



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

ESCUELA DE INGENIERIA ZOOTECNICA

**“EVALUACIÓN DE DOS TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS PARA LA
MASTITIS SUBCLÍNICA EN VACAS UTILIZANDO OZONO”**

TESIS DE GRADO

Previa la obtención del título de:

INGENIERA ZOOTECNISTA

AUTOR

ISABEL MERCEDES SUAREZ AVILA

Riobamba – Ecuador

2007

Esta tesis fue aprobada por el siguiente tribunal

Ing. MsC. José Herminio Jiménez Achatuña
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. MsC. Byron Leoncio Díaz Monroy
DIRECTOR DE TESIS

Ing. MsC. Benito Guillermo Mendoza Donoso
BIOMETRISTA DE TESIS

Dra. Georgina Hipatia Moreno Andrade
ASESORA DE TESIS

Riobamba, 19 de Octubre del 2007

AGRADECIMIENTO

A DIOS Y LA VIRGEN SANTISIMA

Por mi vida, por mi familia y por brindarme la oportunidad de llegar a culminar esta meta.

A MI MADRE, A MI PADRE Y HERMANAS

Por su amor, confianza, sacrificio, y apoyo incondicional durante cada día de mi vida.

A LA FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS – ESCUELA DE INGENIERÍA ZOOTECNICA

Por brindarme los valiosos conocimientos necesarios para llegar a ser una profesional en el área de la zootecnia.

AL INGENIERO BYRON DÍAZ E INGENIERA FERNANDA BAQUERO

Por su apoyo, amistad, tiempo y orientación esmerada durante el desarrollo de la presente investigación.

AL DOCTOR PEDRO CASTILLO

Por su colaboración desinteresada, conocimientos y amistad, que hicieron posible el desarrollo del presente estudio.

A LA EMPRESA SANITRON

Por su colaboración indispensable para hacer posible esta investigación.

A MI ENAMORADO

Por su amor y apoyo incondicional durante todos estos años, tan importantes para mi.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS

Por su compañía y apoyo en momentos de alegría y tristeza durante mi vida estudiantil, haciendo llevadero este camino hasta el final.

DEDICATORIA

A DIOS Y LA VIRGEN SANTISIMA

Que por su divina voluntad permiten que este sueño se haga realidad.

A MI MADRE

Por ser, el pilar fundamental de mi vida, mi amor, mi inspiración, por enseñarme a enfrentar la vida con valentía y honradez, por confiar siempre que lo lograría, te amo profundamente.

A MI PAIS

Que merece, que todos luchemos constantemente por sacar adelante su nombre y a nuestra gente.

“EVALUACIÓN DE DOS TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS PARA LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN VACAS UTILIZANDO OZONO”¹

Suárez, I.² Díaz, B.³

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

ESCUELA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

Panamericana sur Km. 1 ½

Teléfono: 032965-068

Riobamba - Ecuador

RESUMEN

La investigación se realizó en el laboratorio de biotecnología y microbiología animal y la unidad de bovinos de leche de la estación experimental de Tunshi, de la FCP. Su objetivo fue evaluar dos métodos de ozonoterapia (puro y diluido) en el tratamiento de la mastitis subclínica (MSC), comparado con la penicilina. De acuerdo a la prueba del california mastitis test (CMT) previo a la aplicación de los tratamientos la incidencia de MSC fue 31.38% en el hato, de ellas se utilizaron 20 vacas. Las bacterias patógenas que se presentaron en la leche fueron las gram positivas sobre las negativas de las mismas sobresalieron los géneros *Staphylococos* con el 42% y los cocos con el 33% respectivamente. Con la aplicación de ozono puro, se tuvo mayor eficiencia que los demás tratamientos tanto para bacterias gram negativas como positivas con el 100%. Seguimiento del tratamiento a base de penicilina (sódica) cuya eficiencia fue del 100% para las gram negativas y un 95% para las gram positivas. Mientras que el ozono diluido obtuvo una eficiencia del 100% para las gram negativas y 86.36% para las gram positivas. De igual manera el ozono puro fue el tratamiento más económico. Por lo que se recomienda la aplicación de ozono puro por ser más eficaz, económico y no dejar residuos en la leche.

“EVALUATION OF TWO ALTERNATING TREATMENTS FOR THE SUBCLÍNICAL MASTITIS IN COWS USING OZONE”⁴

¹ Tesis de Grado previo a la obtención del Título de Ingeniera Zootecnista.

² Autora de la Tesis de Grado.

³ Director de la Tesis de Grado.

Suárez, I.⁵ Díaz, B.⁶

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA
Panamericana sur Km. 1 ½
Teléfono: 032965-068
Riobamba - Ecuador

ABSTRACT

The investigation was carried out in the animal biotechnology and microbiology and the dairy cattle unit of the Tunshi Experimental Station of the FCP. Its objective was to evaluate two ozone therapy methods (pure and diluted) in the treatment of the subclinic mastitis (MSC) compared to penicillin. According to the California Mastitis Test (CMT) previous to the application of the treatments, the MSC incidence was 31,38% in the herd; 20 cows were used. The pathogenic bacteria present in the milk were gram positive over the negative. The significant ones were the genera Staphylococcus with 42% and the cocci with 33% respectively. With application of the pure ozone there was more efficiency than in the other treatments for both the gram positive and gram negative bacteria with 100%. It was followed by a penicillin-based treatment (sodic) whose efficiency was 100% for the gram negative and 95% for the gram positive ones. The diluted ozone had an efficiency of 100% for the gram negative and 86,36% for the gram positive ones. The pure ozone was the most economic treatment. This is why the application of the pure ozone is recommended because it is more efficient, economic and does not leave residues in the milk.

⁴ Degree thesis.

⁵ Thesis author.

⁶ Thesis Director.

CONTENIDO

	Pág
Resumen	v
Abstract	vi
Lista de Cuadros	vii
Lista de Gráficos	ix
Lista de Anexos	x
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	3
A. GENERALIDADES DE LA MASTITIS	3
1. <u>Definición de mastitis</u>	3
2. <u>Tipos de mastitis</u>	3
3. <u>Agentes causales de la mastitis</u>	4
a. Streptococcus agalactiae	4
b. Staphylococcus aureus	5
c. Streptococcus uberis y Streptococcus dysgalactiae	5
d. Bacterias coliformes	5
e. Agentes causales poco comunes de la mastitis clínica	6
4. <u>Anatomía de la glándula mamaria, fisiología de la lactación y el reflejo de eyección de la leche</u>	7
5. <u>Mecanismo de defensa, protección de la ubre bovina y patogénesis de la mastitis</u>	9
a. Barreras del pezón	9
b. Células de defensa y mediadores de la inflamación	10
c. Factores de defensa celulares y humorales de la leche	10
6. <u>Desarrollo de la enfermedad</u>	11
a. Invasión del pezón	11
b. Destrucción del tejido alveolar	12
7. <u>Prevención de la mastitis</u>	13
a. Adecuada higiene del ordeño	13
b. La máquina de ordeño debe funcionar y ser operada adecuadamente	13

c.	Sellado de pezones luego del ordeño	13
d.	Tratamiento al secado de todos los cuartos	13
e.	Tratamiento adecuado y a tiempo de todos los casos clínicos	14
f.	Descarte de vacas infectadas en forma crónica	14
g.	Una buena nutrición mantiene la capacidad de la vaca para defenderse de las infecciones	14
h.	Otras prácticas útiles de manejo	14
B.	DIAGNOSTICO DE LA MASTITIS	14
1.	<u>California Mastitis Test (CMT)</u>	14
a.	Resultados e interpretación de la prueba CMT	15
b.	Ventajas e inconvenientes del California Mastitis Test	15
c.	Precisión del CMT	16
2.	<u>Estrategias de muestreo microbiológico</u>	16
C.	TRATAMIENTO DE LA MASTITIS	17
1.	<u>Control de la mastitis</u>	17
a.	Las penicillinas	18
b.	La ozonoterapia	19
c.	La manzanilla	25
III.	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	28
A.	LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	28
B.	UNIDADES EXPERIMENTALES	29
C.	INSTALACIONES, EQUIPOS Y MATERIALES	29
1.	<u>Equipo de campo</u>	29
2.	<u>Instalaciones</u>	29
3.	<u>Materiales y equipos de laboratorio</u>	29
4.	<u>Reactivos</u>	30
5.	<u>Equipos de oficina</u>	31
D.	TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	31
E.	MEDICIONES EXPERIMENTALES	31
F.	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA	32
G.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	32
1.	<u>Selección de animales</u>	32
a.	Técnica de campo mediante el California Mastitis Test	33
2.	<u>Toma de muestras</u>	33

3. <u>Determinación de bacterias causantes de mastitis subclínica</u>	34
a. Preparación del agar sangre	34
b. Inoculación de muestras	34
c. Fijación de bacterias	34
d. Tinción gram	35
IV. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	37
A. INCIDENCIA DE MASTITIS SUBCLINICA EN EL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL DE TUNSHI FCP- ESPOCH ANTES DEL TRATAMIENTO	37
B. DISTRIBUCION DEL TOTAL DE VACAS PRODUCTIVAS DEL HATO DE TUNSHI FCP – ESPOCH E INCIDENCIA DE MASTITIS SUBCLINICAS EN LAS MISMAS, POR CUARTOS INFECTADOS DE ACUERDO AL MES QUE SE ENCONTRABAN DE LACTANCIA ANTES DE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS	41
C. AGENTES PATOGENOS CAUSANTES DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN EL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL DE TUNSHI DE LA FCP-ESPOCH	48
D. EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS APLICADOS EN EL TRATAMIENTO DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA DE LAS VACAS SELECCIONADAS DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI DE LA FCP – ESPOCH	51
E. EVALUACION DE LOS TRATAMIENTOS EN BASE A LOS RESULTADOS ESTADISTICOS OBTENIDOS POR LA PRUEBA DE TUKEY	56
F. EVALUACION ECONOMICA DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS APLICADOS A LAS VACAS SELECCIONADAS DEL LECHE DEL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI FCP– ESPOCH	59
V. <u>CONCLUSIONES</u>	61
VI. <u>RECOMENDACIONES</u>	62
VII. <u>LITERATURA CITADA</u>	63

I. INTRODUCCIÓN

La [mastitis](#) bovina es una enfermedad infecciosa multifactorial en la que actúan factores externos e internos, propios de la vaca. La [mastitis](#) es un triángulo de factores entre la vaca, ambiente y germen, lo cual conlleva a la manifestación de la enfermedad.

Las pérdidas causadas por mastitis son múltiples así, en los casos de ma subclínica:

- Una considerable reducción en la producción diaria de leche.
- Cambios importantes en la composición de la leche:
 - Disminución de la lactosa, la grasa, la caseína.
 - Aumento de las proteínas del suero.
 - Aumento de los cloruros (Pasan de la sangre).
 - Aumento del sodio
 - Aumento del pH (Paso de las sustancias alcalinas de la sangre).
- Se perjudica el valor higiénico de la leche y de sus subproductos.
- Altos costos financieros (medicación) para el ganadero.
- Algunos agentes causales de Mastitis son patógenos en humanos.
- Puede haber residuos de antibióticos o químicos en la leche por el tratamiento de la ubre.
- El consumidor exige que la leche provenga de animales sanos.

- Para la industria de lácteos son muy significativas las transformaciones causadas a la leche por la mastitis. El tiempo de cuajado aumenta en el caso de producción de queso y la cantidad de queso disminuye considerablemente.

La ozonoterapia es un nuevo método innovador, una alternativa de tratamiento, ecológico, efectivo, rápido y económico, esto lo demuestran un sin número de nuevos estudios por todo el mundo utilizando el ozono como agente terapéutico, en algunas patologías de mama, como procesos inflamatorios y abscesos. Se utilizó el ozono como agente terapéutico, en dosis mínimas por día, con resultados satisfactorios en el 90,9 %, al alcanzar la curación. Así los resultados alcanzados avalan el método y al ozono como agente terapéutico eficaz en el tratamiento de algunas patologías mamarias. La ozonoterapia, presenta las siguientes propiedades:

- Aumento de la oxigenación sanguínea.
- Acción bactericida, fungicida y viricida.
- Disminución de la agregación plaquetaria.
- Antiálgico.
- Antinflamatorio.
- Estimulante del sistema retículo-endotelial, etc.

Por todo lo anotado anteriormente los objetivos planteados fueron; evaluar la funcionalidad de dos métodos de ozonoterapia (puro y diluido) en el control de la mastitis subclínica en vacas. Comparar la eficacia de estos dos métodos de ozonoterapia con el método tradicional farmacológico, en el tratamiento de la mastitis subclínica en vacas. Y analizar económicamente costos y beneficios de esta nueva tecnología.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

A. GENERALIDADES DE LA MASTITIS

1. Definición de Mastitis

Según www.solomamitis.com. (2002), la mastitis es una inflamación de la glándula mamaria consecuencia de la invasión por un germen patógeno a través del esfínter del pezón. Estos microorganismos siempre proceden del exterior de la ubre, pero su origen puede encontrarse en otro animal infectado o en el medio ambiente.

2. Tipos de Mastitis

Según <http://www.solomamitis.com>. (2002), se debe considerar en primer lugar una diferencia entre:

a. Mastitis clínica

Es aquella con alteración de la leche y/o alteración del cuarterón. Es posible diagnosticar las mastitis clínicas por la sintomatología que producen: anomalías en la secreción láctea, inflamación de la glándula mamaria, disminución de la producción, etc.

Cuando se observan estas alteraciones, pueden tomarse muestras de leche antes de proceder con el tratamiento, cuyo análisis microbiológico permitirá determinar el agente etiológico de la enfermedad.

b. Mastitis subclínica

<http://www.babcock.cals.wisc.ed>, (1998), nos dice aquella sin síntomas aparentes. El diagnóstico de las mastitis subclínicas entraña mayores dificultades, ya que al no ser procesos aparentes es necesario disponer de sistemas de identificación lo más precisos posibles, en los casos de:

c. Mastitis clínica

<http://www.babcock.cals.wisc.ed>, (1998), manifiesta que el cuarto infectado en general se inflama, en algunas vacas se encuentra dolorido al tocarlo, la leche se encuentra visiblemente alterada por la presencia de coágulos, descamaciones, o suero descolorido y algunas veces sangre. En casos más severos (mastitis aguda), la vaca muestra signos generalizados: fiebre, pulso acelerado, pérdida de apetito, reducción aguda de la producción de leche. Las pérdidas de leche y de ganancias debido a las mastitis clínicas son obvias, la producción de leche cae en forma abrupta y la leche de las vacas tratadas con antibióticos debe ser descartada durante tres o cuatro días.

<http://www.babcock.cals.wisc.ed>, (1998), nos dice que en contraste, la **mastitis subclínica** es sutil y más difícil de corregir. La vaca parece saludable, la ubre no muestra ningún signo de inflamación y la leche parece normal. A pesar de ello, los microorganismos y células blancas de la leche (células somáticas) que combaten las infecciones se encuentran elevados en gran número en la leche. Mucho más leche se pierde con la mastitis subclínicas debido a que la gran mayoría de los casos son subclínicos (en promedio, por cada caso clínico, existen de 20 a 40 subclínicos). Además por que la reducción en la producción de leche debido a mastitis subclínica tiende a persistir por un largo período de tiempo y afecta la producción de las vacas infectadas.

3. Agentes Causales de la Mastitis.

<http://www.babcock.cals.wisc.ed>, (1998), los organismos bacterianos que causan la mastitis viven en diferentes ambientes (materia fecal, cama, piel, etc.).

Así también nos explica sobre las fuentes y formas de diseminación de las bacterias más comunes productoras de mastitis:

a. *Streptococcus agalactiae*

Es la causa más común de infecciones subclínicas, mayor al 40% pero muy rara vez produce una severa enfermedad mastitis aguda. Este organismo vive en la ubre infectada de la vaca y sobrevive solamente un corto período de tiempo por fuera de la glándula mamaria. Se disemina principalmente durante el ordeño de cuarto a cuarto por medio de la máquina de ordeño, las manos contaminadas del operador, materiales (tela) utilizados para lavar la ubre, etc.

b. *Staphylococcus aureus*

Es la segunda causa de infecciones subclínicas en un 30 a 40%. Vive dentro o fuera de la ubre infectada, en la piel del pezón y puede causar tanto mastitis clínica como subclínica. Generalmente se disemina de la misma forma que el *Streptococcus agalactiae*. La infección tiende a producir cicatrices, que resultan en sacos de infección encerradas en la ubre que son difíciles de alcanzar por los antibióticos. Tales sacos pueden romperse y abrirse a otras partes de la glándula más tarde. (<http://www.babcock.cals.wisc.ed> 1998).

c. *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae*

Son causantes de la mastitis subclínica en un 5 a 10%. Estos organismos se encuentran en la cama (especialmente camas orgánicas: paja, aserrín, etc.), aguas estancadas y tierra. Pueden encontrarse también en la piel de la vaca (pezón y abdomen) y en los órganos reproductores. Estos son generalmente transferidos desde el medio ambiente al pezón entre los ordeños, pero algunas

transferencias pueden tener lugar durante el ordeño. Estos organismos no pueden ser eliminados del hato debido a que son parte normal del medio ambiente. El grado de infección de estas bacterias tiende a incrementarse cuando las condiciones favorecen su crecimiento, por ejemplo, durante los meses húmedos del año. El *Strep. uberis* y *Strep. dysgalactiae* son responsables también por la mayoría de las mastitis que se presentan ya sea al comienzo o al final del período de seca. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu> 1998),

d. Bacterias coliformes

Estas son causantes de mastitis subclínica en menos del 1%. Las bacterias coliformes (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*) son habitantes normales del suelo e intestino de las vacas. Se acumulan y multiplican en la materia fecal y en la cama. Estos pueden causar mastitis solamente si las partículas contaminadas del medio ambiente entran en contacto con la ubre. A diferencia de las bacterias descritas antes, los coliformes no se adhieren a los conductos y al alvéolo de la ubre, en lugar se multiplican rápidamente en la leche y producen toxinas que son absorbidas dentro del torrente circulatorio. Los mecanismos de defensa de la vaca pueden eliminar las bacterias de la ubre, pero las toxinas permanecen y la vaca puede llegar a morir. Las vacas libres de otras bacterias causantes de mastitis (*Strep. agalactiae* y *Strep. aureus*) parecen ser más susceptibles a las bacterias coliformes. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu> 1998),

e. Agentes causales poco comunes de mastitis clínicas: Micoplasmas, Levaduras, Prototecas, Nocardias.

