue desarrollada en el sector de Motupe de la provincia de Loja, el objetivo fue determinar la eficacia de la ozonoterapia como un tratamiento alternativo frente al uso de antibióticos en el tratamiento de mastitis clínica bovina. Mediante la aplicación de una solución ozonizada administrada por vía intramamaria. Se utilizaron 12 unidades experimentales conformándose 3 grupos: A, B, C, cada uno conformado por 4 unidades, en dosis de (A) 35 $\mu\text{g/ml}$ y (B) 40 $\mu\text{g/ml}$ en tres aplicaciones, frente a un (C) testigo convencional (aplicación de antibiótico – Cobactan 2.5 %) en dosis de 2ml/50kg por vía IM. La investigación constó de 3 tratamientos con 3 repeticiones cada 24 h, para lo que se utilizó 12 vacas resultantes del cruce de Holstein en producción láctea con presencia de mastitis clínica comprobada mediante la prueba reactiva CMT. Las variables utilizadas fueron: grado de afección, efectividad del tratamiento en el NCS, rentabilidad por costo. Los resultados en el grado de afección en el pre tratamiento estadísticamente no mostraron diferencia significativa entre los promedios de células somáticas en cada uno de los grupos conformados, esto mediante una prueba rápida de células somáticas “the Porta SCC”. Los resultados en la efectividad en la aplicación de cada tratamiento mediante un RCS, mostraron en el día 1 diferencia estadística no significativa ($p=0.7103$), a diferencia del segundo día ($p=0.2968$) y tercer día ($p=0.1862$); obteniendo un porcentaje de recuperación tanto en el (T1) y (T3) del 50 % para ambos tratamientos y un 25 % para el (T2). En la parte económica la utilización del ozono resulta ser más factible a comparación del uso de un antibiótico, siendo el costo por unidad de 10.07 USD a diferencia del T3 siendo su costo de 17.52 dólares americanos.

Palabras claves: Mastitis clínica, Bovinos, Ozonoterapia, Antibióticos.

ABSTRACT

Livestock in Ecuador is considered as an economically profitable activity being a very common disadvantage in these farms the development of mastitic cadres. The present investigation was developed in the Motupe sector of the province of Loja, the objective of this research was to determine h consisting of 4 units, in doses of (A) 35 g / ml and (B) 40 g / ml in three applications, compared the effectiveness of ozone therapy as an alternative treatment against the use of antibiotics in the treatment of bovine clinical mastitis. Through the application of an ozonized solution administered intramammary. 12 experimental units were used, conforming 3 groups: A, B, C, eac to a conventional (C) control (application of antibiotic - Cobactan

2.5 %) in doses of 2ml / 50kg dose IM. The investigation consisted of 3 treatments with 3 repetitions every 24 h, for which 12 cows resulting from the Holstein crossing in dairy production were used with the presence of clinical mastitis proven by the CMT reactive test. The variables used were: degree of affection, effectiveness of the treatment in the NCS, cost-effectiveness. The results in the degree of affection in the pre-treatment statistically show no significant difference between the somatic cell averages in each of the groups formed by a rapid somatic cell test "the Porta SCC". The results in the effectiveness in the application of each treatment by means of an RCS showed that by means of a model (ANOVA); on day 1 it showed no sta- tistical difference ($p = 0.7103$), unlike the second day ($p = 0.2968$) and third day (p

$= 0.1862$); obtaining a recovery percentage in both (T1) and (T3) of 50 % for both treatments and 25 % for (T2). In the economic part, the use of ozone turns out to be more feasible compared to the use of an antibiotic, the cost per unit being: USD 10.07 USD unlike T3, the cost being: USD 17.52. .

Key words: Clinical Mastitis, Bovines, Ozone Therapy, Antibiotic

1. INTRODUCCIÓN

La mastitis es una reacción inflamatoria de la glándula mamaria que provoca una alteración fisicoquímica en la leche, generando un aumento en el número de células somáticas debido a la presencia de microorganismos patógenos lo que conlleva a la pérdida de la funcionalidad. Esta reacción inflamatoria está mediada como respuesta a una sustancia irritativa provocada por la invasión y colonización de estos agentes infecciosos sobre el tejido secretor (Yera y Ramírez, 2016).

La mastitis bovina en la actualidad continúa siendo una de las enfermedades de mayor impacto económico en las ganaderías orientadas a la producción láctea, siendo esta enfermedad la más significativa desde el punto de vista productivo y sanitario. Existen factores como el manejo continuo, una deficiencia en las normas de higiene en el proceso de ordeño ya sea manual o mecánico, el medio y otros agentes causales que aumentan el riesgo de infección. Esto permite el desarrollo de agentes patógenos que causan un daño al tejido mamario (Trujillo *et al.*, 2011).

Para el diagnóstico de este tipo de patología se puede utilizar un recuento celular y un estudio bacteriológico, así como pruebas rápidas (California Mastitis Test, CMT). Actualmente el mejor indicador para estimar esta afección en un hato lechero es el recuento de las células somáticas por medio de aparatos electrónicos (Ortiz *et al.*, 2011).

Dentro de los tratamientos de la mastitis, el uso de antibióticos es el más utilizado, sin embargo, este genera gastos adicionales, resistencia bacteriana, residuos en la leche, tiempo de retiro prolongado, reacciones alérgicas en el consumidor, así como una disminución en la producción láctea lo que conlleva a una pérdida económica disminuyendo el tiempo de conservación de un producto, calidad, sabor, aroma, etc. afectando principalmente a la industrialización de la leche (Sanango y Iván, 2014).

Como un método alternativo y nuevo en el tratamiento de esta afección, se puede

utilizar el ozono, debido a las propiedades bactericidas que se le atribuyen. Existen estudios previos que aseguran resultados rápidos, saludables y efectivos al administrar ozono por vía intramamaria (Sanango y Iván, 2014).

Con estos antecedentes se pretende evaluar la eficiencia de la ozonoterapia como medida alternativa para el tratamiento de la mastitis clínica bovina. Por tanto, se han planteado los siguientes objetivos:

- Determinar el grado de afección de cada unidad experimental en el pre y post tratamiento.
- Evaluar el efecto del ozono mediante el recuento de número de células somáticas.
- Evaluar la rentabilidad de cada tratamiento mediante la relación costo / beneficio.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 MASTITIS

2.1.1. Generalidades

El término mastitis es derivado del vocablo griego, mastos – pecho, senos, tetas y el sufijo itis – inflamación de; no atendiéndose en esta denominación a la causa del proceso inflamatorio (Hameed *et al.*, 2007). No obstante, la definición exacta de esta patología ha sido un tema de gran polémica, existiendo diferentes enfoques que deben tenerse en cuenta.

La mastitis se caracteriza por una inflamación de la glándula mamaria que produce diversas alteraciones en la leche como: su composición, fisicoquímica, sabor, calidad y volumen, además de elevar la carga bacteriana (R. Gasque, 2015). Esta reacción de carácter inflamatoria se produce en respuesta a la eliminación del agente patógeno y la restauración del tejido (Concha, 2009).

Al hablar de esta enfermedad, las vacas de alta producción lechera, son especialmente susceptibles a una lesión o infección intramamaria (Booth *et al.*, 1988); además, un órgano hipertrofiado sometido a un trabajo intenso ofrece una predisposición a enfermar (Núñez *et al.*, 1998).

Finalmente, la mastitis es el resultado final de la interacción de un factor o varios factores entre sí, factores como: el hombre, vaca, medio ambiente, microorganismos y un déficit en el manejo, que conducen a una infección del tejido interno de uno o más cuartos (Philpot y Nickerson, 2000).

2.2 ETIOLOGÍA

Se ha logrado identificar hasta 140 especies, subespecies y serovariedades microbianas causantes de mastitis. El desarrollo de técnicas de identificación microbiana ha permitido la determinación y la identidad de muchos microorganismos, además comprobar la diseminación de los cuartos infectados hacia otros cuartos y hacia otros animales (Radostits *et al.*, 2006).

Los agentes causales más comunes son *Staphylococcus aureus* y *Mycoplasma*; siendo su principal vía de entrada el canal del pezón (Radostits *et al.*, 2006). Los patógenos de carácter contagioso viven y se multiplican en la glándula mamaria y en la piel del pezón, transmitiéndose de animal a animal principalmente durante el ordeño e incluyen a los *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis* (Fox y Gay, 1993).

Asimismo, las manos de los ordeñadores, el instrumental y una inadecuada desinfección del equipo de ordeño pueden actuar como vías de transmisión. El *Mycoplasma bovis* es menos común como causa de mastitis contagiosa, este llega a causar brotes de mastitis clínica que no responden a la terapia y son difíciles de controlar. La mayoría de los brotes por *M. bovis* están asociados con la introducción de nuevos animales en el hato. Estas bacterias que son las más comunes como causa de mastitis contagiosa infectan del 7 al 40 % de los animales en el hato (Rosario y Pezantes, 2016).

2.3 FACTORES PREDISPONENTES

Según Etgen *et al.* (1987), existen numerosos factores predisponentes que facilitan el ingreso de microorganismos a la ubre, disminuyendo la resistencia animal al crecimiento de pequeños microorganismos. Entre estos factores tenemos:

2.3.1. Físicos

- Edad: Mientras mayor sea la edad del animal mayor será su probabilidad de caer en un cuadro de mastitis, esto debido al número de partos que va relacionado con el número de ordeños (T. Ramírez *et al.*, 2015).
- Lesiones: Favorece la entrada de microorganismos a través del orificio del pezón (Naghshineh *et al.*, 2015).
- Agentes Químicos: Aquellos agentes que sean capaces de alterar la capacidad de controlar la microflora del medio, al igual que el uso de medicamentos terapéuticos sin base técnica o sobredosificaciones (Philpot y Nickerson, 1992).

2.3.2. Genéticos

Existe amplia evidencia genética de que la heredabilidad de conteo de células somáticas se puede tener en cuenta para la selección contra la susceptibilidad a la mastitis, es decir, la forma de la glándula mamaria es otro de los factores que predisponen a la prevalencia de mastitis, vacas con ubres colgantes y profundas, pezones de mayor diámetro o invertidos suponen mayor riesgo de infección ya que facilitan el ingreso de la bacteria a la cisterna del pezón. Existe también evidencias de la correlación mamaria genética positiva entre la producción de leche y la predisposición a la mastitis (Zadoks *et al.*, 2011).

Con respecto a la anatomía de la ubre, vacas que presenten ubres colgantes, pezones de mayor diámetro o invertidos facilitan el ingreso de bacterias. Generalmente en estado de lactación existe mayor grado de susceptibilidad principalmente entre la primera y última semana, así como en la primera semana del secado (Waller *et al.*, 2011). El pezón en forma de botella, el goteo de leche y la presencia de flujo continuo de leche proveen una ruta para la invasión de microorganismos desde el ambiente hacia la cisterna del pezón (Awale *et al.*, 2012).

2.3.3. Número de Lactaciones

Se ha demostrado que las vacas en primera lactación son más resistentes a la infección y, por ende, a la mastitis, señalándose que a medida que aumenta el número de lactancias disminuye la efectividad del canal del pezón como barrera a la entrada de agentes patógenos (Homan y Wattiaux, 1999).

La leche de vaca no infectada es: alta en el parto, mínima desde el pico de producción hasta la mitad de la lactancia y máxima al secado. Un aumento en el recuento de células somáticas al avanzar la lactancia se debe, principalmente, a que la cantidad normal de células somáticas se concentrara en un volumen de leche menor; el aumento de células somáticas al final de la lactancia será mayor en vacas infectadas que en vacas no infectadas (Velásquez y Vega, 2012).

2.3.4. Paridad

El incremento de la paridad ha sido descrito como un factor de riesgo por el aumento de la incidencia de mastitis clínica, así como por el incremento de la prevalencia de infecciones subclínicas (Janicki *et al.*, 1980).

2.3.5. Nutricional

Tanto el selenio como la vitamina E mejoran la actividad fagocítica de las células de defensa. La vitamina A tiene una importante función en la integridad de las mucosas, así como también el zinc (Awale *et al.*, 2012).

2.3.6. Clima y Época de Año

Las estaciones lluviosas constituyen un factor predisponente para la proliferación y transmisión de patógenos, siendo los brotes de mastitis por coliformes más comunes durante las estaciones lluviosas cuando se exponen las vacas a la suciedad por estiércol, con el peligro de que vayan sucias a las salas de ordeño (Hogan y Smith, 1998).

La previsión de un estrés ambiental en vacas, particularmente alrededor del momento del parto, es esencial para el control de la mastitis. Las causas de estrés en el ganado están relacionadas con la cortisona producida, la cual tiene efectos inmunosupresivos en el cuerpo (Wallace *et al.*, 2002).

2.4 TIPOS DE MASTITIS

2.4.1. Mastitis Sublínica

La mastitis de carácter subclínica se caracteriza por la presencia de microorganismos en combinación con un conteo elevado de células somáticas sin producir signos típicos de inflamación, esta puede o no desarrollar una inflamación y no tener tratamiento en casos de toxemia (Fernández *et al.*, 2012).

