



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



**Valoración del estado microbiológico de los agentes causales de mastitis presentes en el hato
de la Hacienda El Prado – IASA I**

Untuña Morocho, Daniela Carolina

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Dr. Ron Román, Jorge Washington, MSc.

15 de agosto del 2023



INTRODUCCIÓN



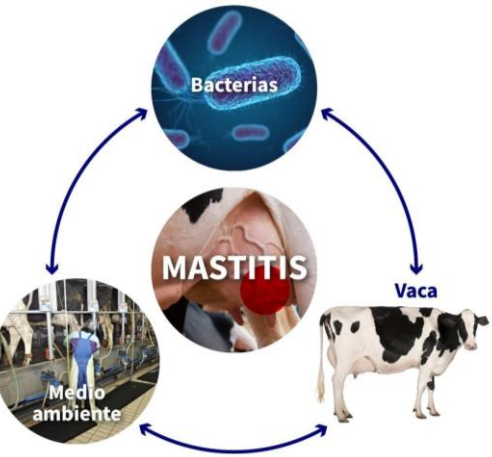
Mastitis bovina

Patología de origen multifactorial

Provocada por microorganismos del ambiente externo y se desarrolla en las glándulas mamarias

Antibioresistencia amoxicilina, ampicilina, penicilina, estreptomycin y lincomicina

- Staphylococcus aureus
- Streptococcus agalactiae
- Streptococcus uberis
- Staphylococcus epidermidis
- Staphylococcus pasteurii
- Streptococcus dysgalactiae
- Streptococcus agalactiae
- Escherichia coli



(San Martin et al., 2002)

JUSTIFICACIÓN

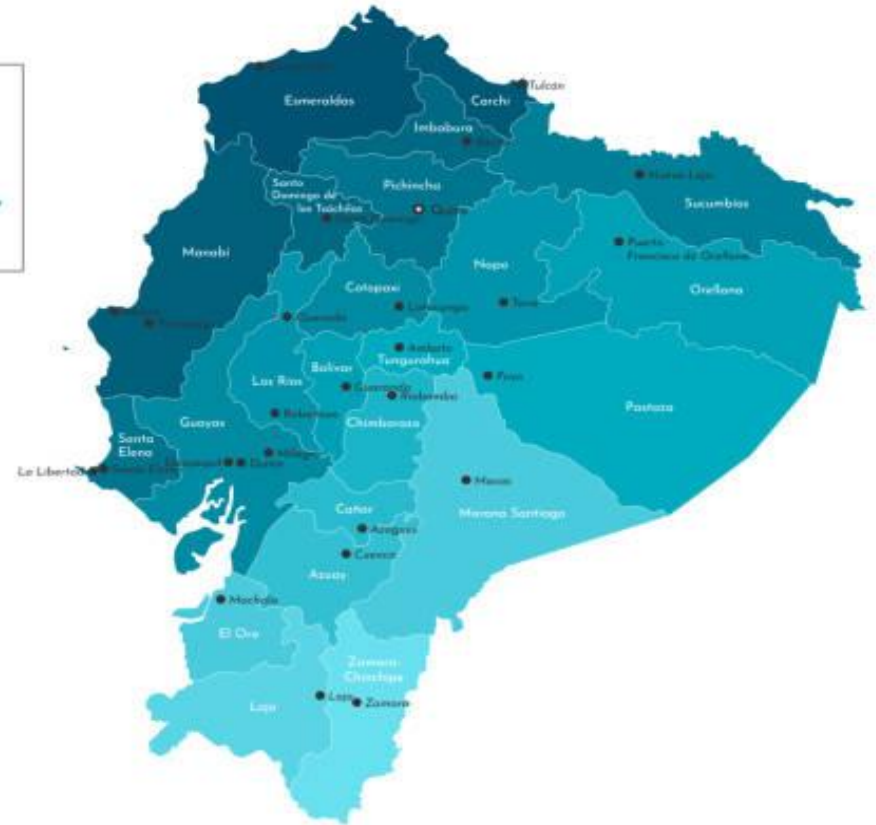
Mastitis Bovina

La prevalencia de mastitis en el Ecuador es del 80% y en la provincia de Pichincha es del 64%

Económico disminuye la calidad de leche y su producción

Difícil tratamiento y erradicación.