Los *Micoplasmas* principalmente *Mp. Bovis* y *Mp. Bovigenitalum* son patógenos altamente contagiosos de mastitis aguda con una terapia sumamente difícil. Mastitis por Levaduras, principalmente *Cryptococcus neoformans* y *Candida Albicans*, esta se desarrolla principalmente en el 80% de los casos relacionados con una terapia inmoderada de antibióticos o como consecuencia de heridas en los pezones. No existe una terapia efectiva. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu> 1998),

Prototecas, principalmente *Prototheca zopfii*, son algas sin color, las cuales se encuentran cercanas a las vacas, no tienen propiedades patógenas. En inflamaciones de la ubre pueden ser introducidas después de un tratamiento local con antibióticos, especialmente cuando la punta del pezón no fue correctamente desinfectada, mediante contaminación del medicamento o si estos están almacenados por largo tiempo. La curación es en general muy mala. Se recomienda que los animales infectados sean sacrificados. Nocardias (*N. asteroides*) son bacterias ampliamente difundidas, que han sido aisladas en la tierra, en aguas superficiales, en el lodo, la suciedad y en el alimento de animales. La infección de la ubre por nocardia es muy rara. No hay una terapia para las mastitis por nocardias. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu> 1998), Según Núñez, O. (1996), las bacterias responsables de la mastitis en el hato de la Hacienda Experimental de Tunshi y que se hallaron en un número mayor de muestras antes de aplicarse los tratamientos corresponden a los *Staphylococcus hyicus*, seguidos por *Staphylococcus aureus*, y a los *Staphylococcus epidermis*, que son los responsables directos de la infección de la ubre, mientras que las bacterias menos frecuentes fueron los *Streptococcus disgalactiae* y los *Corynebacterium ulcerans*.

Méndez, J. (1996), señala que las bacterias patógenas encontradas en la leche procedente de la hacienda Tunshi, registraron mayor cantidad de Bacterias Gram Positivas que Gram Negativas, prevaleciendo entre estas los géneros *Staphylococcus Sp* y los *Bacilos*. Mientras que en menor cantidad se encontró los géneros *Cocobacilos Sp* y *Streptococcus Sp*

Según el Vademécum Veterinario (2004), las vías de infección de algunas bacterias, especialmente, del género *Streptococcus* residen en la base del pezón sin causar molestias, pero pueden desarrollar infección cuando encuentran las condiciones propicias para su multiplicación y difusión, esto acontece cuando existen golpes, hemorragias, laceraciones del tejido mamario o cuando hay una incompleta evacuación de la leche.

Otros gérmenes tienen como la vía más frecuente para el ingreso de los gérmenes el conducto del pezón y esto es favorecido cuando el orificio de la punta del mismo está lesionado por distintas causas, anulando de esta forma la primera defensa contra las infecciones.

4. Anatomía de la glándula mamaria, fisiología de la lactación y el reflejo de eyección de la leche.

Según www.hcastane_cucba.udg.mx, (2005) nos dice que la ubre es un gran cuerpo glandular, el cual sirve para la nutrición del becerro y consta de cuatro cuartos. Cada cuarto representa una unidad. Ello da como resultado que la enfermedad mastitis puede estar confinada a un cuarto, cada cuarto de la ubre consta del cuerpo glandular y el pezón. La ubre está formada por un sistema de conductos, compuestos por la cisterna del pezón, la cisterna de la glándula, los canales lácteos y los alvéolos. Funcionalmente se diferencia la parte alveolar (porción glandular) del conjunto del alveolo y de la porción cisternal de la cisterna general, así como de los conductos lácteos. En los alvéolos, con un espesor de 0.1 mm en promedio es donde se produce la leche.

La pared de un alveolo consta de la membrana basal, en donde se unen en el alveolo, en forma de canasta, las células mioepiteliales con las células epiteliales alveolares (células glandulares lácteas). Antes del ordeño se encuentra una gran parte de la leche (60%) en la porción alveolar de la ubre. Esa leche puede únicamente ser liberada con ayuda de la hormona oxitocina que es producida en el lóbulo posterior de la hipófisis. El pezón ayuda en la eyección de la leche. El pezón debe tener de 6 a 8 cm. de largo y un diámetro de 2.5 a 3 cm. La musculatura del pezón representa un sistema que enlaza las fibras musculares que corren en diversas direcciones.

Según www.hcastane_cucba.udg.mx, (2005), manifiesta que en la punta del pezón las fibras musculares se ordenan en forma circular para formar un músculo obturador. El canal del pezón (conducto galactoforo) representa la unión de la cisterna del pezón con el ambiente externo. Este mide de 6 a 10 mm. de largo. La luz del canal del pezón es de aproximadamente 0.4 a 0.8 mm. Con el

envejecimiento de la vaca aumenta la amplitud del conducto galactoforo. Este conducto se encuentra recubierto con epitelio poli estratificado liso.

Según www.hcastane_cucba.udg.mx, (2005), indica que la lactación se mantiene a través de la regulación hormonal. La hormona somatotropa (STH) es la hormona galactopoyetica más importante en la vaca. Mediante la inyección de esta hormona puede ser aumentado claramente el rendimiento lácteo de la vaca. Otras hormonas que también son importantes para la secreción de la leche son las hormonas esteroides, estrógenos, progesterona, prolactina, glucoesteroides y la oxitocina. Con él termino eyección de la leche se entiende la salida activa, es decir, la conducción de la leche alveolar de la porción alveolar a la porción cisternal de la ubre. Esta se inicia mediante la contracción del mioepitelio que rodea al alveolo.

Según www.hcastane_cucba.udg.mx, (2005), manifiesta que la eyección de la leche es un proceso de expulsión, que se puede también denominar “disparo” de la leche. Mediante la eyección de la leche puede ser extraída la leche del alveolo. La eyección de la leche es el resultado de un reflejo involuntario neurohormonal, el cual es conocido como el reflejo de eyección de la leche y que abarca los siguientes procesos:

- a. Estimulación de los receptores en la pared del pezón mediante; succión, masaje o estímulo y la transformación del estímulo en un impulso excitatorio.
- b. Transmisión de la excitación a las vías aferentes nerviosas y al hipotálamo.
- c. Liberación de la hormona oxitocina de la hipófisis posterior y de ahí se libera en la sangre.
- d. Transporte de la oxitocina de la sangre al mioepitelio de los alvéolos.
- e. Contracción de las células mioepiteliales por efecto de la oxitocina.
- f. La leche alveolar con esto es presionada de la parte alveolar a la porción cisternal y de aquí al exterior.

5. Mecanismos de defensa, protección de la ubre bovina y patogénesis de la Mastitis.

Según www.hcastane_cucba.udg.mx, (2005), indica que el sistema de defensa de la ubre se realiza a través de la sangre y los vasos linfáticos del cuerpo:

a. Barreras del pezón

El esfínter del canal del pezón impide la entrada de bacterias. El crecimiento del epitelio se dirige hacia el exterior en la desembocadura del canal del pezón, lo cual también sirve para evitar la entrada de bacterias. Mediante el flujo hacia fuera de la leche (por la ordeña o cuando el becerro mama) son expulsados los agentes patógenos del canal del pezón. La roseta de Füstenberg forma una corona en el paso del canal del pezón a la cisterna de este. Los pliegues de la roseta de Füstenberg no solo tienen una función mecánica como mecanismo de cierre sino también sirve como mecanismo de defensa en ese lugar. 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 será lavado casi completamente durante la ordeña y después de 2- 3 horas del ordeño se restablece la función de defensa del canal del pezón.

b. Células de defensa y mediadores de la inflamación

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 neutrofilos 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 vera aumentado él numero de granulocitos de los vasos sanguíneos. Entonces se vera aumentado el numero de células somáticas en la leche. Diferentes mediadores químicos desencadenan esas reacciones inflamatorias como consecuencia de la acción de agentes patógenos o algún otro estímulo. (www.hcastane_cucba.udg.mx, 2005)

c. Factores de defensa celulares y humorales de la leche

La leche tiene un efecto antibacteriano, debido al cual inhibe el crecimiento de bacterias y también mata o hace inofensivas a las bacterias. El efecto antibacterial

es debido a factores de defensa celulares y humorales. En esto intervienen los leucocitos polimorfonucleares, los linfocitos y los macrófagos (principal tipo celular en la leche). Los factores humorales son las inmunoglobulinas, factores del complemento, el sistema lactoperoxidasatiocianato- peroxido-hidrogeno, la lactoferrina y la lizosima. El paso rápido de los leucocitos sanguíneos a la luz alveolar es de los mecanismos naturales más importantes de defensa contra la mastitis. En el caso de una glándula mamaria sana se puede observar un contenido menor de 100,000 leucocitos/ml en la leche. (www.hcastane_cucba.udg.mx, 2005).

El contenido de leucocitos aumenta como una respuesta a los microorganismos invasores. En el caso de la mastitis aguda los conteos pueden llegar hasta millones de células somáticas/ml. El número más importante de los leucocitos durante el curso de una mastitis son los granulocitos polimorfonucleares (PMN). Los PMN reconocen a las bacterias marcadas con anticuerpos y las fagocitan. Pueden pasar unas 12 a 24 horas después de la infección para que el contenido de PMN aumente claramente. (www.hcastane_cucba.udg.mx, 2005).

6. Desarrollo de la Enfermedad

<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> (1998), manifiesta que las infecciones comienzan cuando los microorganismos penetran el canal del pezón y se multiplican en la glándula mamaria.

a. Invasión del pezón

<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> (1998), manifiesta que el pezón en sí es la primera línea de defensa contra la penetración de bacteria dentro de la ubre. Normalmente, el esfínter cierra el canal del pezón fuertemente cuando la vaca no es ordeñada. La invasión del pezón se presenta generalmente durante el ordeño. Los organismos presentes en la leche o en la punta del pezón son impulsados dentro del canal del pezón y de la cisterna cuando existe la entrada indeseable de aire en la unidad de ordeño. Luego del ordeño, el canal del pezón permanece

dilatado por una o dos horas e inclusive, el canal del pezón dañado puede permanecer parcialmente o permanentemente abierto.

<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> (1998), manifiesta que los organismos del ambiente (materia fecal, cama, etc.) o aquellos que se encuentran en lesiones de la piel en la punta del pezón, pueden invadir fácilmente y abrir total o parcialmente el canal. Establecimiento de la infección e inflamación del área dañada. Algunas bacterias pueden avanzar dentro de la ubre atacando y colonizando nuevos tejidos; otras pueden moverse por medio de la corriente de leche producida por el movimiento de la vaca. Las bacterias dañan primero los tejidos que recubren los grandes tubos colectores de leche. Las bacterias pueden enfrentarse con leucocitos (células blancas de la leche) presentes naturalmente en bajas cantidades en la leche. Estas células son la segunda barrera de defensa debido a que pueden englobar y destruir a las bacterias. Aún así, durante este proceso, los leucocitos liberan sustancias que atraen a más leucocitos desde el torrente circulatorio hacia la leche.

<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> (1998), manifiesta que si las bacterias no son totalmente destruidas, 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. Fluidos, minerales y factores de coagulación también se mueven dentro del área infectada. La leche coagulada también puede cerrar conductos y, en efecto, aislar las regiones infectadas.

b. Destrucción del tejido alveolar

<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> (1998), manifiesta que algunas veces los microorganismos son eliminados rápidamente y la infección se aclara. En este caso, los conductos tapados se abren y la composición y producción de leche retorna a la normal en varios días. Aún así, a medida que la infección persiste y

los conductos se mantienen tapados, la leche encerrada hace que las células secretoras pasen a una etapa de descanso (sin producir) y el alvéolo comienza a reducir su tamaño.

Las sustancias liberadas por los leucocitos conducen a una destrucción completa de las estructuras alveolares, que son reemplazadas por tejido conectivo y cicatriza. La destrucción del tejido secretor de leche es, en efecto, la tercera línea de defensa de la vaca para mantener a la infección bajo control. Por lo tanto a medida que la enfermedad progresa el número de células somáticas en la leche se eleva y se asocia con una reducción (permanente) en la producción de leche. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> 1998).

7. Prevención de la mastitis

<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> (1998), indica que la prevención de la mastitis puede conseguirse siguiendo pasos muy simples:

a. Adecuada higiene de ordeño

Los pezones deben de ser limpiados y secados antes del ordeño.

b. La máquina de ordeño debe funcionar y ser operada adecuadamente

Los niveles de vacío en la unidad de ordeño deben estar entre 275 y 300 mm. de mercurio y deben fluctuar lo menos posible. Las fluctuaciones pueden reducirse considerablemente evitando las entradas de aire o deslizamientos de la unidad durante el ordeño y apagando el vacío de la unidad antes de que las pezoneras sean removidas. El regulador de vacío debe ser mantenido limpio y su exactitud debe monitorearse en forma regular. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> 1998).

c. Sellado de pezones luego del ordeño

El sellado de pezones post-ordeño es más efectivo contra *Stap. aureus* y *Strep. agalactiae*, las dos bacterias productoras de mastitis más contagiosas. El sellado de pezones no afecta las infecciones existentes. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> 1998).

d. Tratamiento al secado de todos los cuartos

El uso efectivo de un antibiótico a largo plazo colocado en cada cuarto de la ubre en el último ordeño de la lactancia, reduce la incidencia de nuevas infecciones durante el período de seca. Además, la terapia de secado de las vacas es la mejor forma de curar las mastitis crónicas y subclínicas que durante la lactancia son tratadas muy rara vez. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> 1998)

e. Tratamiento adecuado y a tiempo de todos los casos clínicos

Una terapia adecuada debe ser decidida por el veterinario, la vaca debe ser manejada de acuerdo para evitar la diseminación de la enfermedad. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> 1998)

f. Descarte de vacas infectadas en forma crónica

Generalmente este método es efectivo debido a que en la mayoría de los hatos, solamente 6 a 8% de todas las vacas son las responsables de 40 a 50% de todos los casos de mastitis. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> 1998).

g. Una buena nutrición mantiene la capacidad de la vaca para defenderse de las infecciones

Las deficiencias de selenio y vitamina E en la dieta han sido asociadas con un incremento del grado de nuevas infecciones. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> 1998).

h. Otras prácticas útiles de manejo

Alimente a las vacas inmediatamente después del ordeño de manera de que puedan permanecer de pie por lo menos una hora antes de echarse y ordeñe al último a las vacas infectadas. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu/> 1998).

B. DIAGNOSTICO DE LA MASTITIS

Según el Vademécum Veterinario (2004), la mastitis subclínica que no presenta síntomas clínicos, solo se le puede reconocer demostrando el incremento de células somáticas en la leche esto se puede hacer en forma directa en tinciones de extensiones de leche o en forma directa mediante pruebas como el California Mastitis Test (CMT).

1. California Mastitis Test (CMT).

Según <http://www.solomamitis.com>. (2004), manifiesta que consiste en una reacción química en la que la leche se mezcla con un reactivo (CMT). Cuando éste entra en contacto con las células somáticas se produce la formación de gelatina en cantidad directamente proporcional al grado de inflamación del cuarterón.

a. Resultados e interpretación de la Prueba CMT

Según Vademécum Veterinario (2004), los resultados obtenidos pueden extrapolarse a recuentos celulares del modo que se indica en el Cuadro N 1. En los primeros chorros de leche procedentes de una sola vaca, una reacción (+) se debe clasificar como sospechosa, mientras que (++) o más indican mastitis subclínica. Una reacción (+) con leche a granel procedente de un rebaño, sugiere por lo menos el 20% de las vacas lactantes tiene mastitis subclínica.

Cuadro 1. RESULTADOS OBTENIDOS SEGÚN LA PRUEBA DE CMT.

INDICADOR	DESCRIPCION
Trasas	Forma un ligero precipitado que se disuelve mezclándolo
+	Forma un gel mucoso
++	El gel es denso y floculento
+++	El gel se vuelve viscoso y pegajoso

Fuente: Vademécum Veterinario 2004

Observaciones recientes sugieren que los resultados más seguros se obtienen cuando la prueba se lleva a cabo con leche extraída 3 - 5 horas después del ordeño normal. Cuadro N 2

Cuadro 2. REACCIONES QUE SE OBSERVAN CON RELACIÓN AL NÚMERO DE CÉLULAS SOMÁTICAS

INDICADOR	DESCRIPCION
+	400.000 – 1'500.000 células/ml
++	1'500.000 – 5'000.000 células/ml
+++	> 5'000.000 células/ml

Fuente: Vademécum Veterinario 2004

b. Ventajas e inconvenientes del California Mastitis Test

Según <http://www.solomamitis.com>. (2002), se tiene las siguientes ventajas e inconvenientes de este método siendo las siguientes:

(1) Ventajas

- Barato y fácil de realizar.
- Correlación aceptable entre reacción positiva y alto recuento celular.
- La reacción no se ve interferida por heces, pelo, temperatura, etc.
- Valora recuentos celulares por cuarterones independientes.

(2) Inconvenientes

- Poca sensibilidad en los recuentos celulares.
- Falsos positivos en vacas recién paridas o con muchos días de lactación (por descamación de la ubre).

c. Precisión del CMT

Según <http://www.solomamitis.com>.(2002), indica que en un recuento celular se considera que un animal está infectado cuando la media de los cuatro cuarterones es superior a 180.000 células/ml. El objetivo del Test California no es tanto ofrecer

un valor celular, sino detectar animales o cuarterones con posibilidad de padecer infecciones.

2. Estrategias de muestreo microbiológico

Según <http://www.solomamitis.com>.(2002), manifiesta que para realizar una adecuada toma de muestras de la leche se debe tener en ciertas normas para una mayor veracidad de los resultados al momento de sus análisis. Esto va a determinar el agente (o agentes) infectantes y la intensidad de la infección. Es vital que los potenciales patógenos que aparezcan en las muestras tomadas para análisis microbiológico procedan del interior de la glándula mamaria, y no de partículas de polvo o fecales de la superficie de la piel del pezón. Es esencial obtener las muestras antes de iniciar cualquier tratamiento con agentes antimicrobianos, tanto intramamarios como sistémicos. Los pasos para realizar una correcta recolección de leche son los siguientes:

- Bañar los pezones con un producto desinfectante. Dejar actuar durante 30 segundos y secar completamente con papel de un solo uso o un trapo de tela limpio.
- Limpiar exhaustivamente la punta del pezón con alcohol etílico al 70% y una gasa estéril, prestando particular atención al orificio del pezón.
- Desechar los primeros chorros de leche para tratar de eliminar los restos de alcohol.
- Tomar la muestra antes del ordeño y lo más rápidamente posible.
- Sostener el tubo estéril de recogida casi en horizontal y mantener el tapón en el dedo meñique para evitar que se contamine.
- Identificar la muestra con el número de la vaca y el cuarterón.