En este tipo de mastitis existe una reducción en la producción láctea por unidad de tiempo, alterándose su composición química que es determinante para su valor biológico y nutricional (grasa, lactosa, proteína). Sin embargo, bovinos con este problema característico en las ganaderías siguen siendo ordeñados; tal como se hace con las vacas sanas a pesar de que su leche es reducida en cantidad y calidad (Arauz, 2011).

Es predominante en las infecciones intramamarias, es de larga duración sin signos visibles, no pudiendo detectarse por observación simple, ya que no hay un desarrollo

en la sintomatología, la leche es aparentemente normal; únicamente puede ser detectada mediante pruebas que identifiquen la presencia de microorganismos infecciosos. La mastitis subclínica usualmente precede a la clínica y es la forma de mastitis que provoca mayores pérdidas económicas por disminución de la producción y de la calidad de la leche; constituye un reservorio de la infección para otros animales del hato (Guidry, 2007).

Este tipo de presentación tiene un mayor impacto en animales que tengan más de un ciclo de lactación a diferencia de animales jóvenes. Pudiendo conducir a grandes pérdidas económicas debido a una reducción en la producción, también un elevado conteo de células somáticas (Gonzalo *et al.*, 2002).

Un indicativo a la respuesta inflamatoria es el número de células somáticas elevadas al igual que el número de bacterias que se acompañan con una decreciente producción en la secreción láctea, así como la alteración del producto, siendo esta difícil de tratar mediante la aplicación de antibióticos ya en grandes explotaciones lecheras porque actúan como reservorios dentro del rebaño lechero (Heringstad *et al.*, 2001).

2.4.2. Mastitis Clínica

La mastitis clínica es definida como una anormalidad en la glándula mamaria, que puede ser fácilmente observada, se presenta: endurecimiento, dolor al tacto y su secreción presenta cambios organolépticos apreciables (grumos de color amarillento, estado de la leche es de carácter irregular) (Sears *et al.*, 1993). En algunos casos la inflamación de los cuartos mamarios es acompañada de signos clínicos como: tumefacción, aumento en la temperatura rectal, letargo, anorexia e incluso la muerte. Además, las bacterias están presentes en la leche, el rendimiento es muy reducido, y su contenido está considerablemente alterado. Durante la primera lactación, este tipo de mastitis resulta en pérdidas en la producción.

Esta patología puede presentarse de forma aguda y se caracteriza por su aparición súbita. En su forma crónica, se presenta como una infección de largo periodo, con leche de una apariencia anormal o cambios al realizar la palpación del tejido de la ubre (Schrick *et al.*, 2001).

Las pérdidas a nivel económico debido a las mastitis de carácter clínico son obvias, la producción de leche cae de forma abrupta, este efecto recae sobre la producción registrándose pérdidas hasta de cinco litros diarios por vaca afectada, mientras que la leche de aquellos bovinos en producción láctea tratados a base de un antibiótico debe ser descartada alrededor de los tres o cuatro días post tratamiento (Rodríguez, 2006).

2.4.3. Mecanismo de Infección

La infección de la glándula mamaria se genera siempre siguiendo la vía de conducto a lo largo del canal del pezón, este desarrollo se describe en tres etapas: invasión, infección e inflamación y destrucción del tejido alveolar (López, 2014).

2.4.3.1. Invasión del pezón

La invasión del pezón se presenta generalmente en el momento del ordeño, constituyéndose en la primera línea de defensa contra la entrada de bacterias dentro de la ubre. Normalmente, el esfínter se cierra cuando la vaca no es ordeñada. Los organismos presentes en la leche o en la punta del pezón son canalizados dentro del canal del pezón y cisterna, cuando existe una entrada indeseable de aire en la unidad ordeño (Gerlach *et al.*, 2009).

La roseta de Furstemberg forma una corona en el paso del canal del pezón a la cisterna de éste. Los pliegues de la roseta no sólo tienen una función mecánica de cierre sino también sirven como mecanismo de defensa. La queratinización intensiva del epitelio del canal del pezón forma una capa lactosada bactericida que representa

una barrera muy efectiva contra agentes extraños. Si bien ese tapón de queratina desaparece casi completamente durante el ordeño, después de 2 a 3 horas de ésta se restablece completamente (Wolter y Kloppert, 2004).

Allí la gran importancia de reducir la carga microbiana del pezón para la preservación del canal del esfínter del pezón, antes que las bacterias penetren y colonicen el parénquima. Luego del ordeño, el canal del pezón permanece dilatado parcialmente o por completo durante 1 o 2 horas. Esto provoca que microorganismos del ambiente (materia fecal, cama, suelo, etc) o provenientes de lesiones en la piel ingresen en su interior (Markey *et al.*, 2013).

2.4.3.2. Establecimiento e Inflamación del Área Afectada

En esta etapa hay multiplicación e invasión del tejido mamario, estableciéndose una población microbiana que rápidamente se disemina por toda la glándula, esto depende de la patogenicidad del microorganismo. Cada tipo de bacteria está determinada por su capacidad de multiplicarse y su adhesión al tejido mamario (López, 2014).

Los linfocitos, las células plasmáticas y los macrófagos se pueden encontrar en un número escaso en el tejido conjuntivo de la glándula mamaria bovina. En la ubre sana se observa un paso muy escaso de los granulocitos neutrófilos de la sangre hacia el epitelio alveolar y de ahí a la leche. En caso de que haya una invasión muy fuerte de bacterias se verá aumentado el número de granulocitos de los vasos sanguíneos. Entonces se verá aumentado el número de células somáticas en la leche (Suriyasathaporn *et al.*, 2012).

Los patógenos que son capaces de entrar al pezón escapando de la actividad antibacteriana comienzan a establecerse en la glándula mamaria, en donde se multiplican produciendo toxinas, enzimas y ciertos componentes de la pared celular, estimulan la producción de mediadores de la inflamación favoreciendo la fagocitosis. La severidad de la respuesta inflamatoria depende del hospedero y de los factores de patogenicidad

bacterianos (Vayas y Carrera, 2012).

2.4.3.3. Destrucción del Tejido Alveolar

Una vez que se han establecido las bacterias superada la primera línea de defensa, alcanzan los tejidos altos, dando inicio a la segunda línea de defensa que incluye factores humorales específicos presentes en la leche o secreción de la ubre (López, 2014).

Los factores humorales inespecíficos presentes en la leche o secreción de la ubre seca (lactoferrina, inmuno-lacto-peroxidasa, lizosima, fracciones del complemento y otros compuestos químicos) y los mecanismos de defensa inmunológicos o específicos, ya sea de tipo humoral (inmunoglobulinas y otros factores solubles) o de base celular, incluyendo el sistema fagocítico (macrófagos (MA) y PMN) y el sistema linfoido (linfocitos T, B y sin clasificar). PMN, MA, L y escasas células epiteliales (CE) se encuentran normalmente en la leche de cuartos mamarios sanos (Corbellini *et al.*, 2002).

Si estas bacterias no son totalmente eliminadas, pueden continuar multiplicándose y comenzar a invadir los pequeños conductos y áreas alveolares. Las células secretoras de leche que son dañadas por las toxinas liberan sustancias irritantes que conducen a un incremento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos. Leucocitos adicionales se mueven al lugar de la infección. Ellos penetran el tejido alveolar en gran medida moviéndose entre el tejido secretor de leche dañado (Vayas y Carrera, 2012).

La formación de grumos es generalmente debido a la agregación leucocitaria y factores de coagulación en la sangre obstruyendo los ductos lo que ocasiona la remoción incompleta de la leche. Los alveolos que comienzan a encogerse se engrosan debido a que son remplazados por tejido no funcional y por tejido cicatrizal (D. M. Pérez *et al.*, 2012)

2.5 DIAGNÓSTICO DE LA MASTITIS

2.5.0.1. Examen Físico de la Glándula Mamaria

Se realiza con la ubre vacía, después del ordeño; existiendo un incremento de la temperatura de la glándula o del cuarto afectado, enrojecimiento, endurecimiento y dolor; pudiendo presentarse cuartos atrofiados o deformes con áreas de tejido cicatrizante (C. Pérez *et al.*, 2005).

2.5.0.2. Pruebas de Despunte

Consiste en examinar el primer chorro de leche a través de un jarro de fondo oscuro; permitiendo detectar la leche de tipo anormal que no debe enviarse al tanque de recolección, e identificar a las vacas problema que requieren tratamiento (Yohannis y Molla, 2013).

2.5.0.3. Pruebas de Mastitis California CMT

Es una prueba utilizada durante varias décadas; es la prueba más utilizada en el campo para diagnosticar mastitis (Hernández y Bedolla, 2008). Esta prueba estima la cantidad de células somáticas de la leche, y es realizada antes del ordeño y luego de la eliminación de los primeros chorros de leche. Mellenberger y Roth (2000), mencionan que la prueba de CMT, a pesar de presentar alta sensibilidad, presenta deficiencias en especificidad, dando falsos positivos durante la primera semana después del parto, en vacas que tienen más de siete meses de producción y varios partos, por lo que se debe tener en cuenta que la viscosidad va a ser similar en los 4 pezones.

La prueba de CMT se realiza mezclando el reactivo llamado California, con una cantidad igual de leche. Esta sustancia denominada alquil-aril-sulfonato, es un detergente aniónico, el cual remueve o disuelve la membrana de las células y del núcleo,

con la consecuente salida del ADN, que al reaccionar con el detergente forma como una especie de gel. Mientras más ADN haya presente en la muestra, más aumentará la viscosidad del gel (Kleinschroth *et al.*, 1991).

La prueba se fundamenta en agregar un detergente a la leche, en iguales proporciones, el dodecil sodio sulfato y el cristal violeta, que causan la liberación del ADN de los leucocitos presentes en la leche y éste en combinación con los agentes proteicos de la leche se convierte en gelatina (Medina y Montalvo, 2003).

La interpretación de los resultados de la prueba se pueden ver en la Tabla 1.

Tabla 1. Interpretación de la Prueba CMT-Detector y Cuantificador de Mastitis.

Apariencia de la mezcla de prueba	Puntaje de CMT	N.- Células Somáticas
Líquido mezclado, no precipitado	Negativo (-)	Sin infección <200000
Precipitado leve, tiende a desaparecer con el movimiento de la paleta	Trazas (S)	<750000
Precipitado definido, pero no gelifica con el movimiento de la paleta	1 (+)	Entre 750000 y 2000000
Formación de un gel definido, denso floculento	2 (++)	>2000000
Formación de un gel fuerte que tiende a adherirse a la paleta forma un pico central definido	3 (+++)	>3000000

Fuente: *PROGANAVES Cia. Ltda.* | Recuperado2019 (s.f.)

2.5.0.4. Conductividad Eléctrica

La Prueba de Conductividad Eléctrica (PCE) se ha utilizado como un indicador de la mastitis durante la última década, se basa en el aumento de conductividad eléctrica de la leche debido a su mayor contenido electrolítico especialmente iones de sodio y de cloro (Medina y Montalvo, 2003).

Esta técnica es importante porque mide la lesión, como es el caso del recuento celular. Sin embargo, sus limitaciones probablemente restringen su uso a vacas de producción elevada que se mantienen en rebaños pequeños, o en laboratorios con auto analizadores. Se puede emplear una combinación de la detección de mastitis subclínica tomando como base la conductividad eléctrica de la leche, la producción láctea, el número de parto y los días de lactación, como un modelo logístico de regresión como instrumento de análisis en un rebaño con una incidencia alta de mastitis

subclínica (Fernández *et al.*, 2012).

2.5.0.5. Conteo de Células Somáticas

Células somáticas se designan a las células del propio organismo que se encuentran en la leche, estas células están constituidas por leucocitos y células epiteliales (Blowey y Edmondson, 1995). Estas proceden de la sangre y del tejido glandular, permitiendo desarrollar un criterio sobre el estado funcional y de salud de la glándula mamaria debido a su estrecha relación con la composición de la leche (Suriyasathaporn *et al.*, 2012).

El conteo de células somáticas (Tabla 2) consiste en supervisar la inflamación de la ubre; se realiza con una mezcla de los cuatro cuartos para determinar en general la salud de la ubre, en un periodo mensual (Mellenberger y Roth, 2000).

En ausencia de infección de la glándula mamaria o la presencia de signos clínicos, el conteo de células somáticas es una opción viable ya que sus valores oscilan entre 200000 a 300000 CS/ml; en cuartos normales existe menos de 100000 CS/ml mientras que en infecciones persistentes los recuentos son superiores a 800000 CS/ml (N. Ramírez *et al.*, 2011).

Tabla 2. Diagnóstico de un cuarto según el conteo de células somáticas.