Mal uso de los antibióticos



Ecuador



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Objetivo general

Valorar el estado microbiológico de los agentes causales de mastitis presentes en el hato de la Hacienda El Prado, de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

Objetivos específicos

Identificar a través de pruebas bioquímicas y pruebas API (Índice de perfil analítico) los agentes causales, en vacas con mastitis sub clínica, pre y pos aplicación de dos antibióticos (Cloxacilina benzatina y amoxicilina).

Evaluar la resistencia de agentes causales, frente a cinco antibióticos (Cefalaxina, ceftiofur, cloxacilina, novobiocin y oxytetraciclina) utilizados para el tratamiento de mastitis, a través de la técnica de halos de inhibición.

H0: No existe diferencia de distribución de agentes causales de mastitis y su antibiograma resistencia, en vacas con y sin tratamiento en la Hacienda El Prado.

H1: Si existe diferencia de distribución de agentes causales de mastitis y su antibiograma resistencia, en vacas con y sin tratamiento en la Hacienda El Prado.

MARCO TEÓRICO

Mastitis bovina

Tipos de mastitis y Métodos de Detección

Mastitis Subclínica
(California Mastitis Test)

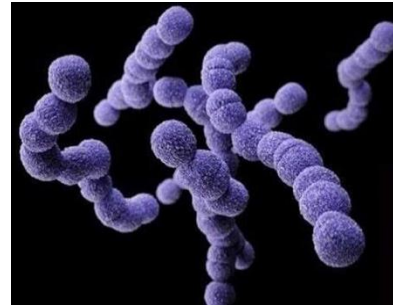


Mastitis Clínica
(Células Somáticas)

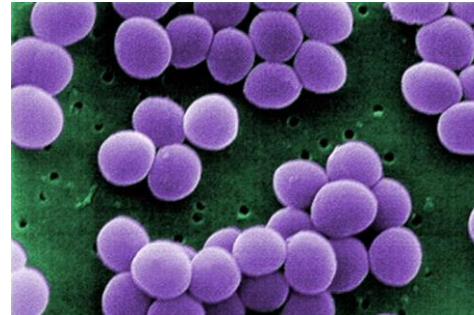


Agentes Causales

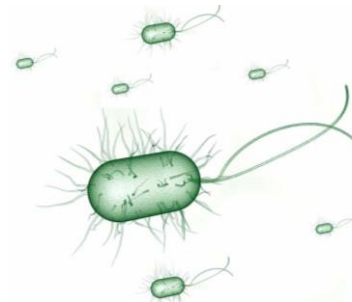
Estreptococo



Estafilococ

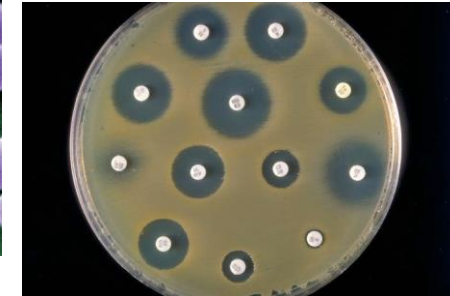


Escherichia coli



Identificación de Agentes Causal

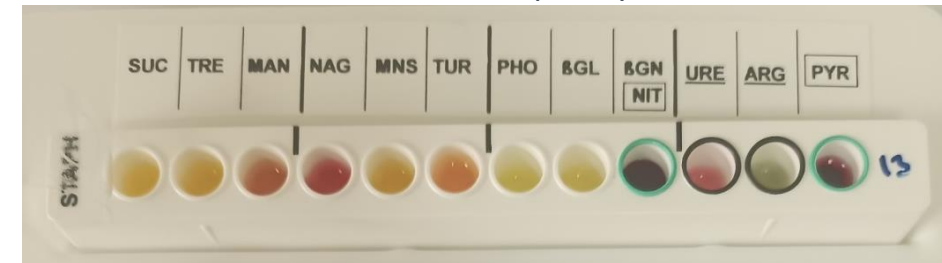
Antibiogramas



Aislamiento Microbiológico



Índice de Perfil Analítico (API)