Nunca se deben tomar muestras de leche de pezones que presenten eversión de esfínteres o graves lesiones. Se recomienda descartar el primer chorro de leche de cada cuarterón, ya que presenta mayor población bacteriana y un recuento celular superior al que existe realmente en el interior de la glándula mamaria. El volumen ideal de muestra es de unos pocos centímetros cúbicos para tomas de un sólo cuarterón, y de 10 cc. para muestreos compuestos (de los cuatro cuarterones). La muestra de leche debe mantenerse refrigerada desde la recogida hasta el momento del análisis bacteriológico. (<http://www.solomamitis.com>. 2002)

C. TRATAMIENTO DE LA MASTITIS

1. Control de la mastitis

Según <http://www.solomamitis.com>.(2002), el control de las mastitis subclínicas es más importante que el simple tratamiento de los casos clínicos ya que:

- Existe un problema de residuos de antibióticos a tener en cuenta en las mastitis en lactación, o de consumo humano.
- El costo de la terapia antibiótica es elevado lo que implica una cuestión de eficacia del tratamiento utilizado.
- Los patógenos ambientales aumentado su presencia. La terapia antibiótica no se muestra excesivamente eficaz pero los resultados se ven mejorados con la utilización de tratamientos no antibióticos principalmente de antiinflamatorios.

<http://www.solomamitis.com>.(2002), indica que todo esto nos lleva asegurar que los tratamientos con antibióticos no son una solución viable al cien por ciento, por esto existen otros tratamientos de mastitis.

Por lo tanto, la hora de establecer una pauta tratamiento debemos tomar en cuenta tres factores:

- Eficacia
- Economía
- Residuos en la leche

a. Las Penicilinas

Según Merck (2000), las penicilinas son una familia de antibióticos β -lactámicos de usos extendido y habitual que comprenden muchas características, como su estructura química, mecanismo de acción, propiedades farmacológicas, efectos clínicos y características inmunológicas.

(1) Propiedades Generales

Las penicilinas son ácidos orgánicos débiles poco solubles que se administra por vía parenteral, tanto en solución acuosa u oleosa, como en forma de sales hidrosolubles. (Merck 2000).

(2) Indicaciones terapéuticas y dosis

Las penicilinas se usan comúnmente para el tratamiento o prevención de infecciones locales y sistémicas causadas por bacterias sensibles. Varios síndromes infecciosos agudos responden de forma específica. Las penicilinas también se emplean por vía tópica en el ojo y oído, así como en la piel, y la administración intramamarias para el tratamiento o prevención de la mastitis bovina esta muy extendida. (Merck 2000).

(3) Periodos de supresión del fármaco y de descarte de leche

Las regulaciones de cada país determinaran los periodos de supresión del fármaco antes del sacrificio y los periodos de descarte de la leche en los animales destinados al consumo, así en el caso de las penicilinas en ganado bovino puede variar desde 2, 3 o más días. Estas instrucciones deben seguirse al pie de la letra para evitar la aparición de residuos en los alimentos y las consiguientes implicaciones para la salud pública. (Merck 2000).

b. La Ozonoterapia

(1) Definición de Ozono

Según <http://www.teknon.es/consultorio/riambau/ozono>, (2005) el ozono es una forma alotrópica del oxígeno (con propiedades físicas particulares) que participa en el equilibrio ecológico de la tierra, ya que absorbe la mayor parte de las radiaciones ultravioletas provenientes del sol, impidiéndoles alcanzar directamente la superficie terrestre. Se puede decir que el ozono es el oxígeno transformado por un aporte de energía. Las moléculas de ozono están compuestas de tres átomos de oxígeno, como si fuera un super-oxígeno de fórmula química O_3 , ya que la molécula de oxígeno sólo contiene dos (O_2).

<http://www.engormix.com> (2007), nos presenta a continuación una investigación completa sobre el ozono, 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 como bacterias y virus. El ozono es oxígeno enriquecido, constando de tres átomos de oxígeno, es inestable y se descompone con cierta facilidad en oxígeno normal y oxígeno nascente, que es un fuerte oxidante. Debido a esta característica, actúa con gran eficiencia como desinfectante y se constituye como el más serio competidor del cloro. El ozono es un gas ligeramente azul, de olor característico, que se puede percibir después de tormentas eléctricas

<http://www.engormix.com> (2007), manifiesta que es poco soluble en el agua y muy volátil. Se mantiene en el agua solo algunos minutos; en su aplicación, se pierde aproximadamente el 10% por volatilización. Las dosis necesarias para desinfectar el agua varían según la calidad de la misma.

<http://www.engormix.com> (2007), manifiesta que se considera que el ozono es el desinfectante de mayor eficiencia microbocida y requiere tiempos de contacto bastante cortos. Se ha demostrado que cuando el ozono es transferido al agua mediante un mezclador en línea sin movimiento, las bacterias son destruidas en dos segundos. Por ello, el tiempo de contacto en la ozonización no tiene mayor importancia. 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.

<http://www.engormix.com> (2007), manifiesta que el ozono mata a la bacteria por medio de la ruptura de la membrana celular. Este proceso, conocido como *destrucción de células por lisina*, produce 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. Esta acción comienza la destrucción de la capacidad de la célula de funcionar y hasta puede ser suficiente para causar la muerte de células más débiles. Este ozónido tiene un alto potencial de oxidación, es inestable, y ejerce su propia acción de desinfección atacando enzimas, grupos sulfridrilo o aldehídos, liberando

compuestos peróxidos, que son también desinfectantes, todo esto conduce a la dispersión del citoplasma y por consiguiente a la muerte del microorganismo.

(2) Acciones fundamentales del Ozono

Según <http://www.engormix.com>, (2007).

Acción Microbicida

El concepto microbio, como es sabido, es muy amplio, estos seres vivos permanecen muchas veces sobre todo tipo de superficies, en todo tipo de fluidos, o bien flotan en el aire.

- **Efecto bactericida**

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.

- **Efecto viricida**

Los virus son pequeñas partículas, hoy consideradas frontera entre los seres vivos y la materia inerte, que no son capaces de vivir ni de reproducirse si no es parasitando células a las que ocasiona su destrucción. A diferencia de las bacterias, los virus siempre son nocivos y provocan enfermedades a todo organismo al que atacan. El ozono actúa sobre ellas oxidando las proteínas de su envoltura y modificando su estructura, al ocurrir esto, el virus no puede anclarse a ninguna célula hospedadora por no reconocer su punto de anclaje, y al encontrarse el virus desprotegido y sin poder reproducirse, muere. La acción viricida es observable a concentraciones de ozono inferiores a la de acción bactericida. (<http://www.engormix.com>, 2007).

- **Efecto fungicida**

Existen ciertos tipos de hongos que tienen capacidad de provocar patologías al ser humano, animales y plantas. Otros muchos son capaces de ocasionar

alteraciones en nuestros alimentos, haciéndolos inaceptables para su consumo, como es el caso, entre otros, de los mohos. Debido a esto, resulta interesante controlar y eliminar estas formas patógenas, cuyas esporas proliferan por todo tipo de ambientes. (<http://www.engormix.com>, 2007).

- **Efecto esporicida**

Existen algunos hongos y bacterias que cuando las condiciones son adversas para su desarrollo, fabrican una gruesa envoltura alrededor de ellas, y paralizan su actividad metabólica, permaneciendo en estado de latencia. Cuando las condiciones para la supervivencia vuelven a ser favorables, vuelven a su forma normal y su metabolismo recupera su actividad. Estas formas de resistencia se conocen como esporas y son típicas de bacterias tan patógenas como las que provocan el tétanos, la gangrena gaseosa, el botulismo y el ántrax. El ozono a concentraciones ligeramente superiores a las usadas para el resto de las bacterias, es capaz de acabar con la resistencia de las esporas. (<http://www.engormix.com>, 2007).

Acción desodorante

Es una de las propiedades mejor comprobadas, debido a su gran utilidad en todo tipo de locales de uso público y en el tratamiento de ciertos olores de origen industrial, posee la propiedad de destruir los malos olores atacando directamente sobre la causa que los provoca y sin añadir ningún otro olor, no exceder la concentración del ozono requerida para un determinado local, ya que si ésta se encuentra muy elevada, quedaría un residual fuerte de ozono presente en el aire y se percibiría un cierto olor. (<http://www.engormix.com>, 2007).

El ozono ataca a ambas causas, por un lado oxida la materia orgánica, además de atacarla por ozonólisis y por otro lado ataca a los microbios que se alimentan de ella. Existe una amplia gama de olores los cuales pueden ser atacados por el ozono. Todo depende de la naturaleza de la sustancia causante del olor. (<http://www.engormix.com>, 2007).

Acción oxigenante

El ozono, por su mayor poder oxigenante, contribuye a mejorar la eficiencia de las células de los organismos superiores en cuanto al aprovechamiento del oxígeno disponible, mediante la estimulación de varias enzimas que intervienen en estos procesos. (<http://www.engormix.com>, 2007).

La ozonización del agua

En primer lugar, es un potente agente germicida capaz de eliminar bacterias, virus, hongos y quistes parásitos, todo ello sin provocar la formación de compuestos tóxicos ni dejar residuos, puesto que se descompone espontáneamente en Oxígeno, aspecto en lo que aventaja a otros desinfectantes comúnmente empleados para estos fines. Se inició en 1993 el estudio de un sistema para incorporar este elemento al agua, la experiencia desarrollada consiste en la instalación de un generador de Ozono que inyecta este elemento al agua a través del propio conducto del agua.

La mezcla de Ozono y Oxígeno se calcula en función de la cantidad de metros cúbicos y del caudal/hora que ha de emplearse. (<http://www.engormix.com>, 2007).

(3) Aplicación del ozono en la ganadería

Según <http://www.engormix.com>, (2007), manifiesta que en la actualidad, las altas concentraciones de animales en régimen intensivo o estabulado y el sistema constructivo de las instalaciones, generan una elevada concentración de emanaciones amoniacales, ácidos, y un aumento de la flora microbiana, la cual produce un ambiente irrespirable y falta de oxígeno, esto origina un elevado número de enfermedades, principalmente respiratorias, las cuales reducen el rendimiento de la explotación ganadera.

Para corregir esta situación, el ganadero solo utiliza como medida la ventilación de los establos, apriscos, corrales, a costa de un elevado aumento del consumo de energía en calefacción, y no consiguiendo con ello evitar que los gérmenes y bacterias sigan existiendo en el interior de la nave.

El ozono por sus propiedades bactericidas, oxidantes, desinfectantes y desodorantes puede transformar el ambiente interior de las naves ganaderas, logrando:

- Regenerar el aire, aumentando su oxigenación.
- Destruir bacterias, virus, etc.
- Reducir en gran medida los olores.
- Reducción de la ventilación y en consecuencia los costos de calefacción, en épocas invernales.
- Reducción de costes en medicamentos; dado que a los pocos días de instalar el generador de ozono, el propio ganadero verá que los animales tienen menos enfermedades, encontrándose mas “lozanos” y aumentado el consumo de piensos.
- Sustitutivo del cloro, aplicando ozono al agua de suministro de las naves ganaderas.
- Desinfección y eliminación de olores de las balsas de purines.
- No será necesario dejar “descansar” zonas o naves ganaderas durante meses.
- La aportación de ozono en alta dosis durante varios días, será suficiente para dejar las naves completamente desinfectadas y libres de cualquier tipo de enfermedad.

(4) Formas de administración del ozono

Según [http://.www.teknon.es](http://www.teknon.es). (2005):

- Autohemoterapia, es la técnica más importante por la rapidez e intensidad de su acción. Se trata de reinyectar 150-200c.c. de sangre ozonizada extraída previamente del paciente en circuito cerrado. La pequeña autohemoterapia de sangre extraída con una jeringa por vía venosa es ozonizada y reinyectada vía intramuscular o endovenosa.
- Las infiltraciones subcutáneas y las inyecciones intramusculares.
- Las infiltraciones intradiscales, para vértebras e intrarticulares.
- Las insuflación en cavidades naturales, recto, vagina, ubres, etc.
- El aceite ozonizado para aplicaciones locales.

- El agua ozonizada.

Según <http://www.ozonoterapia.net/> (2006), indica que actualmente, la investigación científica en cuanto a usos médicos del ozono está siendo llevado a cabo en Cuba, Rusia y Alemania.

El ozono médico para aplicación externa es una mezcla de, como máximo, 5 partes de ozono puro y 95 partes de oxígeno.

En casos de aplicación interna (como agente para mejorar la circulación y acelerar los procesos de cicatrización e inflamación) una mezcla aproximada de 0.05 partes de ozono y 99.95 partes de oxígeno.

(5) Efectos colaterales

Según <http://www.teknon.es/>. (2005), a dosis adecuadas de oxígeno, el ozono no produce efectos secundarios ni reacciones alérgicas.

La manzanilla

Según <http://www.saludparati.com/> (2004), la manzanilla ha sido usada con fines medicinales durante miles de años. La manzanilla puede emplearse tanto interna como externamente. Las investigaciones modernas han demostrado que usada externamente esta planta posee propiedades que la hacen efectiva para reducir inflamaciones además como calmante o tranquilizante. La manzanilla actúa como un sedante suave. Contiene sustancias que actúan sobre el sistema nervioso central calmando los estados de estrés y ansiedad. La manzanilla también posee propiedades antimicrobianas, antisépticas y fungicidas. Se sabe que inhibe el crecimiento de las bacterias conocidas como estafilococos y estreptococos. (<http://www.saludparati.com/>, 2004)

(1) Nombre vulgar: Manzanilla, manzanilla común

(2) Nombre científico: *Matricaria chamomilla L.*, *Matricaria recutita L.*, *Matricaria chamomilla L.*

(3) Componentes

- Ácidos: Alfa-bisabolol (flor), ascórbico, salicílico, cafeico, cáprico, gentísico, linoleico palmítico, oleico, péctico (planta)
- Vitaminas: C (ácido ascórbico)
- Pigmentos : Luteolina, apigenina, cuarcetin (pigmentos amarillos)
- Alcoholes: farnesol, geraniol, borneol (planta)
- Mucílago
- Azuleno
- Chamazuleno
- Farneseno
- Matricarina
- Patuletina
- Jaceidina
- Hiperosido
- Axilarina
- Colina
- Azúcares: fructosa, galactosa (planta) glucosa (flor)

(4) Propiedades medicinales

Digestiva, hepática, biliar, antiespasmódica y carminativa. Igualmente es muy adecuada en casos de úlceras gástricas, gastritis, diverticulosis, diverticulitis, cólicos etc. El azuleno, por su valor antiulceroso, así como los valores antiespasmódicos de la jaceidina y el ácido gentísico pueden conllevar estas propiedades. Así como un sin número de otras propiedades medicinales, como: colagogo, vomitiva, Anti-colesterol, emenagoga, sedante, etc.

Las propiedades sedantes de la manzanilla ayudaran a disminuir los síntomas desagradables estomacales a relajar el intestino irritado o inflamado, etc. Diurético suave. El **bisabolol** es el componente que presenta el mayor valor antiinflamatorio y reparador. Las propiedades antiinflamatorias y antisépticas, resulta capaz de desinflamar los ubres y eliminar los gérmenes causantes de la inflamación. (<http://www.saludparati.com/> , 2004).

Anticancerígeno: Estudios recientes han demostrado la influencia que tienen los ácidos cafeico, y los flavonoides en la prevención o mejoría de los procesos cancerosos.

Su riqueza en **mucílagos** le confiere un valor reparador de las afecciones de la piel, la gran presencia de componentes con propiedades antisépticas y vulnerarias - apigenina, chamazuleno, ácido gentísico, etc - la hacen muy conveniente en el cuidado y reparación de las afecciones de la piel: [granos](#), [cortes](#), heridas, [ampollas](#), dermatitis, [orzuelos](#) etc. La manzanilla tiene propiedades beneficiosas para eliminar el picor, la descamación al eliminar las bacterias que en él se encuentran. (<http://www.saludparati.com/> , 2004).

(5) Recolección y conservación

Las flores deberán recogerse desde la primavera hasta el primer tercio de verano. Deberán secarse a la sombra y conservarse durante un año como máximo, en un lugar cerrado y oscuro. (<http://www.saludparati.com/> , 2004).

(6) Dosis recomendada y aplicación

Los baños se realizarán con una infusión bien cargada de flores secas en un par de litros de agua, durante 15 minutos aproximadamente. Las flores deben ser de la cosecha anual. No deben guardarse más de un año. (<http://www.saludparati.com/> , 2004).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se realizó en la Estación Experimental “Tunshi” programa de Bovinos de Leche y en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal, de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH.

El trabajo experimental tuvo una duración de 120 días distribuidos en: como primer paso la identificación de las vacas con mastitis subclínica por medio del método California Mastitis Test (CMT), como segundo paso la recolección de muestras del todo el hato para el reconocimiento del agente causal de la mastitis mediante el respectivo procedimiento de siembra, cultivo y lectura de las muestras de leche recogidas, este paso se realizó en laboratorio. Y como paso final la aplicación de los tratamientos y comprobación de su efectividad mediante el mismo método del CMT.

La Facultad de Ciencias Pecuarias se encuentra ubicada en el Km 1 ½ de la Panamericana Sur, mientras que la estación Experimental “Tunshi” programa de Bovinos de leche se ubica en la vía Licto a 12 Km. De la ciudad de Riobamba

provincia de Chimborazo a 20°13' de Latitud Sur y 78°53' de Longitud Oeste y a 2347 msm.

En el siguiente cuadro se expone las condiciones meteorológicas de las zonas de influencia.

Cuadro 3. CONDICIONES METEOROLÓGICAS

Parámetro	Riobamba	Tunshi
Temperatura ambiental (C°)	13.4	13.5
Precipitación relativa (mm)	26.45	14.5
Humedad relativa (%)	64.42	60.4
Viento velocidad (m/s)	2.37	2.4
Heliofania (horas sol)	4.85	3.38

Fuente: Estación Agrometeorológica FRN (2006)

B. UNIDADES EXPERIMENTALES

Las unidades experimentales fueron 20 vacas, previamente diagnosticadas con Mastitis Subclínica, tomando en cuenta su estado de lactancia y edad. El tamaño de la unidad experimental fue de una vaca.

C. INSTALACIONES, EQUIPOS Y MATERIALES

1. Equipo de campo

- Overol
- Botas de caucho
- Paletas plástica con 4 cubetas de 7 cm de diámetro por 2 cm de ancho
- Una pipeta
- Reactivo Californian Mastitis Test - CMT (Lauril Sulfato de Sodio)
- Hojas de registros
- Lápiz para identificación
- Termo refrigerado
- Frascos con sus respectivos tapones.
- Franelas limpias y secas

- Guantes quirúrgicos.