CS/ml de leche	Estado de la ubre
Hasta 100000	Sana, leche normal
De 100000 a 200000	Sospechoso, nivel superior fisiológico
Más de 200000	Mastitis, leche anormal

Fuente: P. Martínez (2015)

2.5.0.6. Unidad Formadora de Colonias

Es el número de unidades formadoras de colonias (UFC) que se obtienen cuando la leche se incuba a 30°C durante 72 horas. Esta información nos indica el número en UFC de gérmenes presentes en la leche, pero no sobre su fuente de origen. Las mismas pueden provenir del equipamiento de ordeño, de una mala higiene en la rutina de ordeño o de algunas infecciones intramamarias. Según Calvinho y Tirante (2005), el rango mínimo permitido es de 290000 y el rango máximo permitido es de 300000 UFC/ml. para una leche de buena calidad. Se considera que una leche con menos de 10000 unidades formadoras de colonias (UFC) por ml es de excelente calidad.

2.6 TRATAMIENTO

2.6.0.1. Ozonoterapia

La ozonoterapia (ozono = gas natural; terapia = tratamiento) es una técnica de carácter alternativo, ha sido utilizada con fines terapéuticos desde finales del siglo XVII, en diferentes modalidades con resultados inesperados en las diferentes áreas tanto humana, animal y vegetal. Se la considera una técnica alternativa válida y/o complementaria con otras terapias, sinergizando el resultado final (Peña *et al.*, 2017).

Se caracteriza por su simplicidad y aplicación, alta efectividad, buena tolerancia, y prácticamente con ausencia de efectos colaterales. En clínica veterinaria a lo largo de los años se está implementando el uso de la ozonoterapia con fines terapéuticos como agentes moduladores de la respuesta inmune, metabolismo eritrocitario, ácidos grasos y proteicos, además de su acción germicida, demostrando su efectividad al aplicarse también como un tratamiento coadyuvante en afecciones y tratamientos oncológicos así como en procesos de cicatrización (Galindo, 2006).

Para esta última década, ha sido objeto de diversas publicaciones con resultados

beneficiosos del pre condicionamiento oxidativo con ozono, demostrando así su eficacia en el restablecimiento del balance redox intracelular disminuyendo el estrés oxidativo, por otro lado, en el caso de medicina humana se ha demostrado efectos beneficiosos al aplicar este tipo de terapia induciendo a una micro oxidación controlada e inocua, al nivel quirúrgico relacionándose con su capacidad germicida (Vidal *et al.*, 2009).

La ozonoterapia se ha extendido en estos últimos años en varios países principalmente en Estados Unidos, Italia, España, Alemania, México, entre otros. Actualmente, existen sociedades nacionales e internacionales de ozonoterapia en muchos países que permanecen afiliadas a la Asociación Internacional del Ozono. A pesar de esto, la ozonoterapia continúa provocando controversia y dudas, motivadas por el hecho de que el Ozono es uno de los peores contaminantes ambientales (Zamora, 2012).

En medicina veterinaria se ha venido utilizando, como terapia alternativa para ciertos trastornos como mastitis, metritis, endometritis, retención de membranas fetales, vaginitis, urovagina, laminitis y desordenes neuromusculares (Salazar, 2017), en la clínica de pequeñas especies de igual manera, la ozonoterapia es eficaz en el tratamiento de desórdenes inmunomediados, osteoarticulares degenerativos, dermatopatías, etc (Zamora, 2012).

Generalmente en nuestro país la ozonoterapia ha sido utilizada en el tratamiento de endometritis obteniendo buenos resultados, en los últimos años se ha puesto en el Ecuador el uso experimental de esta práctica en el tratamiento de la mastitis frente a los antibióticos (Arichábala y Argudo, 2012).

2.6.0.2. Ozono

El ozono es un gas que se encuentre a lo largo de la superficie de la tierra y atmósfera. Formándose naturalmente en las altas capas de la atmósfera. Se lo conoce sobre todo por el papel que desarrolla al nivel ecológico funcional sobre la tierra protegiendo el entorno de la radiación solar, estas radiaciones poseen una carga elevada

de energía que descompone oxígeno presente en el ambiente en átomos libres, de esta manera se combinan con otras moléculas de oxígenos para componer la molécula de O₃ (Tapia y Martínez, 2012).

El ozono, es una forma alotrópica del oxígeno que contiene un átomo más que el oxígeno atmosférico, este gas 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 *et al.*, 2008).

Por otro lado, este actúa como un fuerte agente oxidante y posee propiedades bactericidas. Nuevos resultados han confirmado que el ozono puede actuar como un inductor de citocinas tales como interferon (IFN- γ y β), factor de necrosis tumoral (FNT- α), interleucinas (IL) 1 β , 2, 4, 6, 8 y 10, factor estimulador de colonia granulocito-macrófago (GM-CSF) y el factor transformador del crecimiento (TGF- β 1) (Tapia y Martínez, 2012).

El ozono posee un poder oxigenante mayor que el del oxígeno normal, y por ello mejora el proceso respiratorio a nivel celular. Es también conocida la acción germicida directa del ozono sobre todo tipo de microorganismos, tanto hongos, bacterias y virus (Ricaurte, 2006).

La velocidad con que el ozono mata a las bacterias es bastante mayor que la del cloro, unas tres mil veces mayor, debido a que, si bien ambos son oxidantes, el mecanismo de acción es diferente. El ozono mata a la bacteria por medio de la ruptura de la membrana celular, es así que este proceso es conocido como destrucción de células por lisina, produciendo la dispersión del citoplasma celular en el agua, los lípidos insaturados son los componentes mayoritarios de la membrana citoplasmática que posee las bacterias, el ozono ataca los enlaces olefínicos, en donde esta acción comienza la destrucción de la capacidad de la célula de función y hasta puede ser suficiente para causar la muerte de células (Ricaurte, 2006).

Los investigadores Ogata y Nagahata (2000) indican que mediante la aplicación

de ozono intramamario, el 60 % de las vacas con mastitis aguda no necesitan anti-bióticoterapia para su recuperación. Por tanto, es una terapia efectiva, de costo eficiente y que no deja residuos en la leche (Tapia y Martínez, 2012).

2.6.0.3. Acción Biológica

- **Acción Antiinflamatoria:** 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).

La ozonoterapia disminuye significativamente las citoquinas pro inflamatorias (IL- 1β , IL-6 y TNF- α) que están aumentadas en procesos inflamatorios crónicos, tal es el caso de la artritis reumatoide entre otras patologías, por ende al disminuir los mediadores pro inflamatorios remite el dolor (Valdés *et al.*, 2015).

- **Acción Analgésica:** El efecto antiinflamatorio, analgésico y descongestionante de las infiltraciones de ozono establece que la oxidación de los receptores alógenos inhibe la señal dolorosa y activa el sistema antinociceptivo, con estas propiedades se favorecerá un efecto relajante muscular, de igual manera la mejoría de la movilidad de la zona tratada (Bernal, 2014).

El efecto del ozono posee doble carácter, por un lado, permite la entrada progresiva del oxígeno en la zona inflamada y la oxidación de ciertos mediadores que se forman en el área tisular dañada, y participa en la señal nociceptiva en el Sistema Nervioso Central (Bernal, 2014).

- **Acción 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 con lo que se

requiera, las cuales se autorregulan por lo que la producción de citocinas no sobrepasará los valores necesarios (G. Martínez, 2013).

- **Acción Cicatrizante:** Una gran ventaja del uso de ozono se debe a una serie de beneficios como la desinfección, vasodilatación, oxigenación, normalización de la acidosis tisular y reabsorción del edema. El ozono actúa de diferente manera en cada una de las fases de la cicatrización:
 - **Fase inflamatoria:** Se caracteriza por el estado de inflamación, en esta fase la ozonoterapia disminuye el riesgo de cronificación en caso de infección secundaria a un traumatismo, diabetes, isquemia local, y la resistencia a algunos antibióticos.
 - **Fase proliferativa:** Se da la reparación del tejido conectivo, síntesis de matriz extracelular. Por ello aplicación de ozono estimula la cicatrización del tejido.
 - **Fase de maduración y remodelación:** En esta fase se da la maduración del tejido cicatrizal. Según Quizhpilema y Orellana (2017), la actividad cicatrizante que ofrece el ozono a través de su aplicación por vía tópica es efectiva con resultados satisfactorios en cuanto a su asepsia y resolución una efectividad cicatrizante.
- **Acción Germicida:** Posee un amplio espectro que permite ser utilizado como tratamiento para la limpieza y desinfección de heridas infectadas y otros procesos sépticos. El resultado que se obtiene de la aplicación de ozono es que afecta la permeabilidad de la membrana de los microorganismos y aumento en las concentraciones de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico debido a los procesos de peroxidación lipídica y finalmente generando muerte celular (Hidalgo, 2009).

Los microorganismos susceptibles al ozono incluye: aeróbicos y anaeróbicos como: *Campylobacter*, *Clostridium*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Salmonellas*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Algunos virus susceptibles son: *Herpesviris* y micosis producidas por *Aspergillus* y *Cándida* (Véliz et al., 2009).

La inactivación de las bacterias por el ozono se debe a reacciones de oxidación: el primer lugar de ataque es la membrana bacteriana donde el ozono actúa sobre glicoproteínas, glicolípidos y algunos aminoácidos (triptófano) en el interior celular, el ozono puede atacar sistemas enzimáticos dependientes del grupo sulfhidrilo y al material nuclear (bases púricas y pirimidínicas de los ácidos nucleicos) (Valdés *et al.*, 2015).

Una de las ventajas más importantes del ozono, con respecto a otros bactericidas es que este efecto se manifiesta a bajas concentraciones (0.01 p.p.m. o menos) y durante periodos de exposición muy cortos. Incluso a concentraciones ínfimas de ozono (del orden de 0.01 p.p.m.) es ya perfectamente observable un efecto bacteriostático (Arichábala y Argudo, 2012).

La inactivación de los microorganismos por ozono ocurre mediante la interacción con numerosos constituyentes celulares incluyendo proteínas, lípidos no saturados y enzimas de la respiración celular; proteoglicanos, enzimas, ácidos nucleicos en el citoplasma de proteínas y peptidoglicanos en las cubiertas de esporas de bacterias (Quizhpilema y Orellana, 2017).

2.6.0.4. Antibioticoterapia

Es muy difícil para un veterinario determinar si los tratamientos para mastitis tienen éxito porque no hay un resultado estándar que se utilice para determinarlo. Para la mayoría de los ganaderos, el objetivo más práctico de un tratamiento es producir rápidamente una reducción de los síntomas clínicos, eventualmente reducir el recuento de células somáticas (RCS), prevenir la recurrencia de nuevos casos clínicos y mantener el rendimiento productivo esperado de una ganadería de leche (Ruegg, 2012)

2.6.0.5. Cefalosporinas

Estas son extraídas del hongo *Cephalosporium acremonium* aislado por Brotzu. Demostrando que tras filtrar crudos de cultivo del hongo se podía inhibir el crecimiento del *S. aureus*. A partir de estos cultivos, es factible también aislar antibióticos diferentes (Mella *et al.*, 2001).

- Cefalosporina N: Activa solamente contra Gram (+) (-)
- Cefalosporina P: Activa solamente contra Gram (+)
- Cefalosporina C: Es muy resistente a la acción de la penicilinas y es capaz de inducir la síntesis de esta enzima en el *B. cereus*, *S. aureus*.

Las cefalosporinas son compuestos que poseen un anillo de dihidrotiazina unido a un anillo β -lactámico. Se desarrollan a partir de la cefalosporina C. Múltiples modificaciones en su estructura han dado lugar a diversas variantes de cefalosporinas de extraordinario uso clínico (Mella *et al.*, 2001).

Como todos los antibióticos β -lactámicos, las cefalosporinas bloquean la síntesis de la pared celular de la bacteria a través de la inactivación de las proteínas que ligan la penicilina (PBP). Estos antibióticos deben penetrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas para unirse a la PBP (Mella *et al.*, 2001).

Las diferentes generaciones de cefalosporinas (Tabla 3) evolucionaron según las necesidades clínicas, reflejando en parte su espectro *in vitro*, y en cierta medida, el tiempo de introducción al mercado (Litterio, 2012).

Tabla 3. Clasificación de las cefalosporinas.