MATERIALES Y MÉTODOS

Localización



Fase de campo

Pichincha –
Sangolquí-
Hacienda “El
Prado “

Fase de laboratorio

Laboratorio de
mejoramiento
genético y
sanidad animal
de la carrera de
la Ingeniería
Agropecuaria.

Descripción del hato



- Holstein Friesian x Montbeliarde
- Total animals: 209
 - 77 en rejo
 - 27 preñadas
 - 16 inseminadas
 - 34 vacías
 - 8 vacas en producción
 - 8 vacas en seco

Tratamientos

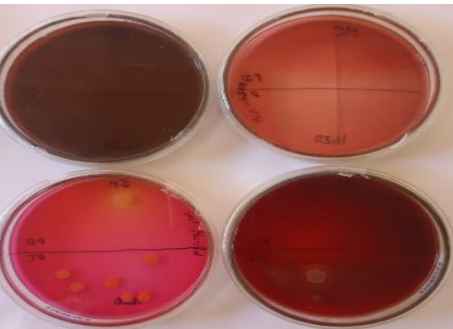
Nº	Descripción
T1	Vacas en producción con aplicación del protocolo (1-3 partos)
T2	Vacas en producción sin aplicación del protocolo (1-3 partos)
T3	Vacas en producción con aplicación del protocolo (4-6 partos)
T4	Vacas en producción sin aplicación del protocolo (4-6 partos)
T5	Vacas al secado con aplicación del protocolo (1-3 partos)
T6	Vacas al secado sin aplicación del protocolo (1-3 partos)
T7	Vacas al secado con aplicación del protocolo (4-6 partos)
T8	Vacas al secado sin aplicación del protocolo (4-6 partos)