2. Instalaciones

- Sala de ordeño de la Estación Experimental “Tunshi” programa de Bovinos de Leche.
- Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal

3. Materiales y equipos de laboratorio

- Equipo de ozonificación
- Tanque de oxígeno
- Autoclave
- Cabina de flujo laminar
- Refrigeradora
- Microscopio
- Estufa
- Mandil
- Cajas Petri
- Gradilla para porta objetos
- Mechero Bunsen
- Asa de níquel - cromo 21 SWG de 75-80 mm
- Frascos de 150 ml de boca ancha
- Caja refrigerada para transportar las muestras
- Botellas para muestras de 250 ml
- Gasas esterilizadas
- Porta objetos 26 x 3.5 cm
- Pipetas de 1.5 – 2 ml
- Pinzas
- Cinta adhesiva
- Marcador
- Cronometro
- Equipo de Tinción Gram

4. Reactivos

- Reactivo Californian Mastitis Test (CMT)
- Agar sangre
- Agua destilada
- Kit de reactivos de tinción Gram
- Xilol
- Alcohol
- Aceite de inmersión
- Manzanilla

5. Equipo de oficina

- Escritorio
- Computadora
- Cámara fotográfica
- Papelería

D. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Los tratamientos que se evaluaron en el presente trabajo fueron dos, el uno con una aplicación de Ozono puro a cinco vacas y el segundo tratamiento de ozono diluido a cinco vacas, y como tercer tratamiento la aplicación de un fármaco (antibiótico) a cinco vacas, por lo que se tendrá 3 tratamientos y un testigo con cinco repeticiones cada uno; que se distribuirán con un diseño completamente al azar que se ajusta al siguiente modelo matemático:

$$X_{ij} = u + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

X_{ij} = Valor del parámetro en determinación

u = Media general

- α_i = Efecto de los tratamientos
 ϵ_{ij} = Efecto del error experimental

Cuadro 4. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO

Tratamientos	T.U.E.	# Rep.	Total
T0.- Testigo	1	5	5
T1.- Ozono puro	1	5	5
T2.- Ozono diluido	1	5	5
T3.- Antibiótico	1	5	5
TOTAL ANIMALES			20

T.U.E. = Tamaño de la unidad experimental.

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Las variables experimentales que se midieron fueron:

- Determinación de la incidencia de mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi – ESPOCH.
- Identificación de los cuartos infectados de acuerdo al estado de lactancia.
- Bacterias causantes de la mastitis subclínica.
- Evaluación de la eficacia de los dos métodos de la ozonoterapia.
- Evaluación de la eficacia de un fármaco (antibiótico).
- Análisis económico de los tratamientos.

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBA DE SIGNIFICANCIA

Los resultados experimentales fueron sometidos a estos análisis:

- Medias, rangos, gráficos (estadística descriptiva).
- Análisis de Varianza –ADEVA (estadística inferencial).
- Separación de medias de acuerdo a la Prueba de Tukey al nivel de significancia de $P < 0.05$.

Cuadro 5. ESQUEMA DEL ADEVA PARA LAS DIFERENCIAS

Fuente de Variación	Grados de libertad
Total	19

Tratamientos	3
Error	16

G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1. Selección de animales:

La selección de los animales se realizó en base a un muestreo, luego de aplicar la técnica de California Mastitis Test a todo el hato de la unidad de Bovinos de Leche de Tunshi, de la ESPOCH, que determinó la incidencia de mastitis subclínica. Así seguimos el siguiente orden:

a. Técnica de campo mediante el California Mastitis Test:

Para determinar la presencia de mastitis subclínica, nos basaremos en la prueba de California Mastitis Test (CMT):

- Lavar, enjuagar y secar la ubre.
- Con una solución de alcohol al 70% desinfectarse las manos.
- Con la misma solución y utilizando algodón desinfectar los pezones. Dejar secar por 2 minutos. Eliminar los dos primeros chorros de leche antes de tomar la muestra.
- Extraer de cada cuarto 3 ml de leche aproximadamente, depositándola en cada una de las copas de la paleta.
- Añadir igual volumen de la solución de CMT en cada una de las copas.
- Mezclar durante dos minutos mediante una ligera rotación circular de la paleta mantenida en posición vertical.
- Observar la reacción obtenida.

2. Toma de muestras:

Para realizar esta práctica, aligeremos a las vacas que en la prueba de California Mastitis Test (CMT), dieron positivo.

- Bañar los pezones con un producto desinfectante. Dejar actuar y secar completamente con papel no reutilizable o un pedazo de tela limpia.
- Limpiar el pezón con alcohol etílico al 70% y una gasa estéril, prestando particular atención al orificio del pezón.
- Desechar los primeros chorros de leche para eliminar los restos de alcohol.
- Tomar la muestra antes del ordeño y lo más rápidamente posible.
- Sostener el frasco estéril de recogida, horizontalmente.
- Identificar la muestra con el número de la vaca y el cuarterón y refrigerarlas.

3. Determinación de bacterias causantes de mastitis subclínica:

a. Preparación del agar sangre

Disolver: 10,5 gr. de Columbia Agar Base en 250 ml de agua destilada.

Esterilizar: 15 minutos a 121°C en el autoclave.

Enfriar: de 45 a 50 °C.

Añadir: 6% de sangre (fresca de ovino).

Verter: en cajas petri

Refrigeración de las cajas petri listas con el agar sangre.

b. Inoculación de muestras

- Para esta actividad, las muestras fueron sacadas de refrigeración y llevadas al área de siembra en el laboratorio (cabina flujo laminar).
- Se procede a desinfectar el área donde se va a trabajar y las manos del operador con el alcohol antiséptico y encender el mechero Bunsen.
- En la Cabina de flujo laminar, realizamos el siguiente procedimiento: colocamos en una mano la caja petri con el lado del agar, y con la otra mano el asa de platino previamente esterilizada al rojo vivo en el mechero de bunsen

y enfriada agitandola de un lado a otro, recogemos una muestra de leche e inmediatamente inoculamos mediante estrías en el medio de cultivo de la caja petri, finalmente la tapamos, invertimos la caja y finalmente la identificamos según la muestra. Así sucesivamente con todas las muestras.

- Llevar las placas a la incubadora de 24 a 48 horas a 37°C.
- Registrar en la libreta las inoculaciones realizadas.

c. Fijación de bacterias

Una vez transcurrido el tiempo de desarrollo de las colonias bacterianas en la estufa se realiza lo siguiente para identificarlas:

- Se coloca una gota de agua destilada sobre un porta objetos.
- Con la ayuda del asa de siembra previamente esterilizada, se procede a tomar una muestra de cada uno de las diferentes colonias.
- Mezclar la muestra seleccionada con la gota de agua destilada sobre el portaobjetos y esparcirla lo más que se pueda sobre el porta objetos.
- Flamear el portaobjetos en el mechero Bunsen, la idea es eliminar toda el agua y que el preparado quede "pegado" al vidrio.

d. Tinción Gram

Una vez fijada las bacterias en portaobjetos, se siguen los siguientes pasos:

- Colocar la placa porta objetos con la muestra fijada sobre la bandeja de tinción Gram.
- Agregar la solución cristal violeta y dejar actuar por un minuto y votar los excesos si es necesario.
- Cubrir con lugol por un minuto. El Lugol actúa como "mordiente", vale decir, cristaliza al Violeta de Genciana formando un complejo insoluble en H₂O pero soluble en alcohol-acetona.
- Retirar el excedente de Lugol lavando con agua destilada.

- Decolorar con alcohol-acetona dejandolo actuar por un minuto igualmente. Este paso es fundamental porque en el reside la respuesta diferencial de las Gram + y las Gram -. Sabemos que la acetona deshidrata y contrae las células por contacto. Sabemos también que los poros de las Gram + son mas pequeños que los de las Gram -. Entonces, la solución alcohol-acetona, contrae los poros de las bacterias cerrando completamente los de las Gram + y parcialmente los de las Gram -. Hasta aquí tenemos las Gram + violetas y cerradas y las Gram - incoloras y abiertas.
 - Lavamos el exceso con agua destilada.
 - Cubrir con Safranina durante un minuto. La safranina es parcialmente soluble en H₂O e ingresará sólo en las Gram - ya que las otras continúan cerradas por efecto del alcohol-acetona.
-
- Lavar con agua destilada y secar la placa con papel secante.
 - Observación de la placa en el microscopio (1000x), para la identificación del género bacteriano.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

A. INCIDENCIA DE MASTITIS SUBCLINICA EN EL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL DE TUNSHI FCP-ESPOCH ANTES DEL TRATAMIENTO.

En el Cuadro 6, se muestra los resultados del análisis de la mastitis subclínica a las vacas en producción, este se realizó según las especificaciones del producto utilizado para la prueba de campo, el Californian Mastitis Test (CMT), que se aplico a las 51 vacas lecheras, que en ese momento se encontraban en ordeño.

Así, el resultado fue; Negativo o sin mastitis un 8.33%. Trazas o sospechosas un 58,82% y propensas a tener mastitis subclínica. Las portadoras de mastitis subclínica catalogadas con un positivo (+) 15.69%; con doble positivo (++) obtuvo una incidencia del 12.75% y con triple positivo (+++) 2.94%.

Lo mas importante y cabe resaltar que al momento de la realización de la prueba de CMT no hubo la presencia de mastitis clínica, pero si la presencia de cuartos perdidos en algunas vacas representando así el 1.47% del hato general, como muestran los Gráficos 1 y 2.

Cabe anotar que en este caso las principales fuentes de contaminación en la unidad experimental Tunshi, se debe a varios factores como: el no realizar o hacer un mal lavado de pezones antes del ordeño y en el caso de hacerlo lo realizan con agua prácticamente contaminada, pues proviene de la acequia; no hay una adecuada estimulación de la ubre; el ordeño deficiente; no se realiza el sellado de los pezones adecuadamente; maltrato hacia los animales previo al ordeño lo que provoca un estrés en el animal; la existencia de un medio potencial de contaminación luego del ordeño ya que no existe un lugar limpio, donde el animal pueda echarse dentro de la primera hora sin peligro que el pezón dilatado entre en contacto con el estiércol.

Padilla, E. (2006), en su investigación coincide con el orden de los resultados de nuestra investigación, con la excepción del porcentaje de vacas negativas o sin mastitis, pues el no presenta este nivel. Además indica los mismos factores que posiblemente causen la enfermedad.

Cuadro 6. PORCENTAJE DE INCIDENCIA DE VACAS INFECTADAS POR MASTITIS SUBCLINICA EN EL HATO DE TUNSHI DE LA FCP – ESPOCH

RESULTADOS	PORCENTAJE	TOTAL INCIDENCIA DE MSC
-	8,33 %	
TRAZAS (T)	58,82%	
+	15,69%	
++	12,75%	31.38%
+++	2,94%	
CUARTOS PERDIDOS	1,47%	
TOTAL	100,00	

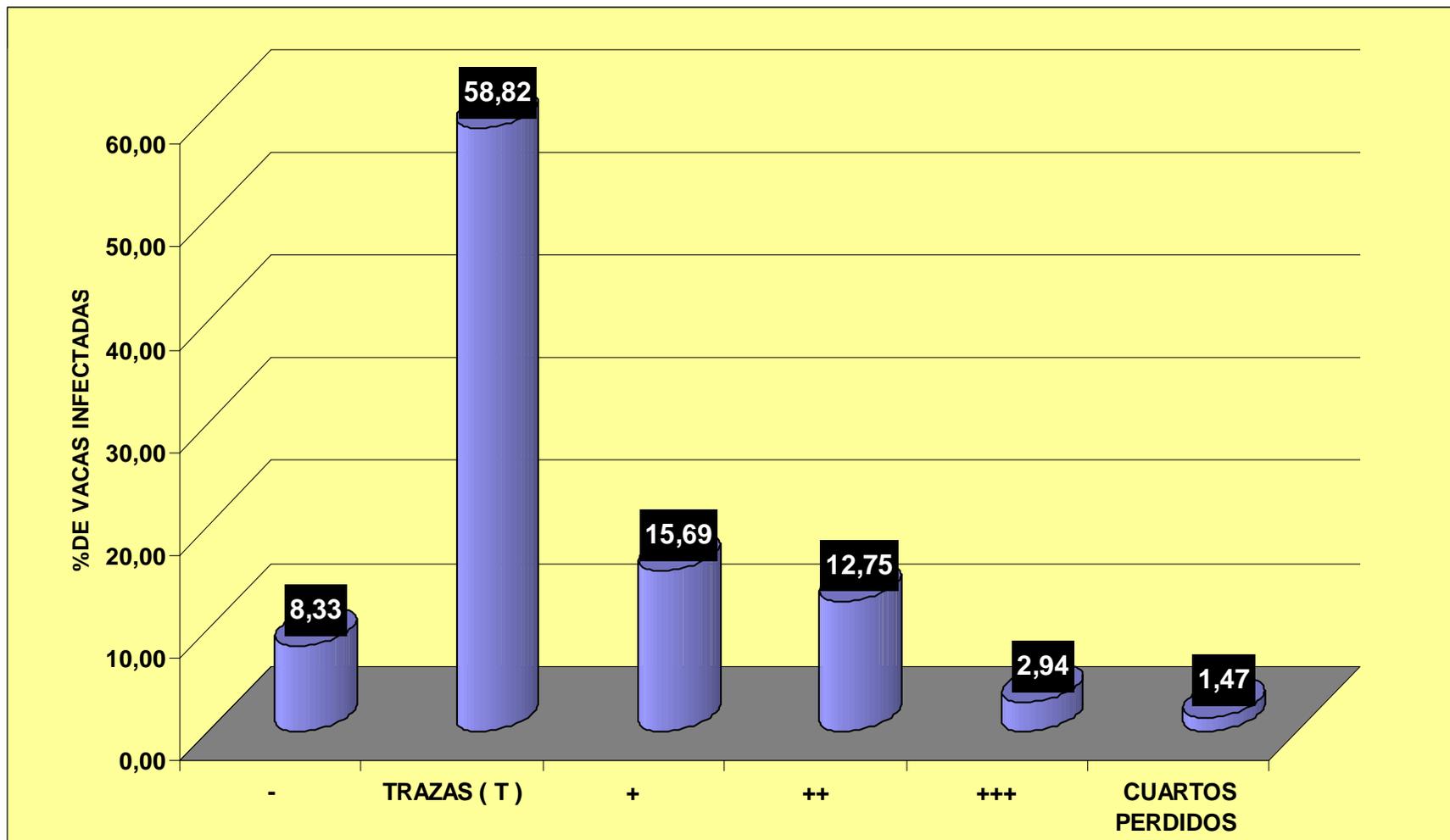


Gráfico 1. Porcentaje de incidencia de mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH.

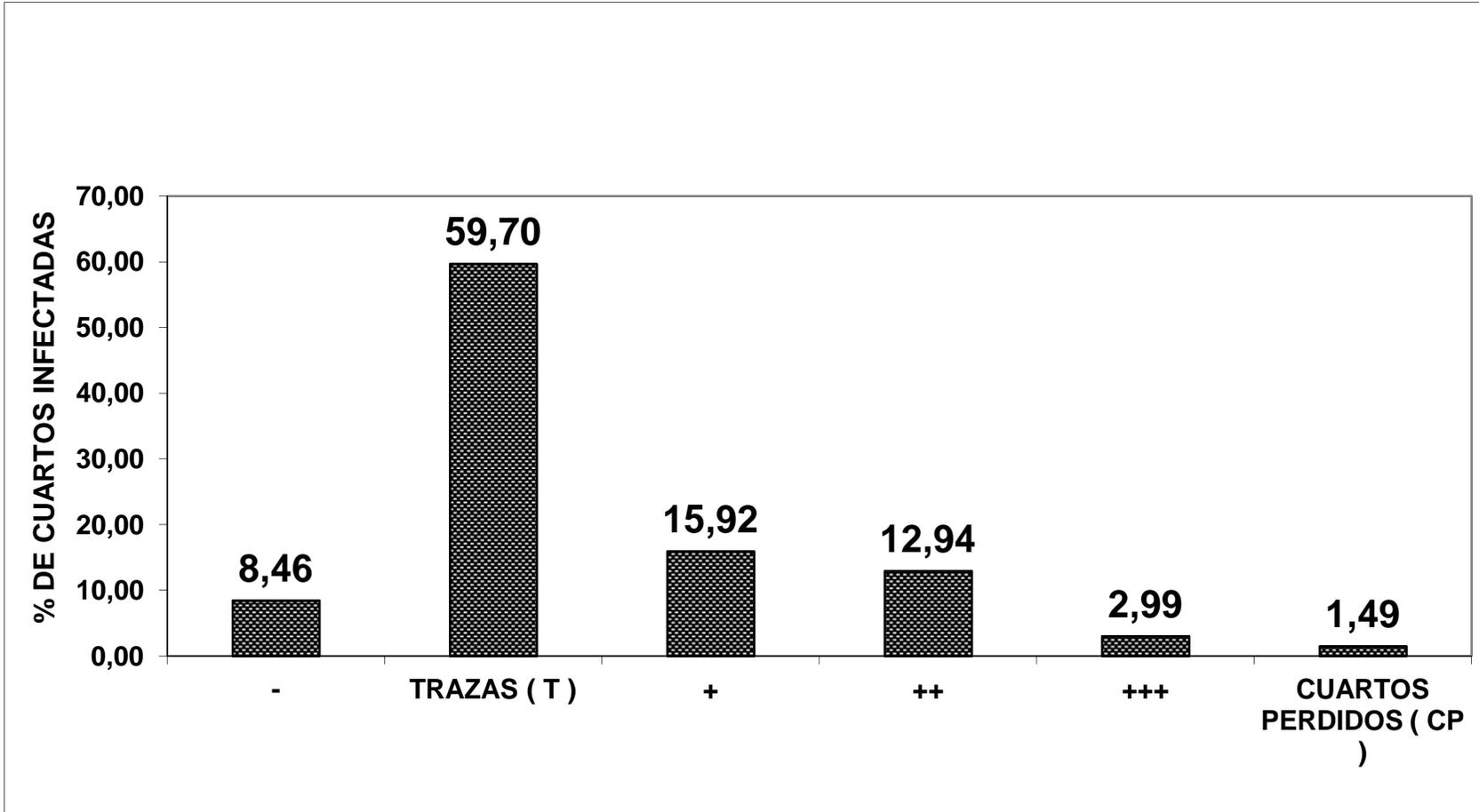


Gráfico 2. Porcentaje de incidencia de mastitis subclínica por cuartos en el hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH.

Yarder, L. (2000), igualmente se coincide con su investigación que indica que la alta prevalencia de mastitis subclínica, es indicativo de falta de medidas de higiene durante el proceso del ordeño tal como lo revela la encuesta aplicada a los productores de este tipo de explotación.

Donde un 89.5% de los hatos examinados no practican el lavado y desinfección adecuado de pezones, limpieza desinfección de las manos del ordeñador entre otras técnicas recomendadas para la prevención de mastitis.

Kleinschroth, E. (1991), señala que las influencias desfavorables del medio ambiente (errores de ordeño, maquinas de ordeñar mal regladas, animales en malas condiciones de estabulación, alimentación, etc.), conducen a un debilitamiento de la capacidad defensiva de la ubre provocando la presencia de la mastitis.