Generación	Ejemplos	Generalidades del aspecto de actividad antimicrobiana
1ra	Cefalotina	
	Cefazolina	Actividad relativamente buena contra organismos Gram positivos
	Cefalexina	Actividad moderada
	Cefradina	contra Gram negativos, incluyendo cepas de <i>E.coli</i> , <i>P.mirabilis</i> y <i>K. pneumoniae</i>
	Cefradoxilo	
2da	Cefamandol	Menor actividad contra estafilococos que las de 1ra. Generación
	Cefaclor	Cefaclor es la más sensible a las β -lactamasa
	Cefuroxima	Actividad impredecible contra neumococo resistente a la penicilina
	Cefonicid	Mayor actividad contra <i>Haemophilus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> y otros entero bacterias
	Cefoxitina	Cefoxitina inhibe a muchas enterobacterias productoras de β -lactamasas
	Cefotetán	(pero no a las especies de <i>Enterobacter</i> o <i>Citrobacter</i>) y a gran cantidad de bacterias anaerobias, incluyendo a <i>B. fragilis</i>
	Cefprozil	Cefotetán inhibe a muchas bacterias productoras de β -lactámicos y a la
	Laracabef	mayoría de las especies debacteroides
	Cefatoxima	Menor actividad contra estafilococos
	Ceftizoxima	Ceftriaxona y cefotaxima son las cefalosporinas más activas contra las cepas de
3ra	Ceftriaxona	<i>S. neumoniae</i> resistentes a la penicilina.
	Moxalactam	Mayor actividad contra <i>Neisseria</i> .
	Cefixima	Mayor actividad contra enterobacterias, incluyendo <i>Citrobacter</i> sp.
	Ceftadizima	<i>Serratia marcescens</i> y <i>Providencia</i> sp
	Cefoperazona	Ceftadizima y cefoperazona también son activas contra <i>P. Aeruginosa</i> .
	Cefpodoxima	Solo ceftizoxima y moxalactam tienen actividad contra <i>B. fragilis</i> .
	Ceftibuten	Mayor actividad contra cocos Gram positivo
	Cefepima	Mayor estabilidad contra β -lactamasas de la clase I
4ta	Cefpiroma	Cefepima también tiene actividad contra <i>P. aeruginosa</i> , <i>H. influenzae</i> ,
	Cefquinoma	<i>N. meningitidis</i> y <i>N. gonorrhoeae</i> .
		Amplio espectro de cuarta generación que actúa frente a bacterias Gram (+) y Gram (-)

Fuente: Andraca *et al.* (2001)

2.6.0.6. Mecanismo de Acción

Las cefalosporinas son capaces de inhibir la síntesis de la pared celular, mecanismo que es común a todos los antibióticos que poseen una estructura β -lactámica. Sin embargo, el núcleo cefalosporina es más resistente a la acción de la penicilinas y es muy activa contra bacterias productoras de β -lactamasas, como el *Staphylococcus aureus* y *E. coli*.

Específicamente, estos medicamentos se ligan de manera covalente e inhiben las enzimas transpeptidasas que participan en el último paso de la formación del peptidoglicano rígido; este componente es especialmente importante en la pared celular de las bacterias gram positivas. Las enzimas transpeptidasas de la membrana citoplasmática bacteriana que son sensibles a los agentes β -lactámicos, son llamadas proteínas ligadoras de penicilinas. Esas proteínas varían en las distintas bacterias. Algunas de ellas también funcionan como enzimas hidrolíticas β -lactámicas (Mella *et al.*, 2001).

2.6.0.7. Espectro Antimicrobiano

En relación con su espectro de acción en contra de los microorganismos Gram positivos, son más efectivas las cefalosporinas de primera generación, ligeramente menor para las de segunda y escasa para las de tercera; recuperando su acción contra estos gérmenes las de cuarta generación (Véliz *et al.*, 2009).

Se caracterizan por su actividad bactericida dependiente del tiempo, del inóculo bacteriano y de la fase de crecimiento bacteriana, en relación con su eficacia en contra los gérmenes Gram negativos y positivos, estos presentan una penetración a través de las porinas, superior a sus congéneres de tercera generación, lo que le permite alcanzar altas concentraciones en el espacio periplásmico de bacilos Gram negativos. Su eficacia en las generaciones precedentes, siendo las de primera las menos eficaces. Con relación a los gérmenes anaerobios, a modo general todas las cefalosporinas, a excepción de las cefamicinas (cefoxitina, cefmetazol, cefotetán) que tienen una adecuada acción en contra de anaerobios, no son eficaces contra estos microorganismos (Mella *et al.*, 2001).

2.6.0.8. Mecanismo de Resistencia

Existen tres mecanismos básicos de resistencia a las penicilinas, y se cree que lo mismo pasa con las cefalosporinas:

- Permeabilidad reducida: La cefalosporina no puede penetrar la pared bacteriana.
- Inactivación enzimática: Por destrucción del anillo β -lactámico.
- Ausencia de PFP: Las proteínas fijadoras de penicilina o cefalosporina cambian de estructura, y el β -lactámico no se puede fijar e iniciar su acción (López y Camberos, 2006).

2.6.0.9. Farmacocinética

De la farmacocinética se conoce las siguientes partes:

- Absorción: La mayoría de las cefalosporinas no son absorbibles por vía oral, en cambio son rápidamente absorbidas por vía intramuscular. La absorción desde glándula mamaria y útero, vías de utilización más frecuente en especies mayores, no se ha establecido, pero es fácil suponer que debe existir algún grado de absorción, variable de acuerdo al vehículo del preparado y la presencia de inflamación en estos órganos. En todo caso, los niveles sanguíneos que se alcanzan desde estas vías carecen de interés terapéutico. La tolerancia tisular, cualquiera sea la vía de administración, es considerada buena (Zurich y San Martín, 1991).
- Distribución: Son ampliamente distribuidas a través de todos los tejidos y líquidos corporales y pueden alcanzar incluso concentraciones terapéuticas a nivel fetal. Sin embargo, no penetran al líquido cerebroespinal en condiciones nor-

males y en caso de inflamación no se logran concentraciones efectivas. En un 60 % a las proteínas del plasma (Mella *et al.*, 2001).

- **Metabolismo:** Algunas se metabolizan en el hígado. El 20 al 30 % es biotransformado a metabolitos de escasa actividad antimicrobiana las cuales también son excretadas por la orina. Se unen a proteínas plasmáticas en un 60 % (Mella *et al.*, 2001).
- **Excreción:** Se excretan por los riñones, 60 a 80 % se realiza por secreción tubular activo (Díaz y Larrea, 2009).

2.6.0.10. Farmacodinamia

Son antibióticos β -lactámico bactericidas que tiene un efecto inhibidor de una proteína ligada al genoma denominado ácido lipoteicoico, de la pared celular, el cual controla la acción de una enzima (autolisina). Al alterar las funciones del ácido lipoteicoico se exagera el efecto de la autolisina, acelerando la pérdida de la capacidad formadora de pared bacteriana e induciendo así la destrucción de la bacteria (Prescott *et al.*, 2002).

2.6.0.11. Cobactan

Según la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, es una cefalosporina de amplio espectro de cuarta generación que actúa mediante inhibición de la síntesis de la pared celular (Pengov, 2001). Es bactericida y se caracteriza por su amplio espectro de actividad terapéutica y una elevada estabilidad frente a penicilinasas y β -lactamasas. Este bactericida inyectable de amplio espectro es la primera cefalosporina de cuarta generación de uso veterinario, que posee las siguientes características (Selvi, 2015):

- Penetra rápidamente a través de la pared celular de las bacterias grampositivas y gramnegativas.

- Posee una elevada afinidad por las proteínas fijadoras de la penicilina, provocando la elongación y destrucción de la bacteria.
- Presenta una débil afinidad por las β -lactamasas, dificultando seriamente la inducción de resistencia antibacteriana.

2.6.0.12. Propiedades Farmacológicas

Se ha demostrado actividad in vitro frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas comunes, incluyendo *Escherichia coli*, *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Proteus spp.*, *Salmonella spp.*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus somnus*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Bacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp.*, *Actinobacillus spp.* y *Erysipelothrix rhusiopathiae* (Himelfarb, 2017).

2.6.0.13. Farmacocinética

La concentración máxima en suero de bovino, de aproximadamente 2 g/ml, se alcanza entre las 1.5-2 horas tras la administración intramuscular o subcutánea de una dosis de 1 mg/kg. Cefquinoma posee una semivida relativamente corta 2.5 horas (Selvi, 2015).

2.6.0.14. Seguridad en Reproducción y Lactancia

El medicamento veterinario está destinado para su uso durante la lactación. No hay información disponible que evidencie toxicidad sobre la reproducción (incluida teratogenicidad) en bovinos. Los estudios de toxicidad sobre la reproducción efectuados en animales de laboratorio, no han demostrado ningún efecto de la cefquinoma sobre la reproducción ni ser potencialmente teratogénica. La leche producida durante

el tratamiento y 24 horas después de finalizado el mismo no debe darse al consumo humano (R. Pérez, 2012).

2.6.0.15. Interacciones Medicamentosas

Hay existencia de sensibilidad cruzada a las cefalosporinas para bacterias sensibles al grupo de las cefalosporinas. Debido a interacciones farmacodinámicas indeseables, no se debe aplicar la cefquinoma simultáneamente con medicamentos bacteriostáticos (R. Pérez, 2012).

2.7 IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA MASTITIS BOVINA

La mastitis es considerada como la enfermedad más costosa en la producción láctea; representando un 26 % del costo total de todas las enfermedades en el ganado lechero; el 70 a 80 % de todas las pérdidas son generalmente asociadas a mastitis subclínicas, mientras que tan solo el 20 a 30 % se deben a la mastitis clínica (Philpot y Nickerson, 2002).

Unos de los aspectos más mesurables en la producción láctea, es el aspecto económico con el desarrollo de esta enfermedad, un escaso control al momento del ordeño y una recolección inadecuada provocan una pérdida de numerosos litros de leche. Si se llegara a considerar como un marco de pago a la calidad de la leche a diferencia del volumen, considerando a los inhibidores, esto generara una disminución del precio de compra o la pérdida total declarándose la no apta pudiendo ser una opción la carga antibiótica.

Para Philpot y Nickerson (1992) en términos generales los daños económicos derivan en:

- Descarte de la leche

- Gastos de terapia y veterinarios
- Pérdida de la calidad
- Disminución de la producción
- Sobrecarga de trabajo en animales positivos a mastitis.

Mcdonald (1979), menciona que las pérdidas en una glándula infectada eran de 770 kg de leche por vaca, sin embargo, las investigaciones han demostrado que un cuarto infectado produce aproximadamente 780 litros de leche menos por lactancia que un cuarto sin infección; Philpot y Nickerson (1992), refirieron que un solo cuarto infectado produce aproximadamente 725 kg menos que uno no infectado.

Para Caraguay (2012), en una investigación desarrollada en el sector Chantaco del cantón Loja existe una pérdida de 18.4 litros de leche por día, tomando en cuenta el costo es de \$0.60 centavos (USD) el precio estimado que se maneja en el lugar resulta un total de 11 dólares diarios de pérdidas, lo que representa un total de 3364.9 dólares anuales.

La disminución de la producción de leche por cuarto afectado varía para algunos autores de 9 al 23 %, para otros de 2, 8, 11, 4, 25, 6 y 45.6 % para las reacciones de Traza, 1+, 2+ y 3+, a la prueba de California (CMT), respectivamente, o de 6, 10, 16 y 24.5 % para los mismos indicadores (G. Gasque y Blanco, 2001).

2.7.0.1. Porcentaje Económico

Según Kleinschroth *et al.* (1991) el porcentaje económico por mastitis es:

- 8 % de aumento de los costes de reposición del ganado
- 4.9 % disminución del valor de venta de la leche
- 3.2 % costes de los medicamentos

- 1.7 % costes de servicio veterinario
- 69.3 % disminución producción de leche.

2.7.0.2. Desarrollo Económico

En consideración, se estima que las pérdidas anuales por mastitis en cada unidad bovina oscilan entre 150 y 300 dólares americanos (Gilson, 1995), mientras varios autores, señalan que el valor medio ronda los 200 dólares/vaca/año (Middleton *et al.*, 2014).

Tabla 4. Interpretación y pérdidas en la producción mediante CMT.

Apariencia de la mezcla durante la prueba	Puntaje CMT	Pérdidas en la producción lechera diaria
Líquido mezclado, no precipitado	Negativo (-)	0.0 %
Precipitado leve, con frecuencia a desaparecer con el movimiento de la paleta	Trazas (S)	5.0 %
Precipitado definido pero no gelifica con el movimiento de la paleta	1 (+)	8.0 %
Formación de un gel definido, denso floculento	2 (++)	9-18 %
Formación de un gel fuerte que sufren una adherirse a la paleta. Forma un pico central definido	3 (+++)	19-25 %

Fuente: *PROGANAVES Cia. Ltda. | Recuperado2019 (s.f.)*

Romero (2004), 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. Los costos estimados por mastitis clínica varían dependiendo del país y presupuesto e incluyen los costos del tratamiento y veterinario, la reducida producción de leche durante la parte restante de la lactación, las pérdidas de leche que ha sido desechada debido a contaminación con antibióticos, eliminación temprana,

Mientras que Vissio *et al.* (2015), en Argentina la mediana de pérdidas en producción de leche por MS fue de 2.8 litros/vaca/día (percentil 25 % = 2.0; percentil 75 % = 2.9), lo que representa un costo de US\$ 0.99/vaca/ día.

2.8 TRABAJOS RELACIONADOS

Evaluación de dos dosis de ozono en el tratamiento de mastitis bovina

En este trabajo llevado a cabo en el Centro Experimental Uyumbicho de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Central del Ecuador se evaluó el efecto de la administración intramamaria de ozono médico para el tratamiento de mastitis en bovinos en producción láctea, en dosis de 50 μg y 100 μg en tres aplicaciones, frente a un testigo convencional (Cefalexina 200 mg). La investigación constó de 3 tratamientos con 4 repeticiones, para lo que se utilizaron 12 vacas en producción con presencia de mastitis clínica y subclínica grado +++, estas se distribuyeron bajo un Diseño de Bloques Completos al Azar. Las variables analizadas fueron: recuento de UFC/ml (mesófilos), índice de coliformes totales y la determinación de la efectividad de los tratamientos aplicados.