Núñez, O. (1996), igualmente explica que las principales causas de la mastitis son la falta de aseo y limpieza tanto del equipo de ordeño, así como el manejo de los corrales que presentan acumulación de heces barrosas, charcos con agua contaminada.

Convirtiéndose así la principal fuente de contaminación ya que el sellado de pezones no se realiza y por allí donde las bacterias tienen las puertas abiertas para producir la infección de este órgano.

B. DISTRIBUCION DEL TOTAL DE VACAS PRODUCTIVAS DEL HATO DE TUSHI FCP – ESPOCH E INCIDENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN LAS MISMAS, POR CUARTOS INFECTADOS DE ACUERDO AL MES QUE SE ENCONTRABAN DE LACTANCIA ANTES DE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS.

El en cuadro 7, se muestra detalladamente la distribución de las vacas productoras según el mes en que se encontraban en lactancia previa a la aplicación de los tratamientos. Gráfico 3.

Así del total de animales evaluados, se encontró el 3.92% (2 vacas) en el primer mes de lactancia; en el segundo mes de lactancia el 13.73% (7 vacas); en el tercer mes el 19.61% (10 vacas); en el cuarto mes el 5.88% (3 vacas); en el quinto mes el 7.84% (4 vacas); en el sexto mes el 1.96% (1 vaca); en el séptimo mes el 5.88% (3 vacas) y en el octavo mes el 1.96% (1 vacas); estos resultados están dentro de los 305 días que es una lactancia.

Mientras que 39.22% que corresponde al restante que siguen produciendo a pesar de que estas deberían estar secas e incluso hasta en su próximo parto, esto podría ser una de las causas para los problemas reproductivos o la mastitis misma que ha venido dando problemas, como se explica a continuación y se muestra en el Gráfico 4.

Podemos ver además en el cuadro 7 que la mayor parte de las vacas productoras de esta explotación se encuentran en el tercer y cuarto mes, casi en pico de producción.

Además en el Cuadro 7, se observa la situación de la incidencia de mastitis por cuartos, de las vacas que se encuentran en producción previo a la investigación.

En relación a la cantidad de cuartos infectados con mastitis subclínica según el mes de lactancia podemos decir que de igual manera la mayor incidencia de cuartos infectados esta en el décimo mes con 20.31% posiblemente por ser vacas que deberían estar secas o en preñes.

Seguidos con las del tercer mes de lactancia con 17.19% pues es aquí donde se encuentra el mayor grupo de vacas pero con un numero bajo de cuartos infectados en relación al total de sus cuartos, y con 9.38% en el vigésimo tercer mes de lactancia como un caso similar al primero.

El resto de animales se mantenían por debajo de este porcentaje.

Cuadro 7. DISTRIBUCION DEL TOTAL DE VACAS RODUCTIVAS DEL HATO DE TUSHI FCP – ESPOCH E INCIDENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN LAS MISMAS POR CUARTOS INFECTADOS DE ACUERDO AL MES QUE SE ENCONTRABAN DE LACTANCIA ANTES DE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS.

MES DE LACTANCIA	Nº vacas	%	CUARTOS			CUARTOS INFECTADOS							
			EVALUADOS		INFECTADOS	AI		PI		AD		PD	
			Nº	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	2	3,92	8	2	3,13	0	0,00	0	0,00	1	12,50	1	12,50
2	7	13,73	28	2	3,13	0	0,00	0	0,00	1	3,57	1	3,57
3	10	19,61	40	11	17,19	1	2,50	2	5,00	3	7,50	5	12,50
4	3	5,88	12	3	4,69	0	0,00	2	16,67	0	0,00	1	8,33
5	4	7,84	16	4	6,25	0	0,00	1	6,25	2	12,50	1	6,25
6	1	1,96	4	3	4,69	1	25,00	0	0,00	1	25,00	1	25,00
7	3	5,88	12	1	1,56	0	0,00	0	0,00	1	8,33	0	0,00
8	1	1,96	4	4	6,25	1	25,00	1	25,00	1	25,00	1	25,00
9	2	3,92	8	2	3,13	0	0,00	1	12,50	0	0,00	1	12,50
10	4	7,84	16	13	20,31	4	25,00	3	18,75	3	18,75	3	18,75
11	1	1,96	4	1	1,56	0	0,00	1	25,00	0	0,00	0	0,00
13	2	3,92	8	3	4,69	0	0,00	1	12,50	1	12,50	1	12,50
14	1	1,96	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
15	3	5,88	12	2	3,13	1	8,33	0	0,00	0	0,00	1	8,33
16	1	1,96	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
18	1	1,96	4	1	1,56	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	25,00
20	1	1,96	4	4	6,25	1	25,00	1	25,00	1	25,00	1	25,00
22	1	1,96	4	2	3,13	0	0,00	0	0,00	1	25,00	1	25,00
23	3	5,88	12	6	9,38	2	16,67	2	16,67	1	8,33	1	8,33
TOTAL	51	100	204	64	100	11	17,19	15	23,44	17	26,56	21	32,81

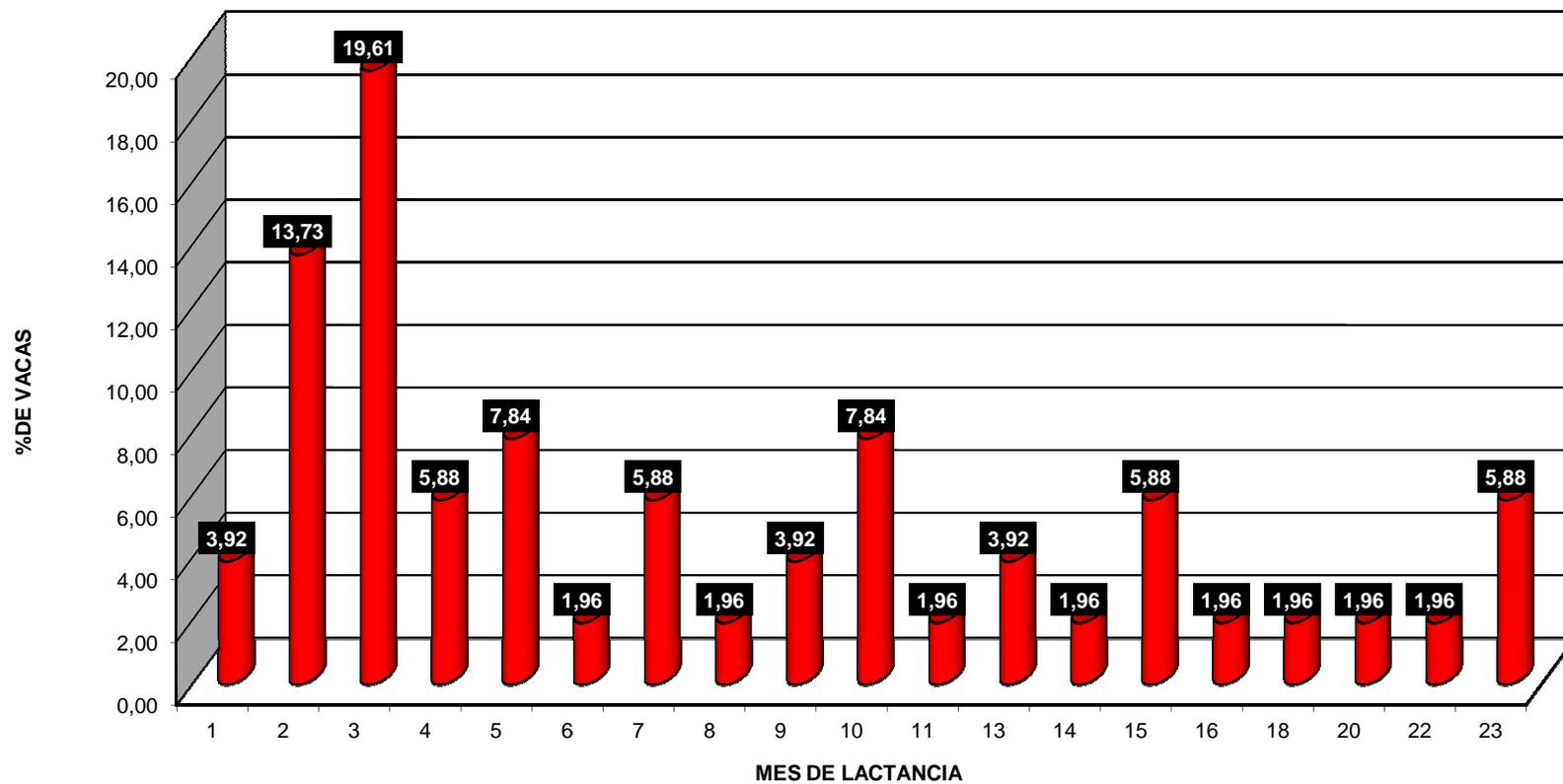


Gráfico 3. Distribución del total de vacas productivas según el mes de lactancia en el hato de la estación Experimental Tunshi de la FCP –ESPOCH

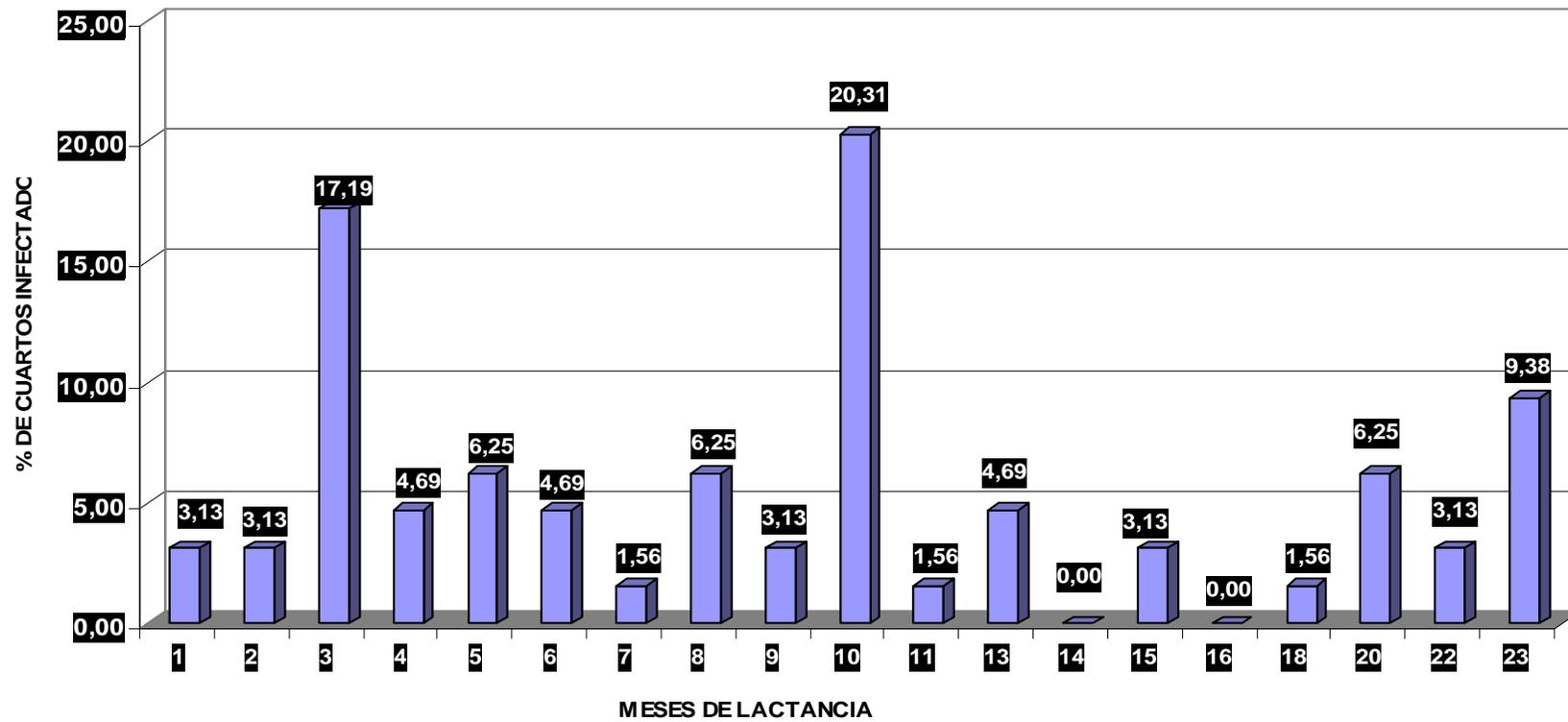


Gráfico 4. Distribución de cuartos con mastitis subclínica según el mes de lactancia en el hato de la estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH.

Cabe mencionar que los dos primeros meses de lactancia tienen un bajo porcentaje en incidencia de mastitis debido a que: son animales de primer parto y animales a los cuales se ha producido un buen tratamiento de secado. Gráfico 4. Esto nos indica que debe haber un control más estricto al momento de realizar el ordeño para evitar que animales que se encuentran en el pico de la producción presenten tan alto porcentaje de mastitis, no demuestren toda su capacidad productiva y tengamos pérdidas económicas tanto por la realización de tratamientos.

Padilla, E. (2006), en su investigación muestra resultados un tanto diferentes, pues las vacas de Tunshi presentaban en ese entonces, mayor presencia de mastitis en el tercer, cuarto y quinto mes. En menor porcentaje del décimo al décimo sexto mes. En general estos resultados con mayor incidencia de mastitis se encuentran en estos meses, pero en diferente orden.

Méndez, J. (2000), presenta resultados diferentes ya que la presencia de cuartos positivos para mastitis subclínica presentó mayor incidencia desde el cuarto mes hasta el séptimo mes de lactancia yendo del 37,5% hasta el 75%.

Todo esto es comprensible pues son investigaciones con intervalos largos de tiempo.

En relación a la ubicación de los cuartos infectados con mastitis subclínica, se obtuvo que los más propensos a presentar la infección es el cuarto posterior derecho con 32.81%, seguido por el cuarto anterior derecho con 26.56%.

Mientras que los del lado izquierdo presentan menor porcentaje, así el cuarto posterior izquierdo con 23.44% seguido del cuarto anterior izquierdo con 17.19%. Gráfico 5.

Esto es comprensible pues la ubicación de los ordeñadores en la sala de ordeño disponen de mayor facilidad de manejo en el lado izquierdo pues el modelo es una media espina de pescado, no así el derecho que da hacia el pasillo por donde salen los animales ya ordeñados lo cual dificulta la maniobra de lavar bien dichos cuartos, y el manejo en general.

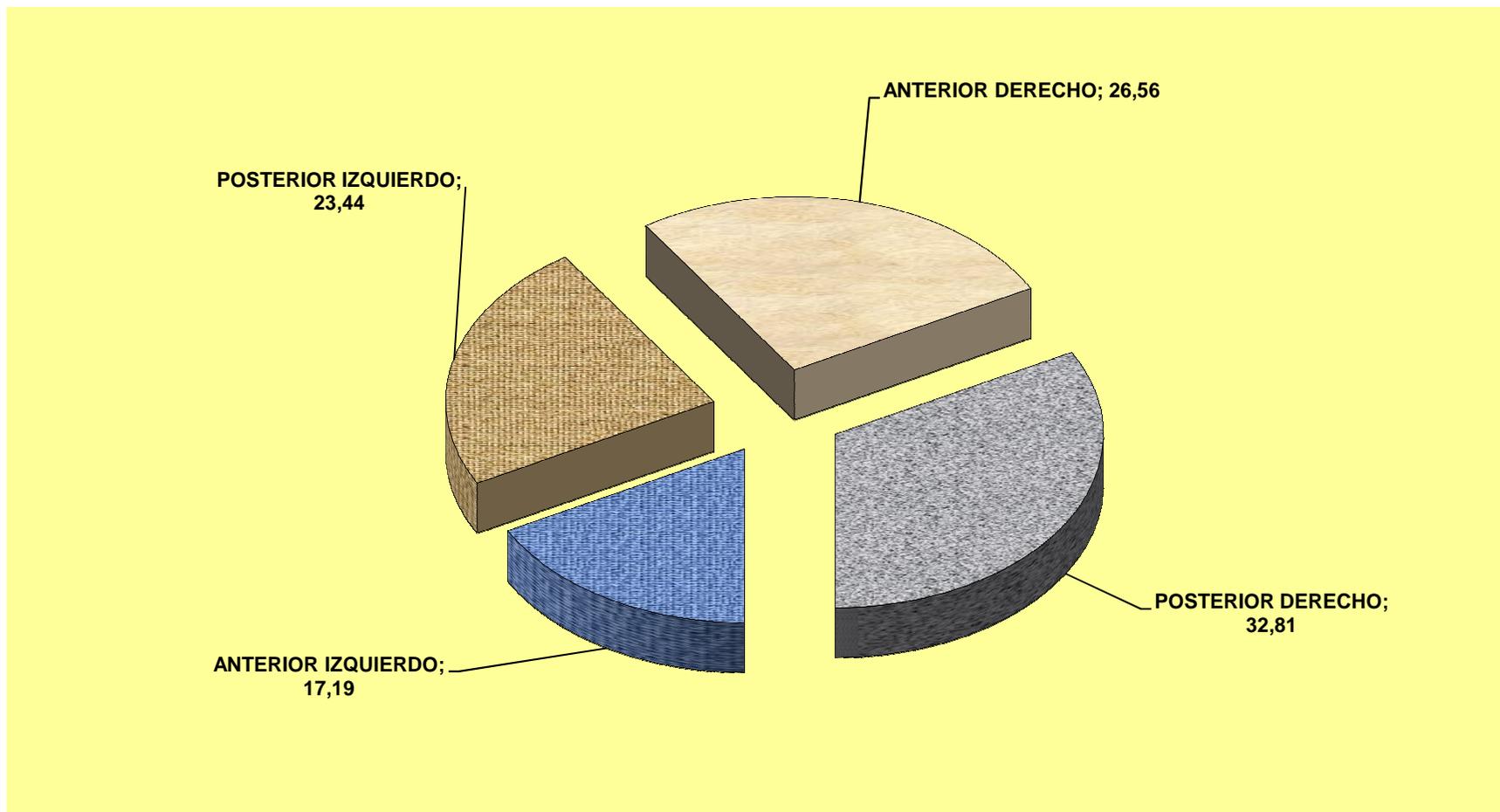


Gráfico 5. Porcentaje de cuartos infectados con mastitis subclínica en el hato de la estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH

Además en relación entre los cuartos anteriores y posteriores se encontró que existe mayor presencia de contaminación en los cuartos posteriores de ambos lados en relación con los anteriores, puede deberse esto a que los posteriores producen mayor cantidad de leche. Esto nos hace reflexionar que a la hora de lavado y sellado de las ubres debemos poner mayor empeño. Lo que se coincide con el análisis de Padilla, E. (2006) y Núñez, O. (1996), quienes realizaron su estudio en la misma hacienda de Tunshi.