Los resultados experimentales de los tratamientos fueron sometidos a un análisis de varianza (ADEVA), encontrándose diferencias altamente significativas ($p \leq 0.05$) sobre la carga de UFC/ml (mesófilos) al tercer día de la evaluación, alcanzando el T1 una efectividad del 94.56 % y difiriendo estadísticamente ($p \leq 0.05$) con el T3 y el T2, los que presentaron una efectividad del 89.53 % y del 89.52 %, respectivamente. Mientras que al séptimo día de la evaluación, también se encontraron diferencias altamente significativas ($p \leq 0.05$), siendo el T1 el que presentó el mayor porcentaje de efectividad con el 97.53 %, difiriendo estadísticamente ($p \leq 0.05$) con el T3, el que presentó una efectividad del 92.38 %, y a su vez difiriendo estadísticamente ($p \leq 0.05$) del T2, el que presentó una efectividad de 91.00 % (P. Martínez, 2015).

Determinación de la eficacia de ozonoterapia en el tratamiento de mastitis clínica en vacas

En esta investigación desarrollada en el sector de Bayandel, cantón Deleg, provincia del Cañar, se determinó el efecto de la administración intramamaria de ozono como una medida alterna frente el tratamiento de mastitis clínica en bovinos en pro-

ducción láctea, se usó 18 unidades experimentales, aplicándose 3 tratamientos con 2 repeticiones cada tratamiento, se clasificó de acuerdo al grado de mastitis clínica medianamente aguda, severamente aguda y mastitis crónica, se aplicaron dosis de 40 - 50 - 60 $\mu\text{g/ml}$ de ozono en los diferentes grados de mastitis con solución salina al 0.9 % administrándose un total de 100 cc de solución ozonificada en las 48 horas de aplicación de todo el tratamiento. En el laboratorio se cuantificaron el recuento de células somáticas y unidades formadoras de colonias. El método estadístico aplicado fue de bloques completamente al azar en parcelas divididas, el cual mediante un ADEVA con valores transformados a $\log(x+1)$ se obtuvieron resultados que no son significativos a excepción del factor RCS en 50 $\mu\text{g/ml}$ que existe una diferencia significativa ya que F calculado (26.66) es mayor al valor de F 0.5 (19.00) pero menor al valor de F 0.1 (99.00) sin haber significancia estadística entre categoría de mastitis (Sanango y Iván, 2014)

El empleo de la ozonoterapia en ganadería de leche como alternativa de tratamiento para la mastitis clínica

En este estudio se utilizó la ozonoterapia como método alternativo para el tratamiento de la mastitis en diferentes sectores ubicados al sur de la provincia del Azuay como lo son: Cumbe, Tarqui y Victoria del Portete, se aplicó ozono a través de la administración de solución salina ozonificada y solución gaseosa, se la comparó frente a un tratamiento tradicional (Ceftiofur).

Para esta investigación se utilizó muestreo estratificado de diseño de Bloques al Azar (DBA), prueba de Duncan al 5 %, prueba de χ^2 (Chi Cuadrado). Se usaron 54 vacas mayores de 2 años, que tuvieron de 1 a 4 partos, enfermas con mastitis clínica asignándose en 3 bloques: 18 vacas con solución gaseosa en una dosis de (50 ml con 35 $\mu\text{g/ml}$ de Ozono/ vía intramamaria), 18 vacas con solución fisiológica ozonificada (50 ml con 35 $\mu\text{g/ml}$ de Ozono/vía intramamaria) y 18 vacas con tratamiento alopático tradicional a base de ceftiofur (1.6 mg/kg/P.V).

Los resultados dejaron conocer que al ganado que se aplicó gas ozono sanaron

en un 76.7 %, que a aquellas que se les aplicó suero ozonificado fueron curadas un 33.3 % y a los que se aplicó ceftiofur sanaron un 83 %. Ubicándose en el primer lugar de eficacia por lo que fue el mejor tratamiento. En segundo lugar, está el tratamiento A de gas ozono con un 76.7 % y en último lugar se ubica el tratamiento B de suero ozonificado con el 33.3 %. De acuerdo al análisis económico, el costo por animal con el tratamiento A (gas ozono) fue de USD 2.55, en el tratamiento B (suero ozonificado) el costo total por animal fue de USD 2.85, mientras que en el tratamiento T (ceftiofur) el costo total por animal fue de USD 11.25. Concluyeron que el tratamiento más adecuado económicamente fue el de gas ozono, además de no presentar efectos colaterales en el animal y en la leche (Arichábala y Argudo, 2012).

3. METODOLOGÍA

3.1 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.1. Ubicación

La siguiente investigación se desarrolló en el sector de Motupe perteneciente a la parroquia de Carigan en dos pequeñas ganaderías ubicadas en la parte norte en los puntos 356'38.9"S 7914'22.9"W, posteriormente el trabajo se llevó a cabo en las instalaciones de la Quinta Experimental Punzara de la Universidad Nacional de Loja ubicado al sur oeste de la ciudad de Loja, en la parroquia San Isidro del cantón Loja; longitud: 79° 12 40" a 79° 12 59" Oeste y latitud: 04° 02 47" a 04° 02 32" Sur.

3.1.2. Descripción del Experimento

La investigación fue de carácter experimental y se desarrolló en dos fases: una de campo y otra de laboratorio.

3.1.2.1. Fase de Campo

En la elaboración de este proyecto se utilizaron unidades bovinas experimentales en producción, independientemente de su raza, edad, etapa de lactancia y número de partos. Para su selección se realizó un muestreo de carácter observacional en animales que presenten (Inflamación de un cuarto, secreción de coágulos), característicos de un cuadro clínico. Al realizar un análisis en esta zona se pudo determinar la inexistencia de animales con sintomatología que indiquen mastitis clínica. Por lo cual se procede hacer un muestreo mediante California Mastitis Test (CMT), donde se infiere el trabajar con cuadros subclínicos comprobados mediante prueba diagnóstico y

conteo celular, estableciéndose posteriormente los grupos así como los tratamientos a aplicarse.

3.1.2.2. Fase de Laboratorio

Las muestras obtenidas fueron transportadas a la planta piloto de procesamiento de lácteos de la Quinta Experimental Punzara, aquí se realizó el conteo del número de células somáticas de cada muestra obtenida, así como la evaluación durante tres días en cada unidad a tratar durante el desarrollo de esta investigación.

3.1.3. Tratamientos

Consistió en la aplicación de ozono en combinación con solución salina al 0.9 % por vía intramamaria en dos diferentes concentraciones, así como la aplicación de una cefalosporina de cuarta generación. Para la aplicación del ozono por vía intramamaria se empleó un generador de ozono de la marca (Dr. O Solutions for Natural Healts) de la serie MTO-0.2/D-NP; en conjunto a una fuente de oxígeno médico, se ozonificó la solución salina al 0.9 % por el lapso de unos 30 minutos, sometiéndolo posteriormente a refrigeración para su transporte y dosificación por grupo de acuerdo a las dosis establecidas.

3.1.3.1. Tratamiento a base de ozono

- Primer grupo (T1): Conformado por 4 unidades, se trabajó con dosis de 0.35 $\mu\text{g/ml}$ diluidos en una solución salina (cloruro de sodio al 0.9 %), aplicándose una dosis de 20 ml diarios por 3 días por vía intramamaria.
- Segundo grupo (T2): Conformado por 4 unidades, se trabajó con dosis de 0.40 $\mu\text{g/ml}$ diluidos en una solución salina (cloruro de sodio al 0.9 %), aplicándose una dosis de 20 ml diarios por 3 días por vía intramamaria.

Para esto se realizó la recolección y conservación de muestras de cada unidad experimental para su próximo conteo y análisis.

3.1.3.2. Tratamiento Farmacológico

Consistió en la aplicación de Cobactan en una concentración del 2.5 % por vía intramuscular en una dosis de 2ml/50 kg pv.

- Tercer grupo (T3): Conformado por 4 unidades, se trabajó con dosis acordes al peso de cada animal y establecidas por la casa comercial de este producto, para cada unidad experimental se realizó un tratamiento consecutivo por 3 días continuos y se realizaron los conteos post aplicación del tratamiento.

3.1.4. Tamaño de la Muestra

Tras la realización de un muestro se determinó aquellos animales positivos a mastitis subclínica; siendo el tamaño de la muestra de 12 animales, a quien se los dividió en 3 grupos. Cada grupo está conformado por 4 unidades en producción determinándose subsiguientemente cada tratamiento para los diferentes grupos.

3.1.5. Toma de las Muestras

Se utilizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, seleccionando animales positivos a un cuadro subclínico. Cada una de las muestras recolectadas de cada uno de los cuartos afectados posterior al despunte fue analizada mediante el lector digital SCC Digital Reader para determinar el grado de afección acorde al número de células somáticas en el pre tratamiento y aplicación y finalización del mismo. La duración de los diferentes tratamientos tuvo alrededor de 3 días aplicándose el ozono por vía intramaria a diferencia del antibiótico donde se administró por vía IM.

3.1.6. Preparación de las Muestras

Una vez identificada cada unidad experimental a evaluar se procedió con tomas iniciales mediante el despunte que consiste en la eliminación de los dos primeros chorros de leche y consecuentemente la recolección de muestras de cada cuarto afectado en un volumen de 5 a 10 ml.

Una vez obtenida cada muestra se selló y se colocó el número de cada unidad en cada uno de los recipiente a una temperatura de 10°C, para luego ser conservadas y trasladadas hasta su posterior análisis en la planta piloto de procesamiento de lácteos de la Universidad Nacional de Loja ubicada en el sector de Punzara.

Cada muestra fue preparada y analizada mediante el kit the Porta SCC Quick Somatic cell test; se colocó de 4 a 5 gotas de las muestras recolectadas utilizando una micropipeta estéril (una por muestra) sobre las tiras del kit Porta SCC y se añadió la solución activadora, posteriormente, se esperó alrededor de 5 minutos y luego se realizó el conteo a través de un lector digital de células somáticas. A este resultado se lo multiplicó por 1000000 o se midió su coloración acorde a una tabla indicadora.

3.1.7. Variables de Estudio

En la investigación se determinaron las siguientes variables:

- Grado de afección: Para esta variable, se tomó en cuenta el número de células somáticas (NCS) de cada unidad en cada grupo ya establecidos. Finalizada esta asignación y determinación se realizaron conteos durante cada aplicación del tratamiento es decir evaluaciones cada 24 horas por 3 días continuos para determinar si cada tratamiento muestra efectividad.
- Tratamiento: Se tomó en cuenta tres tratamientos conformados por 4 unidades. El primero se trabajó con dosis de 0.35 $\mu\text{g/ml}$ diluidos en una solución salina

(cloruro de sodio al 0.9 %), el segundo con dosis de 0.40 $\mu\text{g/ml}$ diluidos en una solución salina (cloruro de sodio al 0.9 %) y el tercero consistió en la aplicación de Cobactan en una concentración del 2.5 % por vía intramuscular en una dosis de 2ml/50 kg pv.

- Rentabilidad por costo: Se tomó en cuenta los costos para cada uno de los tratamientos, considerando el precio del medicamento, precio de la máquina generadora de ozono, así como la utilización del oxígeno médico y el instrumental.

3.1.8. Análisis Estadístico

Se realizó estadística descriptiva usando tablas y figuras, además se comparó los tratamientos utilizando un modelo de ANOVA y para comparaciones a posteriori una prueba de Tukey al 5 %. Se empleó hojas de cálculo Excel 2016 y el programa estadístico R versión 3.6.1 de libre acceso.

4. RESULTADOS

4.1 GRADO DE AFECCIÓN DURANTE EL PRE Y POST TRATAMIENTO

La Tabla 5 muestra la aplicación de los diversos tratamientos en diferentes dosis de ozono en comparación con la aplicación del antibiótico. Las evaluaciones fueron diarias una vez aplicado el tratamiento en cada uno de los grupos.

En el tratamiento 1 con una dosis de (35 $\mu\text{g/ml}$ O_3 de solución ozonificada, se pudo percatar que tras la realización de un conteo previo a la aplicación del tratamiento, el 50 % presento una mastitis subclínica grado ++, mientras que el 50 % restante una mastitis subclínica grado +++. Tras la primera aplicación, el 75 % se presentó en forma de una cruz y el 25 % restante como dos cruces. Para la segunda aplicación tras la realización de los conteos previos establecidos el 25 % no presento grado de infección, a diferencia de un 50 % que se presentó en forma de trazas siendo el 25 % restante una cruz. En la tercera aplicación el 50 % de las unidades no presenta grado de infección alguna, mientras que el 50 % restante se presentó como traza (posible infección). Demostrando un efecto positivo en el descenso del número de células somáticas para cada unidad experimental.

En el tratamiento 2 (40 $\mu\text{g/ml}$ O_3 a base de una solución ozonificada, se pudo observar que tras la realización de un conteo previo a la aplicación del tratamiento, el 25 % presento una mastitis subclínica grado ++, mientras un 75 % restante grado +++.

Tras la primera aplicación el 50 % presento una cruz y el 50 % dos cruces. Tras la segunda aplicación el 25 % se presentó en forma de traza, a diferencia de un 50 %. Que se presentó como una cruz y el 25 % restante alcanzo tres cruces. Para la tercera

aplicación se obtuvo un 25 % sin grado de afección, a diferencia de un 25 % como un traza, a diferencia de un 50 % restante que se presentó como una cruz. Evidenciándose una disminución favorable en el número de células somáticas.

En el tratamiento 3 a base de Cefquinoma (Cobactan 2.5 %), se pudo percatar que tras la realización de un conteo previo a la aplicación el 25 % presento mastitis grado +, mientras el 25 % presento mastitis grado ++ y un 50 % restante una mastitis subclínica grado +++. En la primera aplicación el 25 % se presentó como traza (posible infección) a diferencia de un 75 % restante que se presentó como una cruz; mientras que en una segunda aplicación tras la realización de un conteo el 50 % se presentó como traza (s), y un 50 % restante como una cruz(+). Para la tercera aplicación el 50 % no presento grado de afección alguna, mientras que el 50 % restante presento traza(s). Por lo que podemos anotar que el tratamiento con Cefquinoma (Cobactan 2.5 %) disminuye el número de células somáticas teniendo un grado de efectividad igual al ozono en sus diferentes dosis aplicadas para cada tratamiento.

Tabla 5. Número y porcentaje de animales según el grado de mastitis mediante la prueba de CMT, pre y post-tratamiento

Tratamiento		Previo al tratamiento		Aplicación del tratamiento						
Tratamiento	Resultados	Putaje CMT	Día 0		Aplicación 1		Aplicación 2		Aplicación 3	
			Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
T1	Negativo	-	0	0	0	0	1	25	2	50
		s	0	0	0	0	2	50	2	50
	Positivo	+	0	0	3	75	1	25	0	0
		++	2	50	1	25	0	0	0	0
		+++	2	50	0	0	0	0	0	0
	Total		4	100	4	100	4	100	4	100
T2	Negativo	-	0	0	0	0	0	0	1	25
		s	0	0	0	0	1	25	1	25
	Positivo	+	0	0	2	50	2	50	2	50
		++	1	25	2	50	0	0	0	0
		+++	3	75	0	0	1	25	0	0
	Total		4	100	4	100	4	100	4	100
T3	Negativo	-	0	0	0	0	0	0	2	50
		s	0	0	1	25	2	50	2	50
	Positivo	+	1	25	3	75	2	50	0	0
		++	1	25	0	0	0	0	0	0
		+++	2	50	0	0	0	0	0	0
	Total		4	100	4	100	4	100	4	100

4.2 EFECTO DEL OZONO EN EL NÚMERO DE CÉLULAS SOMÁTICAS

4.2.1. Recuento de CS/ml de leche previo al tratamiento

Al realizar la comparación entre grupos experimentales, se puede ver que no existe diferencia significativa ($p=0.7433$) entre los promedios de células somáticas previo

al tratamiento, lo que significa que los datos son similares para las vacas de los tres grupos (Tabla 6).

Tabla 6. Modelo de ANOVA para el recuento de CS/ml previo al tratamiento

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamientos	2	3.071e+11	1.85e+11	0.3067	0.7433
Residuals	9	5.431e+12	6.034e+11	NA	NA

4.2.2. Recuento de CS/ml de leche en los días 1, 2 y 3 post tratamiento

En la Tabla 7 se muestra el análisis de varianza para la variable determinación de la efectividad de ozono durante el periodo de evaluación, al 1 día no presenta una diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p=0.7103$). Alcanzando un promedio de 1660000 CS/ml en el T1, 1275000 en el T2 y 1440000 en el T3 (Figura 1).

Tabla 7. Modelo de ANOVA para el recuento de CS/ml en el día 1 post tratamiento

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamientos	2	2.985e+11	1.492e+11	0.3554	0.7103
Residuals	9	3.779e+12	4.199e+11	NA	NA

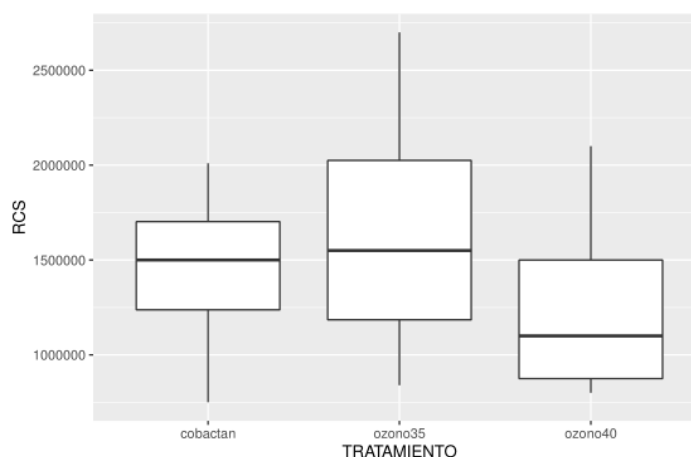


Figura 1. Promedio de células somáticas por tratamiento, día 1.

A los 2 días post tratamiento, el análisis de varianza tampoco presenta diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p=0.2968$) (Tabla 8). Los promedios de CS/ml obtenidos por tratamiento 1, 2 y 3 fueron de 1425000, 575000 y 755000 respectivamente (Figura 2).

Tabla 8. Modelo de ANOVA para el recuento de CS/ml en el día 2 post tratamiento

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamientos	2	1.605e+12	8.025e+11	1.395	0.2968
Residuals	9	5.179e+12	5.755e+11	NA	NA

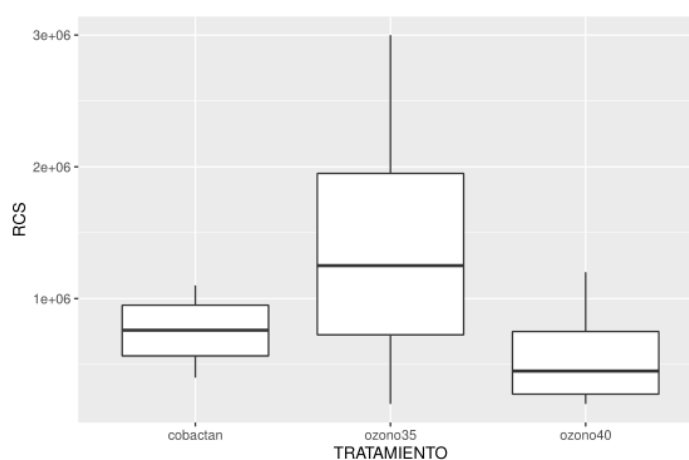


Figura 2. Promedio de células somáticas por tratamiento, día 2.

Y a los 3 días post tratamiento tampoco se evidencia diferencia estadística significativa entre los tratamientos evaluados ($p=0.1862$) (Tabla 9). Se obtuvieron promedios de CS/ml para los tratamientos 1, 2 y 3 de 805250, 302000 y 248250 (Figura 3).

Tabla 9. Modelo de ANOVA para el recuento de CS/ml en el día 3 post tratamiento

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamientos	2	7.552e+11	3.776e+11	2.038	0.1862
Residuals	9	1.668e+12	1.853e+11	NA	NA

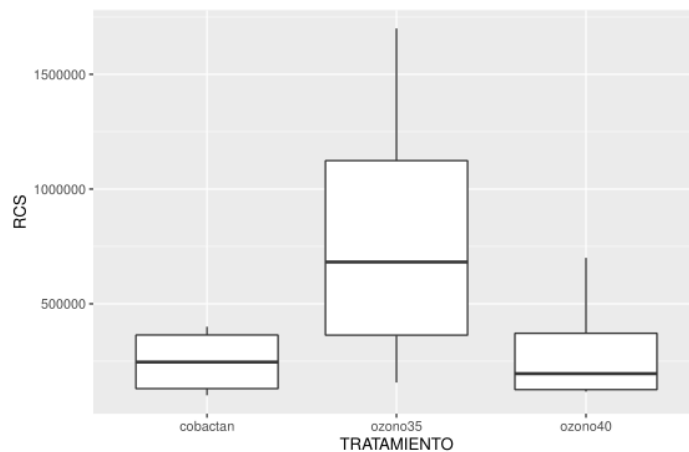


Figura 3. Promedio de células somáticas por tratamiento, día 3.

4.3 RELACIÓN COSTO - BENEFICIO DE LOS TRATAMIENTOS

A continuación la Tabla 10 muestra los costos totales directos e indirectos generados en los diferentes tratamientos a base de ozono frente al antibiótico por elección, observándose el total de dinero invertido en las 12 unidades experimentales del estudio.

Tabla 10. Costos directos e indirectos en la aplicación de tratamientos

Materiales	Costo Unitario\$	Unidades	Costo Total\$
Solución salina	1.50	3	4.50
Dr. O Solution	100.00	1	100.00
Oxígeno médico	15.00	1	15.00
Jeringas 50 ml	0.80	5	4.00
Jeringas 20 ml	0.60	3	1.80
Sonda intramamaria	1.90	3	5.70
Agujas	0.25	12	3.00
CMT	11.22	2	22.44
Papel desinfectante	0.25	3	0.75
Termo refrigerante	7.00	1	7.00
Gel frío	1.50	4	6.00
Envases recolectores	0.25	96	24.00
The Porta SCC	78.00	1	78.00
Cobactan 2.5 %	28.00	2	56.00
Yodo	0.75	3	2.25
		Total	330.44

4.3.1. Análisis económico por costos parciales en cada uno de los tratamientos

En el tratamiento 1 a base de ozono en dosis 35 ($35 \mu\text{g/ml O}_3$) se presentan los siguientes costos:

Tabla 11. Costos directos e indirectos en la aplicación del tratamiento 1

Materiales	Unidades	Días de tratamiento	Valor diario\$	Costo Total\$
Ozono	35 mcg	3	20.00	60.00
Oxígeno médico	60 lts	3	0.56	1.67
Solución salina	20 ml	3	1.50	4.50
Jeringas 50 ml	2	3	0.80	1.60
Sonda intramamaria	2	3	1.90	3.80
Mano de obra		3	3.00	9.00
Total				80.57

Segun los datos de la Tabla 11, los costos obtenidos en la aplicación de ozono por 3 días para 4 unidades bovinas en producción láctea con mastitis subclínica, fue de 80.57 dólares americanos, obteniendo un porcentaje de recuperación en el estado de salud del 50 % de los animales.

En el tratamiento 2 a base de ozono en dosis (40 $\mu\text{g/ml}$ O₃ se presentan los siguientes resultados:

Tabla 12. Costos directos e indirectos en la aplicación del tratamiento 2

Materiales	Unidades	Días de tratamiento	Valor diario\$	Costo Total\$
Ozono	40 mcg	3	20.00	60.00
Oxígeno médico	60 lts	3	0.56	1.67
Solución salina	20 ml	3	1.50	4.50
Jeringas 50 ml	2	3	0.80	1.60
Sonda intramamaria	2	3	1.90	3.80
Mano de obra		3	3.00	9.00
Total				80.57

Como se puede apreciar en la Tabla 12, el costo de aplicación por 3 días del ozono para 4 unidades bovinas en producción láctea con una afección positiva a mastitis subclínica comprobada fue de 80.57 dólares americanos, esta vez obteniendo un porcentaje de recuperación del 25 % de los animales. Se evidencia un costo similar

al T1, sin embargo existe diferencia en los resultados de efectividad.

Por último en el tratamiento 3 con antibiótico (Cobactan 2.5 %) en dosis acorde al peso del animal y la sugerencia por parte de la ficha técnica elaborada por la casa comercial se presentan los siguientes costos:

Tabla 13. Costos directos e indirectos en la aplicación del tratamiento 3, antibiótico (cobactan 2.5 %)

Materiales	Unidades	Días de tratamiento	Valor diario\$	Costo Total\$
	20 ml	3	5.60	16.80
Cobactan 2.5 %	18 ml	3	5.04	15.12
	15 ml	3	4.20	12.60
	14 ml	3	3.92	11.76
Jeringas de 50 ml	2	3	0.80	1.60
Agujas	12	3	1.00	3.00
Jeringas de 20 ml	3	3	0.60	1.80
Mano de obra		3	3.00	9.00
Total				71.68

El costo de aplicación por 3 días del antibiótico (Cobactan) para 4 unidades bovinas en producción láctea con una afección positiva a mastitis subclínica comprobada fue de 71.68 dólares americanos con un porcentaje de recuperación del 50 % de los animales en estudio (Tabla 13).