Padilla, E. (2006) y Núñez, O. (1996), coincide con nuestros resultados que a pesar que no en los mismos porcentajes pero si en el mismo orden. De igual manera coincide con nuestro análisis del porque de este suceso.

C. AGENTES PATOGENOS CAUSANTES DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN EL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL DE TUNSHI DE LA FCP-ESPOCH.

En el Cuadro 8, se muestra claramente que el principal causante de la mastitis en el hato de Tunshi, son las bacterias Gram positivas con un porcentaje de 53.19%, y dentro de estas: *Staphylococcus sp.*, que encabezan a este grupo con el 41.49%, seguidos de *Streptococcus sp.*, con el 5.32%, a continuación *Cocobacilos G+* con el 3.19% al igual que los *Bacillus sp.*, con el mismo porcentaje.

Las bacterias Gram negativas son las segundas en ser causantes de la mastitis con el 46.81%, y así mismo dentro de estos los *Cocos* son los primeros con el 32.98%, seguidos de los *Bacillos G-* con el 13.8%. Gráfico 6.

Estos diferentes grupos de bacterias posiblemente se diseminan principalmente en el momento del ordeño, las pezoneras del equipo de ordeño, las manos del ordeñador, etc. Además por medio de las camas sucias o ausencia de estas, como en este caso que el animal duerme en sitios sucios o contaminados. Estos resultados encontrados en el presente estudio concuerdan con lo manifestado por Padilla, E. (2006), con respectos al orden de las bacterias Gram positivas como primeras causantes de la mastitis y en segundo lugar las Gram negativas, igualmente los resultados de las principales bacterias en aquel estudio coinciden con el nuestro, así los *Staphylococcus sp.* en primer lugar, los *Cocos* en segundo con mayor porcentaje.

Cuadro 8. TIPO Y CANTIDAD DE BACTERIAS PATÓGENAS CAUSANTES DE LA MASTITIS SUBCLINICA EN EL HATO DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI DE LA FCP - ESPOCH

TIPOS DE BACTERIAS	Nº DE COLONIAS ENCONTRADOS	% DE COLONIAS ENCONTRADOS	%TIPO BACTERIA	
Staphylococcus sp.	39	41,49		
Streptococcus sp.	5	5,32		
			53,19	Gram +
Coco bacilos G+	3	3,19		
Bacillus sp.	3	3,19		
Cocos	31	32,98		
			46,81	Gram -
Bacilos G-	13	13,83		
TOTAL	94	100		

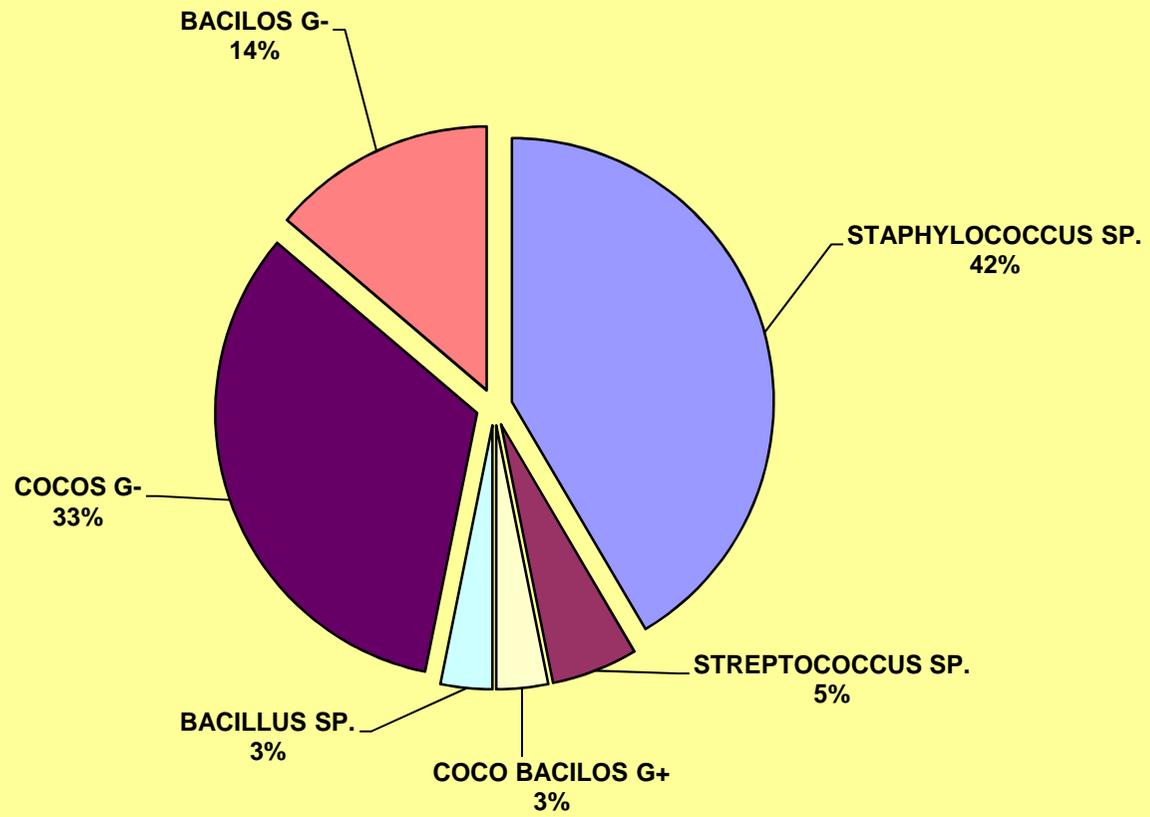


Gráfico 6. Tipo y porcentaje de bacterias patógenas causantes de la mastitis subclínica en el Hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH

Igualmente Méndez, J. (2000), señala que las bacterias patógenas encontradas en la leche procedente de la hacienda Tunshi, registraron mayor cantidad de Bacterias Gram Positivas y luego las Gram las Negativas, prevaleciendo entre estas los géneros *Staphylococcus sp.* y los *Bacilos*. Mientras que en menor cantidad se encontró los grupos *Cocobacilos sp.* y *Streptococcus sp.*

Hoyos, L. (2002) manifiesta que las bacterias patógenas causantes de la mastitis que mayor frecuencia registraron fueron los *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, no así los *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus uberis* que se registraron en menor grado, que concuerda con nuestra investigación.

Martín, M. (1998), señala que los gérmenes mas contagiosos y los mas importantes de este grupo son los del genero *Staphylococcus sp.*, pues sus reservorios son las ubres infectadas y que se eliminan por la leche. Los gérmenes medio ambientales en este grupo incluyen varios tipos de *Streptococos sp.* *E. coli*, etc., su reservorio es el medio ambiente que rodea la vaca, sean heces, tierra, etc. No se puede evitar el contacto con la vaca aunque debemos proporcionar a los animales un ambiente lo mas limpio posible.

Ruegg, J. (2001), expresa que la mastitis causada por los patógenos ambientales (coliformes, y estreptococos ambientales) es generalmente de menor duración que la mastitis causada por patógenos contagiosos (*Staph. aureus*, *Mycoplasma bovis*).

D. EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS APLICADOS EN EL TRATAMIENTO DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA DE LAS VACAS SELECCIONADAS DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI DE LA FCP - ESPOCH

En el Cuadro 9, están los resultados de la aplicación del CMT 8 días post tratamiento en porcentaje. En el tratamiento uno o de Ozono Puro, encontramos una alta cantidad de negativos, mínima de trazas y cero positivos, en decir resultados excelente post tratamiento. En el tratamiento dos o de Ozono Diluido, encontramos un negativo, mayor cantidad de trazas y seis positivos, en decir se presentan positivos post tratamiento que baja la efectividad del mismo.

En el tratamiento tres o de Penicilina (Sódica), encontramos una mayor cantidad de negativos, menor de trazas y dos positivos, en decir los resultados son muy aceptables y mejores que el anterior. Gráfico 7.

En general luego de la aplicación de los tratamientos se puede decir que los resultados muestran un alto porcentaje de negativos a la prueba del CMT, es decir sin mastitis con 35%, sospechosas o propensas a presentar mastitis con 51.67%, y un 13.33% positivos a la prueba, es decir un bajo porcentaje de cuartos con mastitis, además en un nivel mínimo de infección. Todo esto, comparado con los datos del CMT inicial previo a la aplicación de los tratamientos, podemos decir que en general los tratamientos aplicados han sido buenos para el control de la mastitis subclínica.

Al realizar el estudio de la resistencia y susceptibilidad de los tratamientos a las bacterias Gram negativas, encontramos los siguientes resultados: en el caso del Ozono Puro para control de este tipo de bacterias se encontró una eficiencia del 100% es decir para los Cocos y *Bacilos G-*. Lo mismo ocurrió con el Ozono Diluido y La Penicillina (Sódica). Ver Cuadro 10 y Gráfico 8. Por lo tanto los tres tratamientos son efectivos para el control de este tipo de bacterias.

Cuadro 9. INCIDENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA POR CUARTOS EN EL HATO DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI FCP - ESPOCH, 8 DÍAS POST TRATAMIENTO

RESULTADOS	T1	T2	T3	% TOTAL DE CUARTOS INFECTADOS
-	8	1	12	35,00
TRAZAS (T)	12	13	6	51,67 (MSC)
+	0	6	2	13,33 (MSC)
TOTAL	20	20	20	100,00



Gráfico 7. Incidencia de mastitis subclínica en el Hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH, 8 días post tratamiento.

Cuadro 10.- DETERMINACIÓN DE LA SENCIBILIDAD Y RESISTENCIA DE LAS BACTERIAS PATÓGENAS GRAM NEGATIVAS PRESENTES EN LA LECHE DEL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUSHI FCP – ESPOCH

TRATAMIENTO	COCOS G-		BACILOS G-	
	SUCEPTIBILIDAD	RESISTENCIA	SUCEPTIBILIDAD	RESISTENCIA
Testigo	0,00	100,00	0,00	100,00
Ozono puro	100,00	0,00	100,00	0,00
Ozono diluido	100,00	0,00	100,00	0,00
Penicilina	100,00	0,00	100,00	0,00

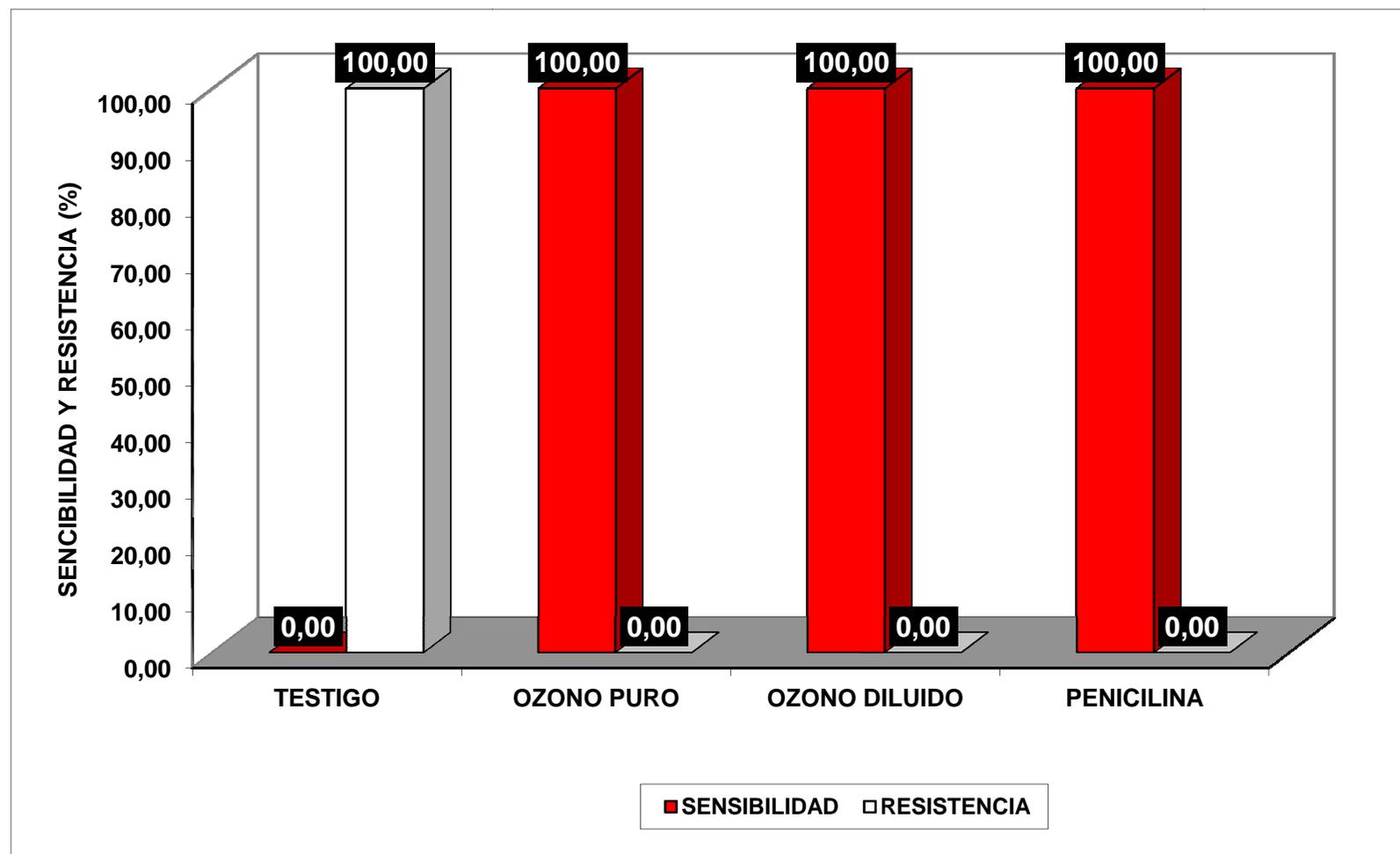


Gráfico 8. Determinación de la sensibilidad y resistencia de las bacterias patógenas Gram negativas presentes en la leche del hato de la Estación Experimental Tunshi FCP - ESPOCH

Y como es lógico en el caso del testigo siguió presentado sin ninguna modificación las mismas bacterias igual que al inicio de la investigación. En relación a las Bacterias Gram Positivas se produjo mayores diferencias, así en el caso del Ozono puro, presentó total sensibilidad a todas las Gram positivas es decir el 100% de sensibilidad a los *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Cocobacilos G+* y *Bacillus sp.* Coincidiendo de esta forma con la literatura, que nos dice que el ozono cumple con su función de bactericida.

En el caso del Ozono Diluido, encontramos iguales resultados en relación a los *Streptococcus sp.*, *Cocobacilos G+* y *Bacillus sp.*, es decir un 100% de sensibilidad, pero para el caso de los *Staphylococcus sp.*, donde mostró una resistencia del 54.55%, y una sensibilidad del 45.45%.

De igual manera la Penicilina (Sódica), produjo resultados parecidos al anterior pues muestra una sensibilidad del 100% a las bacterias *Streptococcus sp.*, *Cocobacilos G+* y *Bacillus sp.* Y para los *Staphylococcus sp.* una resistencia del 20%, es decir una sensibilidad del 80% que supera a la acción del Ozono Diluido. De igual manera para el caso de las Gram positivas no apareció ninguna modificación en el testigo que siguió presentando las mismas bacterias desde en inicio. Todo esto a continuación en el Cuadro 11 y Gráfico 9.

E. EVALUACION DE TRES TRATAMIENTOS CONTRA LA MASTITIS SUBCLINICA APLICADOS A LAS VACAS SELECCIONADAS DEL HATO DE TUNSHI FCP – ESPOCH EN BASE A LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA DE CMT POST TRATAMIENTO, POR MEDIO DE LA PRUEBA DE TUKEY

Luego de la aplicación de los tratamientos, se realizó la prueba del CMT a los 8 días post tratamiento y a estos resultados se aplicó el Adeva, para finalmente por medio del estudio de la separación de medias según el método de Tukey concluimos que existen diferencias significativas ($P \leq 0.05$), alcanzando mayor efectividad con la aplicación de Ozono Puro, que no registrando ningún cuarto infectado luego de su aplicación, lo que es muy importante tomar en cuenta pues a pesar de esto, además no deja residuos en la leche lo que hace que se pueda usar sin ningún tipo de problemas para el consumo humano y la elaboración de los diferentes derivados de la leche.

Cuadro 11. DETERMINACIÓN DE LA SENCIBILIDAD Y RESISTENCIA DE LAS BACTERIAS PATÓGENAS GRAM POSITIVAS PRESENTES EN LA LECHE DEL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI FCP ESPOCH

TRATAMIENTO	STAPHYLOCOCCUS SP.		STREPTOCOCCUS SP		COCO BACILOS G+		BACILLUS SP	
	SENSIBILIDAD	RESISTENCIA	SENSIBILIDAD	RESISTENCIA	SENSIBILIDAD	RESISTENCIA	SENSIBILIDAD	RESISTENCIA
Testigo	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00
Ozono puro	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
Ozono diluido	45,45	54,55	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
Penicilina	80,00	20,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00

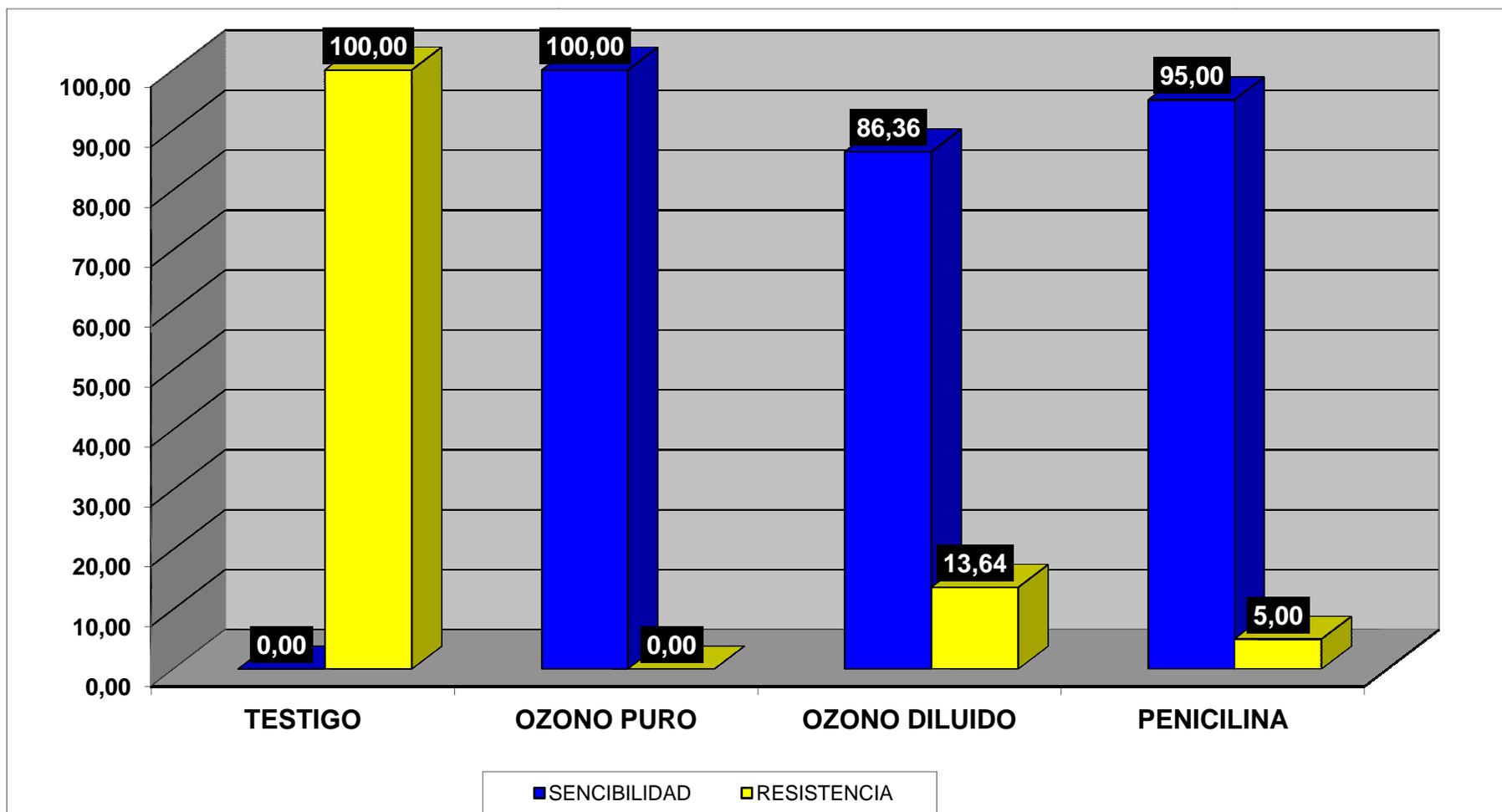


Gráfico 9 Determinación de la sensibilidad y resistencia de las bacterias patógenas Gram positivas presentes en la leche del hato de la Estación Experimental Tunshi FCP – ESPOCH

Esto concuerda con estudios personales realizados por (Castillo, P. 2005 y Chiriboga, M 2000). Cuadro 12.