5. DISCUSIÓN

5.1 GRADO DE AFECCIÓN DURANTE EL PRE Y POST TRATAMIENTO

Al hablar del grado de afección, varios autores han utilizado el ozono como tratamiento para mastitis, así Ogata y Naghata (2000) en la región de Hokaido, Japón evaluaron la aplicación del ozono por vía intramamaria en casos de mastitis clínica, en un total de 19 unidades experimentales. Determinaron que el 60 % de las vacas se recuperaron al utilizar el tratamiento. Estos resultados son similares a los obtenidos en la presente investigación demostrando un porcentaje de recuperación del 50 % y un 50 % restante se mostró como un elemento traza evidenciándose un efecto positivo del ozono una vez finalizado el tratamiento, este no requiere tiempo de retiro como en el caso del antibiótico.

Así mismo, Sanango y Iván (2014) determinaron el grado de afección después de aplicar ozono, afirmaron que el tratamiento a base de ozono genera un efecto positivo en el descenso del número de células somáticas, sin embargo no es eficiente en el tratamiento de la mastitis clínica por cuanto el recuento de estas células debe ser inferior a las 200000/ml. Estos resultados difieren con lo expuesto en la presente investigación, obteniendo una tasa de recuperación del 25 % con un número de células somáticas por debajo de 200000/ml.

Por otro lado Arichábala y Argudo (2012) en su estudio mostraron una tasa de recuperación del 83 % de los animales demostrando así la efectividad del antibiótico frente al ozono, así también P. Martínez (2015) tras la aplicación del antibiótico determinó que existe una disminución en la carga bacteriana, lo cual concuerda con los resultados obtenidos donde al aplicar el antibiótico, se obtuvo una tasa de recuperación del 50 %.

Esta diferencia tanto al aplicar antibiótico como ozono, puede darse por la influencia de características propias de cada lugar, así como la sanidad en cada una de las ganaderías, siendo un factor influyente el manejo de los bovinos lecheros durante su etapa de lactancia, así como el tamaño de la muestra de los animales y el grado de afección que estas muestren con o sin sintomatología (McDougall *et al.*, 2007) .

5.2 EFECTO DEL OZONO EN EL NÚMERO DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Varios estudios muestran la efectividad del ozono sobre la mastitis, así Sanango y Iván (2014) en el sector de Bayandel perteneciente a la provincia del Cañar, determinaron que la aplicación de 2 dosis de 40 $\mu\text{g/ml}$ disminuye la carga bacteriana reflejándose en el descenso de número de células somáticas partiendo de un valor inicial de 7000000 CS/ml finalizando el tratamiento con un valor 38750 CS/ml. Esto concuerda con lo expuesto por Peláez (2015) en su investigación desarrollada en el sector de San Agustín perteneciente a la provincia de El Oro, donde manifiesta que dosis más altas con un mayor número de repeticiones tienen mayor efectividad. Así mismo P. Martínez (2015) en su investigación desarrollada en el Centro Experimental Uyumbicho perteneciente a la Universidad Central del Ecuador manifiesta que dosis de 50 $\mu\text{g/ml}$ y con 100 $\mu\text{g/ml}$ con 3 repeticiones estas, disminuye el grado de mastitis.

Por el contrario, Arichábala y Argudo (2012) en su investigación desarrollada en Cuenca con una dosis de 35 $\mu\text{g/ml}$ con 3 repeticiones obtuvieron datos no significativos ubicándose este tratamiento como el menos efectivo en la tasa de recuperación, esto debido a que el NCS debe estar por debajo de los 200000 CS/ml teniendo un 33.3 % de efectividad. De manera similar Torrico *et al.* (2018) en su trabajo desarrollado en la región de Santa Cruz, Bolivia determinaron que un tratamiento con dosis de 35 $\mu\text{g/ml}$ reduce el NCS de 2700000 CS/ml a 900000 CS/ml. Así mismo, Suárez (2013), en su estudio desarrollado en Riobamba encontraron que la aplicación de

ozono fue igual de significativa que el tratamiento a base de antibióticos.

Estos resultados son similares a los obtenidos en esta investigación, donde hay una reducción en el número de células somáticas de (2175000 CS/ml a 302000 CS/ml), sin embargo no existe efectividad del ozono en relación al uso de antibióticos; según Ogata y Naghata (2000), esto puede ser debido a la presencia de sintomatología de tipo crónico y la resistencia de ciertos patógenos a la aplicación de ozono. Así también P. Martínez (2015) En su investigación demostró que el ozono no es efectivo en la eliminación del *Staphylococcus aureus*, a diferencia de la aplicación de un antibiótico en el periodo de evaluación teniendo una tasa de recuperación del 97.53 % reduciendo tanto el NCS como la UFC, siendo este agente muy común en ganaderías lecheras y en procesos de cuadros mastíticos.

5.3 RELACIÓN COSTO - BENEFICIO DE LOS TRATAMIENTOS

Al analizar la relación costo-beneficio de los tratamientos, Peláez (2015) en su investigación expresa, que el mejor tratamiento es el uso de antibiótico y el ozono en concentración 60 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente, y si se considera el valor económico por tratamiento, el ozono es más conveniente por tener un bajo costo 9.95 USD por animal y no inducir resistencia en los microorganismos, a diferencia del costo del tratamiento con antibiótico 31.26 USD por animal. Así también Suárez (2013) en su trabajo realizado en Riobamba manifiesta que la aplicación de ozono puro y solución ionizada es más rentable que la utilización de antibióticos, con un costo por tratamiento de 57.60 dolares americanos a diferencia de un antibiótico 165.60 USD en 5 aplicaciones.

G. Martínez (2013) en su estudio determina que tanto la ozonoterapia como el antibiótico (certiofur) son capaces de curar la mastitis, el coste económico por la aplicación de suero ozonificado fue alrededor de los 2.85 USD por animal a diferen-

cia de la utilización de un antibiótico donde el costo fue de 11,25 USD por animal. Todos estos resultados concuerdan con lo expuesto en la presente investigación al obtener un costo de ozono (71.68 USD) vs antibiótico (80.57 USD), sin embargo aquí no se evidenció diferencias entre aplicar ozono y aplicar antibiótico.

Hay que mencionar que una constante adquisición de antibióticos para inhibir o combatir la presencia de la mastitis resulta en un gasto a largo plazo, convirtiéndose en un inconveniente para el ganadero mientras que, por el contrario, la ozonoterapia se representa como un solo gasto que previene y combate a esta enfermedad, por lo que resulta una medida de ahorro a largo plazo generando un costo beneficio al ganadero en producciones extensas (Díaz, 2012).

6. CONCLUSIONES

Luego de terminar el análisis y discutir los resultados obtenidos en esta investigación se puede concluir lo siguiente:

- El tratamiento a base de una solución ozonificada de 35 mcg/ml y 40 mcg/ml disminuye el grado de mastitis de forma similar al antibiótico, teniendo una tasa de recuperación del 50 % y 25 % respectivamente.
- El tratamiento a base de ozono en una solución ozonificada en sus diferentes dosis (35 $\mu\text{g/ml}$ y 40 $\mu\text{g/ml}$) igual que el antibiótico (cobactan) reducen el número de células somáticas.
- Los menores costos por tratamiento se obtienen de la aplicación de una solución ozonificada, siendo el costo total 80.57 USD para ambos tratamientos (35 $\mu\text{g/ml}$ y 40 $\mu\text{g/ml}$) es decir 10.07 USD por unidad experimental en ambos grupos; a diferencia de la utilización de un antibiótico donde el costo total fue de 71.68 USD es decir 17.52 USD por cada unidad que conforma el tercer grupo. Concluyendo que el tratamiento más factible económicamente es la utilización de una solución ozonificada.

7. RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con esta investigación en diferentes dosis y en distintas concentraciones por animal, con un mayor número de repeticiones; generando conocimientos para afianzar las bases de este tratamiento de carácter alternativo.
- Emplear el ozono médico de formas alternativas, ya que no es un producto invasivo y muestra efectividad al igual que un antibiótico en la reducción del número de células somáticas.
- Fomentar el uso de la ozonoterapia en casos de mastitis subclínica antes que esta se desarrolle como un cuadro clínico.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Andraca, J. R., Rodríguez Gil, E., y Fundora Santana, A. (2001). Cefalosporinas. *Revista Cubana de Farmacia*, 35(3), 219–222.
- Arauz, 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*. engormix. Engormix.
- Arichábalá, N., y Argudo, D. E. (2012). *El empleo de la ozonoterapia en ganadería de leche como alternativa de tratamiento para la mastitis clínica* (B.S. thesis).
- Awale, M., Dudhatra, G., Avinash, K., Chauhan, B., Kamani, D., Modi, C., . . . Mody, S. (2012). Bovine mastitis: a threat to economy. *Open Access Scientific Reports*, 1(5), 295.
- Bernal, M. R. (2014). *Evaluación del efecto de la ozonoterapia en perros con problemas de dermatitis bacteriana en la ciudad de cuenca provincia del azuay* (B.S. thesis).
- Blowey, R., y Edmondson, P. (1995). Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche. acribia. *Zaragoza*.
- Booth, N. H., y cols. (1988). *Farmacología y terapéutica veterinaria* (n.º 619: 615). Acribia,.
- Calvinho, L. F., y Tirante, L. (2005). Prevalencia de microorganismos patógenos de mastitis bovina y evolución del estado de salud de la glándula mamaria en argentina en los últimos 25 años. *Rev. FAVE Sección Cs. Vet*, 4, 29–40.
- Caraguay, E. (2012). Diagnóstico de mastitis subclínica por el método california mastitis test, aislamiento, identificación y sensibilidad del germen en las gana-

- derías de la parroquia chantaco del cantón loja. *Universidad Nacional de Loja, Loja, Ecuador*, 64–65.
- Concha, C. (2009). Mastitis bovina: nuevos aspectos de diagnóstico, tratamiento y control. *Universidad de Chile*, http://www.agronomia.uchile.cl/extension/circular_extensio_panimal/CIRC_ULAR%20DE%20EXTENSION/N_33/capitulo_4.pdf.
- Corbellini, C., Lechero, P., y de la Enfermedad, I.-E. (2002). La mastitis bovina y su impacto sobre la calidad de la leche. *Argentina: Instituto de Tecnología Agropecuaria, Proyecto Lechero, EEA INTA Pergamino. Recuperado el, 15.*
- Díaz, C. A. (2012). *Determinación de residuos de antibióticos y sulfanamidas en seis marcas comerciales de leche de mayor consumo en la ciudad de riobamba* (B.S. thesis).
- Díaz, D., y Larrea, M. D. d. S. A. (2009). Terapéutica antibiótica en infecciones respiratorias en caninos y felinos. *Panorama actual del medicamento*, 33(322), 337.
- Etgen, W., James, R., Reaves, P., y Cassell, B. (1987). *Dairy Cattle Feeding and Management*. Wiley. Descargado de <https://books.google.com.ec/books?id=1-IqAQAAMAAJ>
- Fernández, O. F., Trujillo Graffe, J. E., Peña Cabrera, J. J., Cerquera Gallego, J., y Granja Salcedo, Y. (2012). Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 13(11), 1–20.
- Fox, L. K., y Gay, J. M. (1993). Contagious mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 9(3), 475–487.
- Galindo, S. L. R. (2006). Ozonoterapia, una opción para el sector agropecuario!!! *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 7(10), 1–16.

- Gasque, G., y Blanco, O. (2001). Zootecnia en bovinos productores de leche. *Departamento de producción animal: rumiantes. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México.*
- Gasque, R. (2015). *Mastitis bovina, argentina. bm editores.*
- Gerlach, B., Arturo, F., Ayala Alvarez, F., Ballesteros, D., Francisco, G., Moreno Medina, S., . . . Ernesto, L. (2009). Incidencia y costo de la mastitis en un establo del municipio de santa ana, sonora. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 24(1345-2016-104255), 789.
- Gilson, W. (1995). Analysis of mastitis costs. *Annual report. UGA Animal and Dairy Science*, 182–185.
- Gonzalo, C., Ariznabarreta, A., Carriedo, J., y San Primitivo, F. (2002). Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *Journal of dairy science*, 85(6), 1460–1467.
- Guidry, A. (2007). Mastitis and the immune system of the mammary gland. lactation. *Lauson B L.(ed).*
- Hameed, K. G. A., Sender, G., Korwin-Kossakowska, A., y cols. (2007). Public health hazard due to mastitis in dairy cows. *Animal Science Papers and Reports*, 25(2), 73–85.
- Heringstad, B., Klemetsdal, G., y Ruane, J. (2001). Variance components of clinical mastitis in dairy cattle—effects of trait definition and culling. *Livestock Production Science*, 67(3), 265–272.
- Hernández, J. M., y Bedolla, J. L. C. (2008). Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*, 9(9).
- Hidalgo, F. J. (2009). Oxígeno-ozonoterapia: una realidad médica. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 16(3), 190–191.