A estos resultados, le sigue la Penicilina (Sódica), que muestra diferencias no significativas con el Ozono Puro, pues logra ubicarse en el mismo rango estadísticamente. No así en la práctica pues en este caso la Penicilina si deja residuos en la leche, hasta 3 días luego de su última aplicación, lo que no permite el consumo humano y la elaboración de ciertos productos lácteos.

A continuación el Ozono Diluido se ubica estadísticamente en el sitio tres con diferencia significativas en comparación con el resto de tratamientos, pues presentó mayor resistencia que el anterior. Como es lógico el Testigo se ubica en el último sitio práctica y estadísticamente. Cuadro 12.

F. EVALUACION ECONOMICA DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS APLICADOS A LAS VACAS SELECCIONADAS DEL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI FCP- ESPOCH

Como se observa en el Cuadro 13 el tratamiento más económico es el de Ozono Puro, seguido del Ozono Diluido y finalmente la Penicilina en el tratamiento de la mastitis subclínica. Con este estudio podemos decir sin lugar a dudas que por el lado estadístico y económico el Ozono Puro encabeza la lista de tratamientos económicos.

Cuadro 12. EVALUACION DE TRES TRATAMIENTOS CONTRA LA MASTITIS SUBCLINICA APLICADOS EN BASE A LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA DE CMT POST TRATAMIENTO, POR MEDIO DE LA PRUEBA DE TUKEY

PARAMETROS	TRATAMIENTOS				
	T1	T3	T2	T0	CV
Nº de observaciones	20	20	20	20	
Resultados del CMT los 8 días post aplicación	1,0 ^{dc}	1,2 ^c	1,8 ^b	3,0 ^a	0,14

Cuadro 13. EVALUACION ECONOMICA DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS APLICADOS A LAS VACAS SELECCIONADAS DEL LECHE DEL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI FCP- ESPOCH.

ANALISIS ECONOMICO					
OZONO PURO		OZONO DILUIDO		PENICILLINA	
Ozono	2,5	Ozono	2,5	Penicilina Sódica	5,8
Manzanilla	0,2	Agua Destililada	0,6		
		Manzanilla	0,2		
Total TRT/vaca	2,7	Total TRT /vaca	3,3	Total TRT /vaca	17,4
Perdida leche /vac.	2,5	Perdida leche/vaca	2,5	Perdida leche /vaca	2,5
Días de retiro	3	Días de retiro	3	Días de retiro	6
Tot. Perd. Leche/vaca	7,5	Tot. Perd. Leche/vac.	7,5	Tot. Perd. Leche/vac.	15
Tot. CMT/vaca	0.72	Tot. CMT /vaca	0.72	Tot. CMT /vaca	0.72
Total USD/ U.E.	10.92	Total USD/U.E.	11.52	Total USD/U.E.	33.12
U.E./ TRT	5	U.E./ TRT	5	U.E./ TRT	5
TOTAL USD/ U.E.	54,6	TOTAL USD/ U.E.	57,6	TOTAL USD/ U.E.	165,6

V. CONCLUSIONES

En función de los resultados obtenidos se puede anotar las siguientes conclusiones:

- La incidencia de mastitis subclínica determinada por el método California Mastitis Test (CMT) fue de 31.38%.
- El mayor número de cuartos infectados presentaron aquellos animales que se encontraban dentro del pico de producción, seguidos por aquellos animales que estaban produciendo pasado el año.
- Dentro de las bacterias patógenas causantes de la MSC con mayor frecuencia fueron las gram positivas dentro de estas las de mayor cantidad fueron los del genero *Staphylococcus sp* mientras que las gram negativas fueron del grupo *Cocos*.
- Con la aplicación del Ozono Puro, se tuvo mayor eficiencia que los demás en el control de bacterias Gram positivas y negativas, seguido de la Penicilina y luego el Ozono Diluido.
- El tratamiento más barato resultó ser el de Ozono Puro, seguido del Ozono Diluido y finalmente la Penicilina, pero con mejores resultados que la anterior.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar una capacitación a los trabajadores para que apliquen buenas prácticas de manejo al momento de realizar el ordeño.
- Para el tratamiento de la mastitis se recomienda aplicar Ozono Puro, debido a su mayor efectividad y menores costos sin dejar residuos en la leche.
- Realizar una nueva investigación de este tema, sustituyendo el agua de manzanilla con otro tipo de anti-inflamatorio, pues en este caso su insuflación provocó la precipitación de la leche por tres días post tratamiento debido al crecimiento de levaduras.
- Realizar previo al inicio de la investigación una prueba de identificación del agente causal, y una revisión de investigaciones anteriores en el mismo lugar, para poder elegir más acertadamente el antibiótico a utilizar, es decir destinado a Gram negativas o positivas.

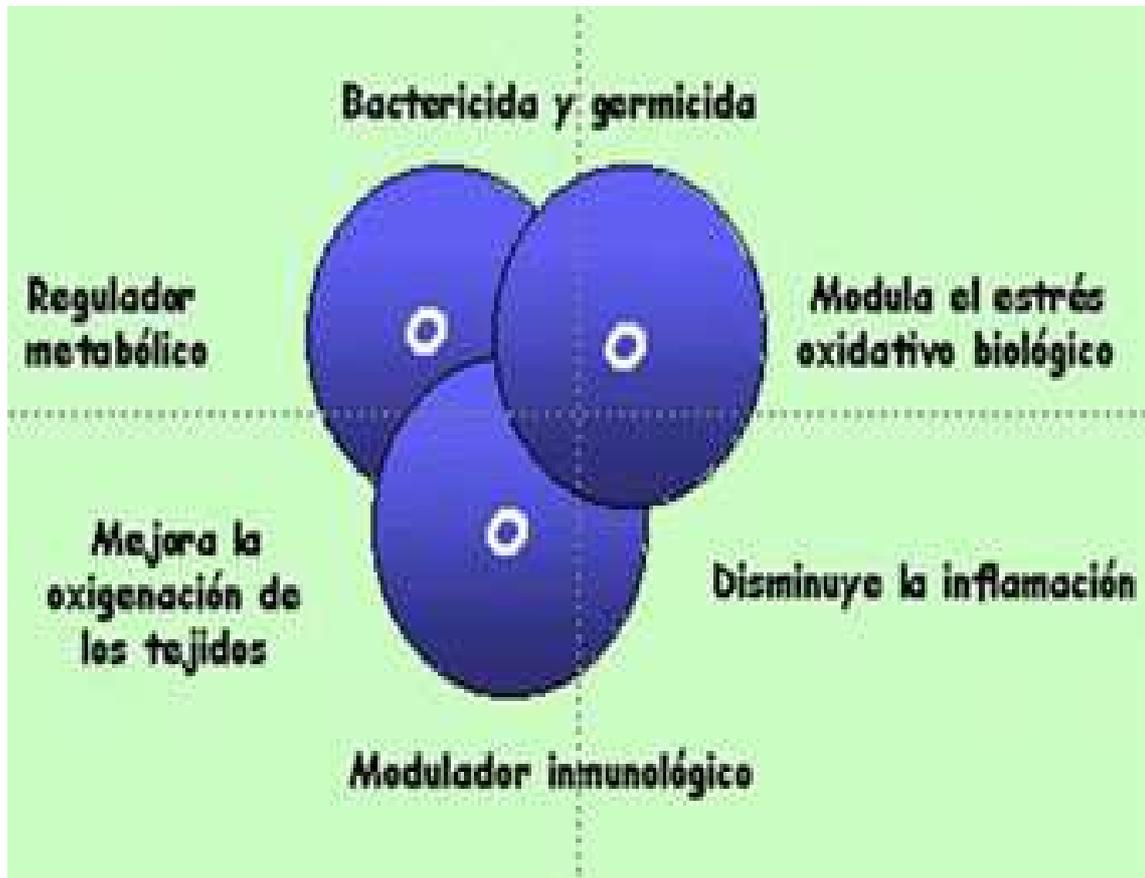
VII. LITERATURA CITADA

1. CASTILLO, P. 2005. Estudios personales particulares. Riobamba – Ecuador. pp. 4.
2. CHIRIBOGA, M. 2000. Estudios personales particulares. Quito – Ecuador. pp. 9.
3. HOYOS, L. 2002. Evaluación antimicrobial de 16 antibióticos genéricos para el control de mastitis y diarrea (de origen bacteriano) en bovinos. Tesis de Grado. FCP-ESPOCH. Riobamba-Ecuador. pp. 69.
4. http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy_essentials_spn_spn.htm. 1998. Wattiaux, M. La Mastitis.
5. http://www.engormix.com/s_ganaderia_leche.htm. 2007. Anónimo. El Ozono.
6. http://www.hcastane_cucba.udg.mx. 2005. Anónimo. Anatomía de la Glándula mamaria, fisiología y prevención de la mastitis.
7. <http://www.solomamitis.com/articulos/http.2002.Marechal.G>. 2002. Marechal, G. Diagnóstico y tratamiento de la mastitis.
8. <http://www.ozonoterapia.net/web/quees.htm>. 2006. Sala, E. La Ozonoterapia.
9. <http://www.saludparati.com/manzanilla.htm>. 2002. Anónimo. Propiedades y Aplicaciones de la Manzanilla.
10. <http://www.teknon.es/consultorio/riambau/ozono.htm>. 2005. Riambau, V. La Ozonoterapia.
11. KLEILSHROPH, E. 1991. La mastitis. 2a. ed. Bilbao-España. Edit. EDIMEL. pp. 9,25.

12. MARTÍN, M. 1998. Los antiinflamatorios en el tratamiento de la mastitis. sn. Quito – Ecuador. Edit Universitaria. pp. 23, 24, 25.
13. MENDEZ, J. 2000. Utilización de propóleos de abeja como antiparasitario para el tratamiento de mastitis subclínica en vacas lecheras. Tesis de Grado. FCP-ESPOCH. Riobamba-Ecuador. pp. 41, 43, 45, 46.
14. MERCK. 2000. Manual de Veterinaria. 5a ed. Barcelona – España. Edit. pp. 1965 -1972
15. NUÑEZ, O. 1996. Estudio comparativo de diferentes tratamientos contra la mastitis bovina utilizando la arteria aorta abdominal. Tesis de Grado. FCP-ESPOCH. Riobamba – Ecuador. pp. 47, 55.
16. PADILLA, E. 2006. Evolución de dos métodos de diagnóstico y tres tratamientos de la mastitis subclínica en bovinos de la estación experimental de Tunshi de la FCP-ESPOCH. Tesis de Grado. FCP-ESPOCH. Riobamba – Ecuador. pp. 56-79.
17. RUEGG, J. 2001. California, Principios y Bases para la prevención de mastitis. Universidad de California, Centro Medico Veterinario. California-Estados Unidos. pp. 5-7.
18. VADEMÉCUM. 2004. Vademécum Veterinário. 10a. ed. Quito – Ecuador. Edit. Edifarm. pp. 95, 96, 476.
19. YARDER, L. 2000. Terapia de Control de la mastitis en bovinos. Memorias del Seminario Internacional Holstein. Ambato-Ecuador. pp. 1-3.

ANEXOS

ANEXO 1. ESTRUCTURA DEL OZONO



ANEXO 2. INSTRUCCIONES DE USO DEL EQUIPO PRODUCTOR DE OZONO (SEGÚN SANITRON)

1. Ubicar el equipo en forma vertical.
2. Conectar la manguera de transmisión de ozono (lateral).
3. Ubicar la perilla de control de ozono en el nivel 10.
4. Activar el encendido general (luz roja).
5. Activar el intermatic.
6. Encender el automan (producción de ozono).

NOTA: En el nivel 10 de la perilla de control del ozonificador se produce 10cc/segundo de ozono.

ANEXO 3. INSIDENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA DEL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI MEDIANTE LA PRUEBA DE CMT

#	# DE ARETE	FECHA DE NACIMIENTO	FECHA ULTIMO PARTO	CUARTOS				OBS.
				IZQUIERDO		DERECHO		
				DELANTERO	TRASERO	DELANTERO	TRASERO	
1	157	1-Jun-97	9-Oct-06	+	-	++	+	selección
2	160	3-May-97	12-May-06	T	+	T	T	
3	222	1-Ene-95	26-Ene-06	T	T	T	T	
4	234	3-Ene-96	21-Jun-06	+	+	+	++	selección
5	238	1-May-96	31-Dic-06	-	+	++	++	selección
6	242	7-Jul-96	27-Jun-06	+	T	+	++	selección
7	244	7-Jul-96	26-May-05	++	+	T	T	selección
8	273	28-Nov-97	6-Dic-05	T	T	T	T	
9	278	5-Dic-97	16-Jun-05	T	-	+	++	selección
10	280	2-Mar-98	9-Nov-06	T	T	-	T	
11	282	2-Mar-98	7-Ene-07	T	T	T	T	
12	285	2-Jun-98	21-Feb-07	T	T	T	T	
13	291	11-Nov-98	4-Ene-07	-	++	++	++	selección
14	296	2-Jun-98	20-Feb-07	T	T	T	T	
15	305	4-Abr-99	21-Ene-06	+	CP	-	+	
16	311	1-Ago-99	11-Feb-07	T	T	T	T	
17	312	20-Sep-99	26-Jun-06	+++	++	+++	++	selección
18	314	13-Nov-99	2-Feb-06	-	T	T	CP	
19	336	31-Oct-00	20-Dic-06	T	++	T	+	selección
20	341	18-Nov-00	29-Ene-07	-	T	++	++	selección
21	347	9-Abr-01	30-Jun-06	T	T	T	T	
22	355	29-May-01	22-Sep-06	T	T	T	T	
23	356	8-Jun-01	15-Ago-06	++	+	+	+	selección
24	362	7-Ago-01	8-Mar-07	T	T	+	++	selección
25	365	28-Ago-01	6-Ene-07	T	T	CP	T	
26	371	14-Oct-01	4-Sep-06	T	T	+	T	
27	372	17-Oct-01	8-Ene-07	-	-	T	-	
28	378	22-Mar-02	30-Oct-06	T	T	-	-	
29	380	14-Jul-02	15-Feb-07	T	T	T	T	
30	386	6-Sep-02	22-Ene-07	++	T	T	++	selección
31	390	13-Nov-02	30-Ago-05	+	+	+	++	selección
32	393	7-Mar-03	4-Jun-05	T	T	T	T	
33	394	29-Mar-03	9-Jul-06	-	++	T	++	selección
34	395	20-Abr-03	28-Dic-06	T	T	T	+	
35	396	22-Abr-03	25-Mar-06	T	T	+	T	
36	398	14-Jun-03	21-Oct-05	-	T	T	++	
37	399	7-Jun-03	13-Feb-07	T	T	T	T	
38	400	20-Jun-03	24-May-05	+	+	+++	++	selección
39	405	8-Ago-03	30-Mar-06	T	+	T	+	
40	406	4-Jun-03	29-Ago-06	T	T	T	T	

41	408	21-Ene-04	28-Jun-06	+	+	T	T	
42	409	10-Feb-04	13-Nov-06	T	T	+++	T	selección
43	410	24-Feb-04	4-Nov-06	T	++	+	+++	selección
44	411	28-Feb-04	4-Ene-07	-	T	++	+	selección
45	413	1-Mar-04	10-Dic-06	T	T	T	T	
46	415	13-Mar-04	4-Feb-07	T	T	T	T	
47	417	19-Abr-04	10-Mar-07	T	T	T	T	
48	418	8-May-04	8-Ene-06	T	T	T	T	
49	422	26-Jul-04	19-Dic-06	-	+++	T	T	selección
50	423	10-Ago-04	9-Ene-07	T	T	T	T	
51	424	10-Ago-04	14-Ene-07	T	T	T	T	

RESULTADOS	CUARTOS				TOT .	% TOTAL	# VACAS
	IZQUIERDO		DERECHO				
	DELANTERO	TRASERO	DELANTERO	TRASERO			
-	9	3	3	2	17	8,33	4
TRAZAS (T)	31	32	30	27	120	58,82	30
+	7	9	9	7	32	15,69	8
++	3	5	5	13	26	12,75	7
+++	1	1	3	1	6	2,94	2
CUARTOS PERDIDOS (CP)	0	1	1	1	3	1,47	1
TOTAL	51	51	51	51	204	100,00	51,00

DE VACAS
EXAMINADAS 51

DE VACAS CON
MASTITIS SUBCLINICA 16

DE CUARTOS
EXAMINADOS 201

DE CUARTOS CON
MASTITIS SUBCLINICA 64

ANEXO 4.BACTERIAS CAUSANTES DE LA MASTITIS SUBCLINICA EN EL HATO DE TUNSHI LAS VACAS SELECCIONADAS

VACA ARETE Nº	CUARTO	COLOR DE LA COLONIA	HAEMOLISIS	DIAMETRO DE LA COLONIA	FORMA	TINCION GRANM	IDENTIFICACION
157	AI	A) Crema	-	0,5 a 1	Redondo	-	Cocos
		B) Amarilla	α	3	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	AD	A) Crema	β	2 A 3	Redondo	-	Cocos
		B) Amarilla	α	1 a 3	Redondo	+	Staphylococcus sp.
234	AI	A) Crema	-	1	Redondo	-	Cocos
		B) Amarilla	α	1 a 2	Redondo	+	Coco bacilo G+
	PI	A) Crema	-	1 a 2	Redondo	-	Cocos
		B) Marron	-	1 a 3	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	AD	A) Crema	-	0,5 a 2	Redondo	-	Cocos
		B) Marron	β	3	Irregular	-	Cocos
	PD	A) Crema	β	0,5 a 2	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		B) Amarilla	-	0,5 a 1	Redondo	-	Cocos
238	PI	Crema	-	0,5 a 1	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	AD	A) Crema	-	1 a 2	Redondo	+	Streptococcus sp
		B) Amarilla	α	4	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	PD	Crema	-	3	Redondo	-	Bacilo G-
	AI	Crema	-	0,5 a 5	Redondo	-	Bacilo G-
242	PI	Crema	-	1	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		A) Crema	-	2	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	AD	B) Amarilla	α	3	Redondo	+	Coco bacilo G+
		C) Marron	β	3	Redondo	+	Streptococcus sp
	PD	A) Crema	-	0,5 a 3	Redondo	+	Bacillus sp
		B) Amarilla	-	0,5 a 1	Redondo	+	Staphylococcus sp.