- Himelfarb, M. A. (2017). *Departamento de toxicología y farmacología* (Tesis Doctoral no publicada). UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.
- Hogan, J., y Smith, K. (1998). Risk factors associated with environmental mastitis. En *Annual meeting/*.
- Homan, J., y Wattiaux, M. (1999). Mastitis [cd-room]. su: *Guías Técnicas Lecheras: Lactancia y Ordeño*, 61–76.
- Janicki, C., Balukiewicz, A., y cols. (1980). Genetic and environmental effects on the incidence of mastitis in cows. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu*, 120(Zootechnika 28), 59–66.
- Kleinschroth, E., Rabold, K., y Deneke, J. (1991). *La mastitis: diagnóstico, prevención y tratamiento*. (Inf. Téc.).
- Litterio, N. J. (2012). *Estudio farmacocinético-farmacodinámico de la cefquinoma en cabras en función de la edad, la gestación y la lactancia* (Inf. Téc.). Universidad Complutense de Madrid.
- López, J. (2014). Mamitis bovina: patogenia y manifestaciones clínicas. *Ciencia Veterinaria*.
- López, H., y Camberos, L. (2006). *Farmacología veterinaria*. MacGraw-Hill Interamericana. Descargado de <https://books.google.com.ec/books?id=cgmQAAAACAAJ>
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., y Maguire, D. (2013). *Clinical veterinary microbiology e-book*. Elsevier Health Sciences.
- Martínez, G. (2013). La ozonoterapia gana evidencias científicas en el campo clínico. *Revista Cubana de Farmacia*, 47(1), 1–4.
- Martínez, P. (2015). *Evaluación de dos dosis de ozono en el tratamiento de mastitis bovina* (B.S. thesis). Quito: UCE.

- McDonald, J. S. (1979). Bovine mastitis: Introductory remarks1. *Journal of Dairy Science*, 62(1), 117–118.
- McDougall, S., Agnew, K., Cursons, R., Hou, X., y Compton, C. (2007). Parenteral treatment of clinical mastitis with tylosin base or penethamate hydriodide in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 90(2), 779–789.
- Medina, C., y Montalvo, V. (2003). El uso de la prueba de conductividad eléctrica y su relación con la prueba de california mastitis test. En *Cnm., aguascalientes, mexico: V congreso nacional de control de mastitis*.
- Mella, S., Zemelman, C., Bello, H., Dominguez, M., Gonzalez, G., y Zemelman, R. (2001). Propiedades microbiológicas, clasificación y relación estructura-actividad de cefalosporinas e importancia de las cefalosporinas de cuarta generación. *Revista chilena de infectología*, 18(1), 7–19.
- Mellenberger, R., y Roth, C. (2000). Hoja de información de la prueba de mastitis california (cmt). *Depto. de Ciencia Lechera, Universidad de Wisconsin-Mádison. Disponible desde Internet en: http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/hoja-de-informacion-de-la-pruebe-de-mastitis-california_spanish.pdf (con acceso: 20/08/2012)*.
- Menéndez, S., González Álvarez, R., Ledea Lozano, O., Hernández Rosales, F., León Fernández, O., y Díaz Gómez, M. (2008). Ozono aspectos básicos y aplicaciones clínicas. *Centro de Investigaciones del Ozono, La Habana: Ed. CENIC*.
- Middleton, J. R., Saeman, A., Fox, L. K., Lombard, J., Hogan, J. S., y Smith, K. L. (2014). The national mastitis council: a global organization for mastitis control and milk quality, 50 years and beyond. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 19(3-4), 241–251.
- Naghshineh, S., Rafat, S., Shoja, J., Moghaddam, G., y Ebrahimi, M. (2015). Prevalence and risk factors of subclinical mastitis in iranian holstein cows. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 5(3).

- Núñez, A., Briones Valenzuela, L., y Briones Gadea, D. (1998). *Diagnóstico de mastitis subclínica en rebaños lecheros en la cuenca norte del municipio de estelí* (Tesis Doctoral no publicada). Universidad Nacional Agraria, UNA.
- Ogata, A., y Naghata, H. (2000). Intramammary application of ozone therapy to acute clinical mastitis in dairy cows. *Journal of Veterinary Medical Science*, 62(7), 681–686.
- Ortiz, Z., Concha, U., Cayro, C., y cols. (2011). Recuento de células somáticas en leche contaminada con residuos de antibióticos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 22(2), 151–154.
- Peláez, H. O. (2015). Uso de ozonoterapia para el tratamiento de mastitis subclínica en bovinos.
- Peña, R. L. C., Valdés, R. C., y Fonseca, O. F. V. (2017). *Ozonoterapia*. LibrosEnRed.
- Pengov, A. L. U. S. V. F. . (2001). Treatment of clinical and subclinical mastitis cases with COBACTAN. *Veterinarske novice (Slovenia)*. Descargado 2019-08-19, de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=SI2002010250>
- Pérez, C., Bedolla, C., y Castañeda, V. (2005). Importancia del conteo de células somáticas en la cría sustentable de vacas productoras de leche. *Sustentabilidad*, 3(1), 26.
- Pérez, D. M., Quezada, J. T., Rodríguez, A. H., Yañez, M. G. E. G., Romero, A. M., y Luján, C. G. (2012). Sinergismo bactericida entre timol y carvacrol ante cepas bacterianas causantes demastitis en ganado bovino. *Agrofaz: publicación semestral de investigación científica*, 12(1), 111–116.
- Pérez, R. (2012). *Farmacología veterinaria*. Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento . . .

- Philpot, W., y Nickerson, S. (1992). *Mastitis: El contra ataque* (Inf. Téc.).
- Philpot, W., y Nickerson, S. (2000). Importancia económica de la mastitis. *Ganando la lucha contra la mastitis. Westfalia-Surge. Estados Unidos de América*, 1–13.
- Philpot, W., y Nickerson, S. (2002). Origem e significado das células somáticas: vencendo a luta contra a mastite. *Naperville: Milkbuzz*.
- Prescott, H., Baggot J, D., y Walker D, R. (2002). Terapéutica antimicrobiana en medicina veterinaria. 3ª edición. buenos aires (argentina): Inter. *Médica*, 493–503.
- PROGANAVES Cia. Ltda. | Recuperado 2019. (s.f.). Descargado 2019-08-04, de <https://proganaves.com.ec/farm-pro15.html>
- Quizhpilema, D. M., y Orellana, J. L. (2017). *Efecto de los aceites de oliva y soya ozonizados en la cicatrización de heridas postquirúrgicas en perros* (B.S. thesis).
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., y Constable, P. D. (2006). *Veterinary medicine e-book: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Elsevier Health Sciences.
- Ramírez, N., Henao, O. A., Muñoz, M. F. C., Jaramillo, M. G., Cerón, J., y Baena, L. G. P. (2011). Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de antioquia, colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*(22), 31–42.
- Ramírez, T., López, A., Arancibia, P., Sáez, C., Díaz, L., Taub, T., y Moyano, L. (2015). Mastitis granulomatosa idiopática: 10 años de experiencia en el centro de imagenología del hospital clínico de la universidad de chile. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 80(2), 111–118.
- Ricaurte, S. L. (2006). Ozonoterapia, una opción para el sector agropecuario!!! *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 7(10).

- Rodríguez, G. (2006). Comportamiento de la mastitis bovina y su impacto económico en algunos hatos de la sabana de bogotá, colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(12), 35–55.
- Romero, A. (2004). Situación actual de la mastitis en México. *Departamento Producción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Universidad Nacional Autónoma de México. México DF*, 122–134.
- Rosario, K. K., y Pezantes, D. C. (2016). *Prevalencia de mastitis subclínica en la región oriental de la provincia del azuay, mediante la prueba california mastitis test* (B.S. thesis).
- Ruegg, P. L. (2012). Factores que influyen en el tratamiento de las mastitis clínicas. *Producción animal*, 27(275), 36–46.
- Salazar, N. (2017). *Bondades del ozono como terapia complementaria en la medicina veterinaria* (B.S. thesis).
- Sanango, D., y Iván, A. (2014). *Determinación de la eficacia de ozonoterapia en el tratamiento de mastitis clínica en vacas* (B.S. thesis).
- Schrick, F., Hockett, M., Saxton, A., Lewis, M., Dowlen, H., y Oliver, S. (2001). Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *Journal of dairy science*, 84(6), 1407–1412.
- Sears, P. M., González, R. N., Wilson, D. J., y Han, H. R. (1993). Procedures for mastitis diagnosis and control. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 9(3), 445–468.
- Selvi, P. (2015). Estudio farmacocinético y excreción en leche de cefquinome en ovino. *Proyecto de investigación*.
- Suriyasathaporn, W., Chewonarin, T., y Vinitketkumnun, U. (2012). Differences in severity of mastitis and the pathogens causing various oxidative product levels. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 3(04), 454.

- Suárez, I. M. (2013). *Evaluación de dos tratamientos alternativos para la mastitis subclínica en vacas utilizando ozono* (B.S. thesis).
- Tapia, A. S., y Martínez, G. (2012). La ozonoterapia y su fundamentación científica. *Revista Española de Ozonoterapia*, 2(1), 163–198.
- Torrico, C. E. R., GAMARRA, L. A. R., y TELES, O. B. (2018). Eficacia de la ozonoterapia en el control de mastitis bovina.
- Trujillo, C. M., Gallego, A. F., Ramírez, N., y Palacio, L. G. (2011). Prevalence of mastitis in dairy herds in eastern antioquia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24(1), 11–18.
- Valdés, R., Ghannam, R., Galindo, C., Delgado, M., y cols. (2015). Ozonoterapia como alternativa de tratamiento del dolor en los trastornos temporomandibulares. *REDOE*, 13, 2–8.
- Vayas, R., y Carrera, L. (2012). Actualización en el manejo de las mastitis infecciosas durante la lactancia materna. *Revista Clínica de Medicina de Familia*, 5(1), 25–29.
- Velásquez, C., y Vega, J. (2012). Calidad de la leche y mastitis subclínica en establos de la provincia de huaura, lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 23(1), 65–71.
- Véliz, J. A., Pérez Diaz, N., Fernández Montequín, Z., Sanabria Negrín, J., y Machín Arias, A. (2009). Aceite ozonizado: alternativa efectiva para las úlceras varicosas de miembros inferiores en atención primaria. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*, 13(2), 18–24.
- Vidal, L., Urruchi, W., y Zamora, Z. (2009). Utilidad potencial de la ozonoterapia en la medicina veterinaria. *Revista electrónica de Veterinaria*. ISSN, 1695–7504.
- Vissio, C., Agüero, D., Raspanti, C., Odierno, L., y Larriestra, A. (2015). Pérdidas productivas y económicas diarias ocasionadas por la mastitis y erogaciones derivadas de su control en establecimientos lecheros de córdoba, argentina. *Archivos de medicina veterinaria*, 47(1), 7–14.

- Wallace, J., Leslie, K., Dingwell, R., Schukken, Y., y Baillargeon, P. (2002). An evaluation of a diagnostic and treatment protocol for intramammary infections in early postpartum dairy cows. En *Annual meeting-national mastitis council incorporated* (Vol. 41, pp. 159–160).
- Waller, K. P., Aspan, A., Nyman, A., Persson, Y., y Andersson, U. G. (2011). Cns species and antimicrobial resistance in clinical and subclinical bovine mastitis. *Veterinary microbiology*, 152(1-2), 112–116.
- Wolter, W., y Kloppert, B. (2004). Interpretación de los resultados del conteo celular y de la aplicación de la terapia. *Avances en el diagnóstico y control de la mastitis bovina. Guadalajara, Jalisco, México.*
- Yera, G., y Ramírez, W. (2016). La prevalencia de mastitis clínica en vacas mestizas holstein x cebú. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 17(3).
- Yohannis, M., y Molla, W. (2013). Prevalence, risk factors and major bacterial causes of bovine mastitis in and around wolaita sodo, southern ethiopia. *African journal of microbiology research*, 7(48), 5400–5405.
- Zadoks, R. N., Middleton, J. R., McDougall, S., Katholm, J., y Schukken, Y. H. (2011). Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 16(4), 357–372.
- Zamora, R. (2012). Efecto del pre condicionamiento oxidativo con ozono en la prevencion del daño orgánico y muerte en modelos de sepsis peritoneal y choque endotoxico. *La habana, Cuba: Tesis doctoral.*
- Zurich, L., y San Martín, B. (1991). Cefalosporinas bases farmacológicas y proyecciones en terapeutica veterinaria. *Monografías de Medicina Veterinaria*, 13(1).

Anexo I: Fotografías del Trabajo de Campo



Figura 4. Área de estudio.



Figura 5. Identificación y toma de muestras mediante la prueba reactiva CMT.

Anexo II: Fotografías del Análisis de la Composición Química



Figura 6. Conteo del número de células somáticas previa a la aplicación de cada tratamiento mediante las tiras reactivas The Porta SCC Quick Somatic Cell Test.



Figura 7. Preparación de la solución ozonificada en diferentes dosis.



Figura 8. Aplicación del Tratamiento 1 a base de $35 \mu\text{g/ml}$ solución salina ozonificada cada 24h con 3 repeticiones.



Figura 9. Aplicación del Tratamiento a base de $40 \mu\text{g/ml}$ solución salina ozonificada cada 24h con 3 repeticiones.



Figura 10. Finalización de la aplicación del tratamiento a base de antibiótico (Co-bactan 2.5 %).



Figura 11. Preparación y análisis de muestras a través de un lector digital y tiras reactivas para el RCS.



Figura 12. Conteo del NCS tras la finalización de cada tratamiento.