244	AI	A) Crema	-	1	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		B) Amarilla	α	3	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		C) Marron	-	1	Redondo	-	Bacilo G-
278	PI	Crema	-	1 a 3	Redondo	-	Cocos
	AI	Amarilla	-	2a 4	Redondo	-	Cocos
	AD	A) Crema	-	1,5 a 2	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		B) Café	α	3	Redondo	-	Cocos
	PD	A) Crema	-	0,5 a 2	Redondo	-	Bacilo G-
		B) Amarilla	α	3	Redondo	+	Staphylococcus sp.
291	PI	C) Marron	-	1 a 1,5	Redondo	-	Bacilo G-
		Negro	α	0,5 a 1	Redondo	-	Cocos
	AD	Crema	-	1 A 2	Redondo	-	Bacilo G-
	PD	A) Amarilla	-	2	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		B) Negro	-	0,5 a 1	Redondo	-	Cocos
	AI	A) Crema	-	0,5	Redondo	-	Cocos
B) Café		-	0,5	Redondo	+	Staphylococcus sp.	
312	PI	Crema	-	0,5 a 1	Redondo	-	Cocos
	AD	Crema	-	1 a 2	Redondo	-	Cocos
	PD	Crema	-	1 a 2	Redondo	-	Cocos
336	PI	Crema	-	1 a 1,5	Redondo	-	Cocos
	PD	Crema	-	1 a 2	Redondo	-	Cocos
341	AD	A) Crema	-	0,5 a 2	Redondo	-	Bacilo G-
		B) Crema	α	1	Redondo	-	Cocos
	PD	C) Amarilla	α	2 a 3	Redondo	+	Staphylococcus sp.
356	PD	Crema	-	1	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		A) Amarilla	α	2,5	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	AI	B) Café	α	2,5	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		C) Café	-	1,5	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	PI	Crema	-	2	Redondo	+	Staphylococcus sp.

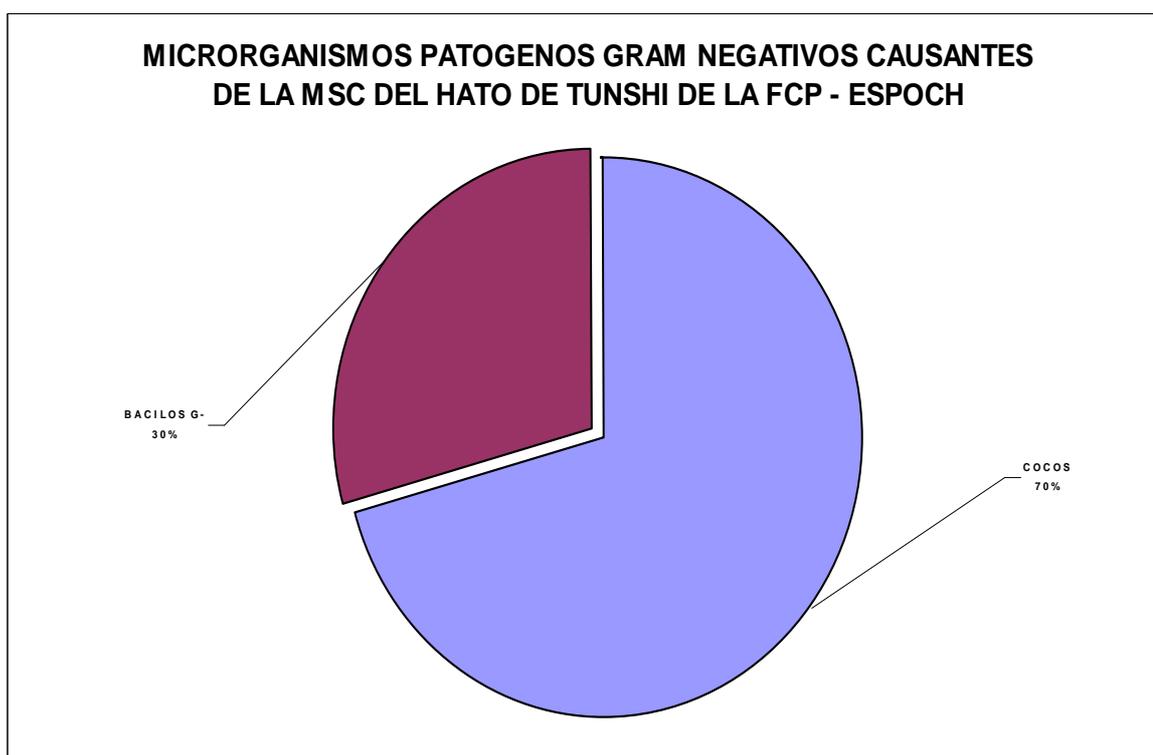
	AD	Crema	-	1 a 2	Redondo	-	Cocos
	PD	Café	-	2	Redondo	+	Staphylococcus sp.
362	AD	Marron	-	1	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	PD	Marron	-	2	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	AI	Crema	-	0,5	Redondo	-	Cocos
386	PD	A) Crema	-	1 a 1,5	Redondo	+	Coco bacilo G+
		B) Café	-	2	Redondo	-	Cocos
	AI	A) Crema	-	0,5	Redondo	-	Bacilo G-
		B) Marron	-	0,5 a 5	Redondo	-	Cocos
	PI	A) Crema	-	1 a 4	Redondo	+	Staphylococcus sp.
390		B) Amarilla	α	2	Redondo	-	Cocos
	AD	Crema	-	1 a 3	Redondo	-	Cocos
	PD	A) Crema	-	1 a 2	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		B) Amarilla	α	1	Redondo	-	Bacilo G-
	PI	Crema	-	3 a 4	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	AD	A) Crema	-	0,5 a 1	Redondo	+	Staphylococcus sp.
394		B) Café	-	1,5	Redondo	+	Streptococcus sp
	PD	A) Crema	-	1,5 a 3	Redondo	-	Cocos
		B) Amarilla	α	3 a 3,5	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	AI	A) Crema	-	0,5	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		B) Amarilla	α	3	Redondo	-	Cocos
	PI	A) Crema	-	1 a 4	Redondo	+	Staphylococcus sp.
400		B) Crema	α	1 a 2	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		C) Amarilla	α	2 a 3	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	AD	A) Crema	-	1	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		B) Amarilla	α	1 a 3	Redondo	+	Staphylococcus sp.
	PD	Crema	-	0,5 a 6	Redondo	-	Bacilo G-
409	AD	A) Crema	-	1 a 2	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		B) Amarilla	α	1 a 3	Redondo	+	Staphylococcus sp.

410	PI	C) Negro	-	1 a 3	Irregular	-	Bacilo G-
		A) Crema	-	0,5 a 1	Redondo	+	Bacillus sp
		B) Amarilla	β	2	Redondo	-	Cocos
	AD	A) Crema	-	1 a 3	Redondo	+	Staphylococcus sp.
		B) Crema	α	1 a 3	Redondo	-	Cocos
	PD	A) Crema	-	0,5 a 3	Redondo	-	Cocos
B) Amarilla		β	0,5 a 2	Redondo	-	Cocos	
C) Marron		-	3	Irregular	-	Bacilo G-	
411	AD	A) Crema	-	1	Redondo	-	Bacilo G-
		B) Amarilla	α	2	Redondo	-	Cocos
	PD	A) Crema	-	1	Redondo	-	Bacilo G-
422	PI	B) Crema	α	3 a 4	Redondo	+	Streptococcus sp
		Crema	-	1 a 2	Redondo	+	Streptococcus sp

ANEXO 5. BACTERIAS GRAM NEGATIVOS CAUSANTES DE LA MASTITIS SUBCLINICA EN EL HATO DE TUNSHI LAS VACAS SELECCIONADAS

MICROORGANISMOS PATOGENOS GRAM NEGATIVOS CAUSANTES DE LA MSC EN EL HATO DE TUNSHI DE LA FCP - ESPOCH

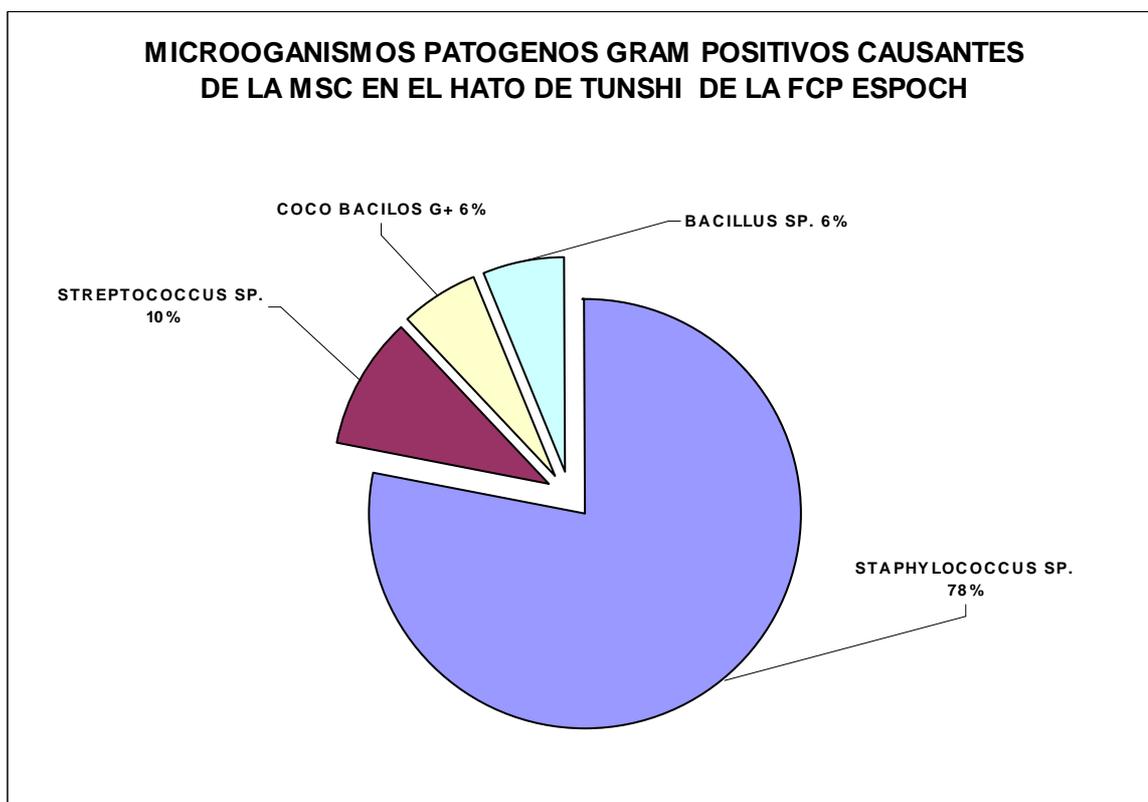
TIPOS DE BACTERIAS	Nº DE CAMPOS ENCONTRADOS	% DE CAMPOS ENCONTRADOS
Cocos	31	70,45
Bacilos g-	13	29,55
TOTAL	44	100



ANEXO 6. BACTERIAS GRAM POSITIVOS CAUSANTES DE LA MASTITIS SUBCLINICA EN EL HATO DE TUNSHI LAS VACAS SELECCIONADAS

MICROORGANISMOS PATOGENOS GRAM POSITIVOS CAUSANTES DE LA MSC EN EL HATO DE TUNSHI DE LA FCP - ESPOCH

TIPOS DE BACTERIAS	Nº DE CAMPOS ENCONTRADOS	% DE CAMPOS ENCONTRADOS
Staphylococcus sp.	39	78,00
Streptococcus sp.	5	10,00
Coco bacilos g+	3	6,00
Bacillus sp.	3	6,00
TOTAL	50	100



ANEXO 7. RESULTADOS DEL CMT POST TRATAMIENTO EN EL HATO DE TUNSHI LAS VACAS SELECCIONADAS

#	# DE ARETE	CUARTOS				OBSERVACIONES
		IZQUIERDO		DERECHO		
		DELANTERO	TRASERO	DELANTERO	TRASERO	
1	234	-	-	T	T	
2	238	-	-	T	T	
3	244	T	T	-	-	
4	312	T	T	T	T	
5	409	-	-	T	T	
6	336	-	+	T	T	
7	356	T	T	T	T	
8	390	T	T	T	+	
9	394	T	+	T	+	
10	410	T	+	T	+	
11	341	-	-	-	T	
12	362	-	-	-	T	
13	386	-	-	-	T	
14	400	T	T	+	+	
15	422	-	T	-	-	

RESULTADOS	CUARTOS				TOTAL	# DE VACAS
	IZQUIERDO		DERECHO			
	DELANTERO	TRASERO	DELANTERO	TRASERO		
-	8	6	5	2	21	5
Trazas (t)	7	6	9	9	31	8
+	0	3	1	4	8	2
++	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0
Cuartos perdidos	0	0	0	0	0	0
TOTAL	15	15	15	15	60	15

ANEXO 8. RESULTADOS DE LA RESISTENCIA Y SENCIBILIDAD DE LAS BACTERIAS EN LA LECHE DE LAS VACAS SELECCIONADAS

	BACTERIAS	Ozono puro	Ozono diluido	Penicilina	Testigo
ANTES	Staphylococcus sp.	9	11	10	8
	Streptococcus sp.	1	1	1	2
	Coco bacilo G+	1	0	1	1
	Bacillus sp.	0	1	0	1
	Cocos	10	11	4	7
	Bacilo G-	3	3	2	6
	Total	24	27	18	25

	BACTERIAS	Ozono puro	Ozono diluido	Penicilina	Testigo
DESPUES	Staphylococcus sp.	0	6	2	8
	Streptococcus sp.	0	0	0	2
	Coco bacilo G+	0	0	0	1
	Bacillus sp.	0	0	0	1
	Cocos	0	0	0	7
	Bacilo G-	0	0	0	6
	Total	0	6	2	25

% DE RESISTENCIA AL AGENTE CAUSAL POST TRATAMIENTO

RESISTENCIA	Staphylococcus sp.	0,00	54,55	20,00	100,00
	Streptococcus sp	0	0,00	0,00	100,00
	Coco bacilo G+	0	0,00	0,00	100,00
	Bacillus sp	0	0,00	0,00	100,00
	Cocos	0	0,00	0,00	100,00
	Bacilo G-	0	0,00	0,00	100,00

% DE SENCIBILIDAD AL AGENTE CAUSAL POST TRATAMIENTO

SENCIBILIDAD	Staphylococcus sp.	100,00	45,45	80,00	0,00
	Streptococcus sp	100,00	100,00	100,00	0,00
	Coco bacilo G+	100,00	100,00	100,00	0,00
	Bacillus sp	100,00	100,00	100,00	0,00
	Cocos	100,00	100,00	100,00	0,00
	Bacilo G-	100,00	100,00	100,00	0,00

ANEXO 9. ANÁLISIS DE LA ADEVA DE LOS TRATAMIENTOS APLICADOS A LAS VACAS LECHERAS SELECCIONADAS DEL HATO DE TUNSHI FCP - ESPOCH

REPETICION	TRATAMIENTOS				TOTAL
	T0	T1	T2	T3	
R1	3	1	2	1	7
R2	3	1	1	1	6
R3	3	1	2	1	7
R4	3	1	2	2	8
R5	3	1	2	1	7
TOTAL	15,00	5,00	9,00	6,00	35,00
PROMEDIO	3,00	1,00	1,80	1,20	1,75
TRAT (a)	4				
REP. (n)	5				
FC	61,25				
SC TOTAL	13,75				
SC TRAT.	12,15				
SC ERROR	1,60				

FACTOR DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	FACTOR DE CORRECCION	0,05	F	0,01
TOTAL	19	13,75	0,72				
TRATAMIENTO	3	12,15	4,05	40,50	3,24	5,29	
ERROR	16	1,60	0,10				
	CV	0,18	18%	(<20= CONFIABLE)		5%	
TUKEY =	D=	Q x Sx		Sx=	0,14	Q=	4,05
	D=	0,57					
TRT	T1	T3	T2	T0			
PROMEDIOS	1,00	1,20	1,80	3,00			
D	0,57	0,57	0,57	0,57			
RANGO	dc	c	b	a			

ANEXO 10. ANÁLISIS ECONÓMICO DE LOS TRATAMIENTOS APLICADOS A
 LAS VACAS LECHERAS SELECCIONADAS DEL HATO DE TUNSHI
 FCP – ESPOCH

OZONO PURO		OZONO DILUIDO		PENICILLINA	
Ozono	2,5	Ozono	2,5	Penicilina sódica	5,8
Manzanilla	0,2	Agua destilada	0,6	Total TRT/vaca	17,4
Total TRTt/vaca	2,7	Manzanilla	0,2		
		Total TRT/vaca	3,3		
Perdida leche /vaca.	2,5	Perdida leche/vaca	2,5	Perdida leche /vaca	2,5
Días de retiro	3	Días de retiro	3	Días de retiro	6
Tot. Perd. Leche/vac.	7,5	Tot. Perd. Leche/vac.	7,5	Tot. Perd. Leche/vac.	15