Recolección de muestras



Aislamiento de agentes



Siembra en medios selectivos



Aislamiento de cultivos puros



Pruebas bioquímicas



Pruebas API



Antibiogramas

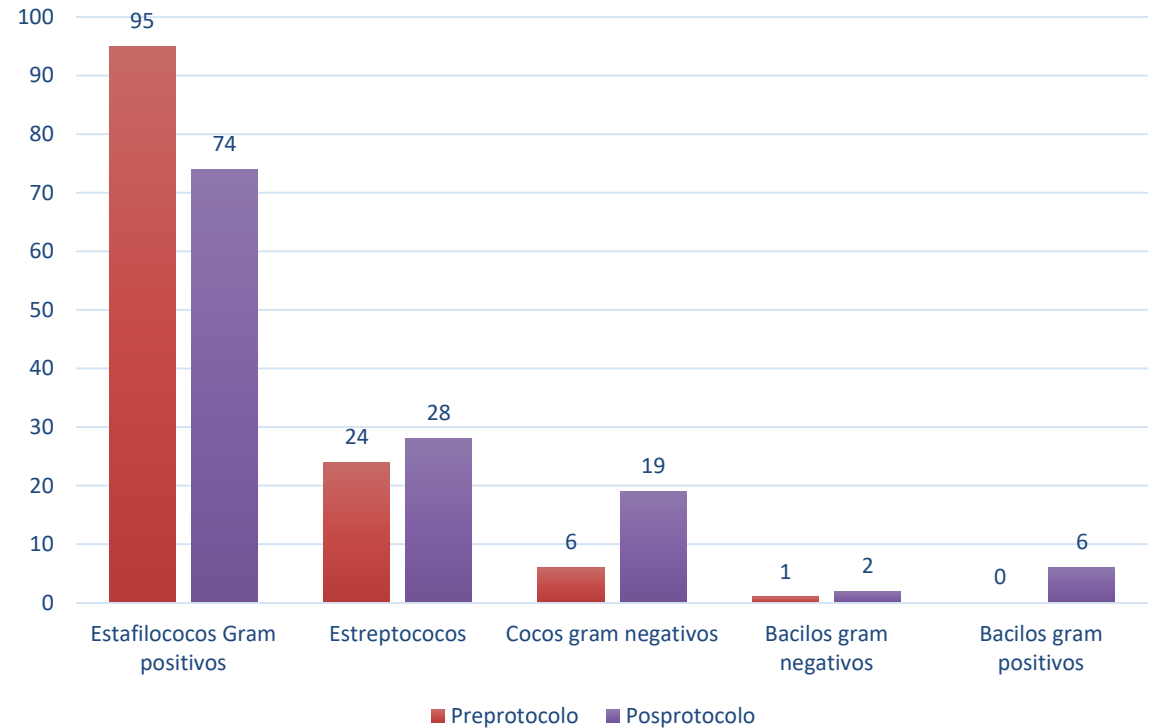
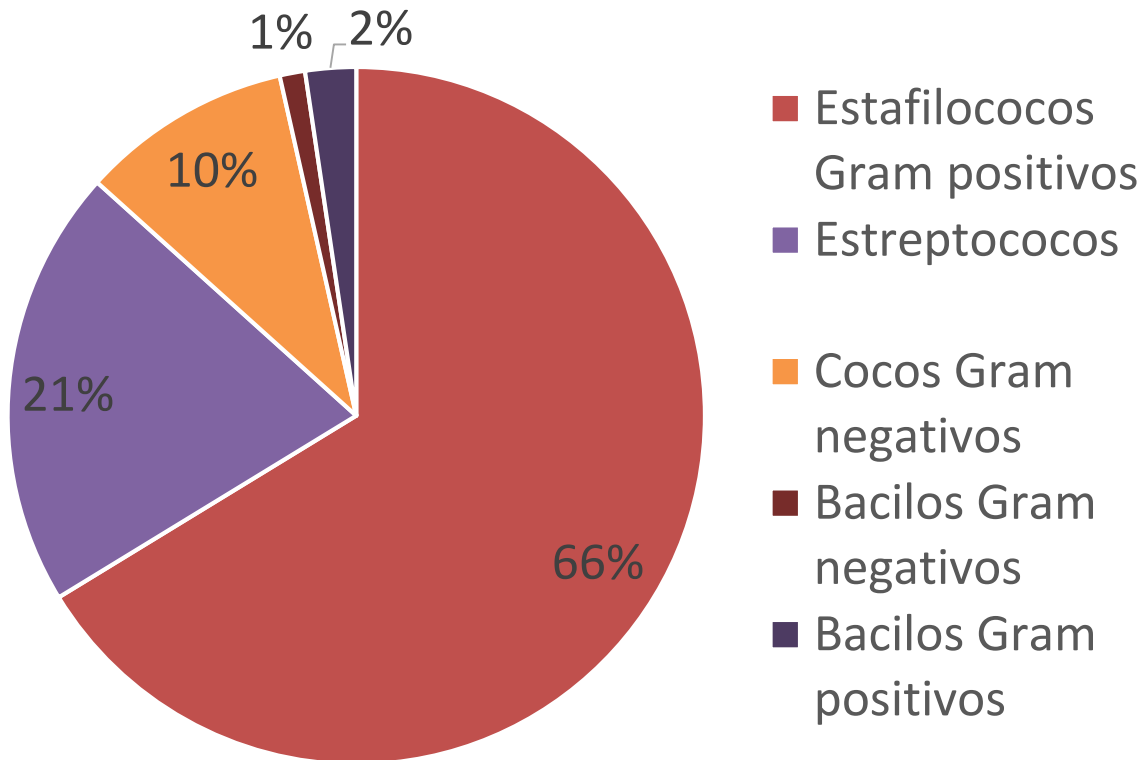


Pruebas bioquímicas
Catalasa
Coagulasa
ADNasa
Agar sangre
Agar Sal manitol
Medio Maltosa

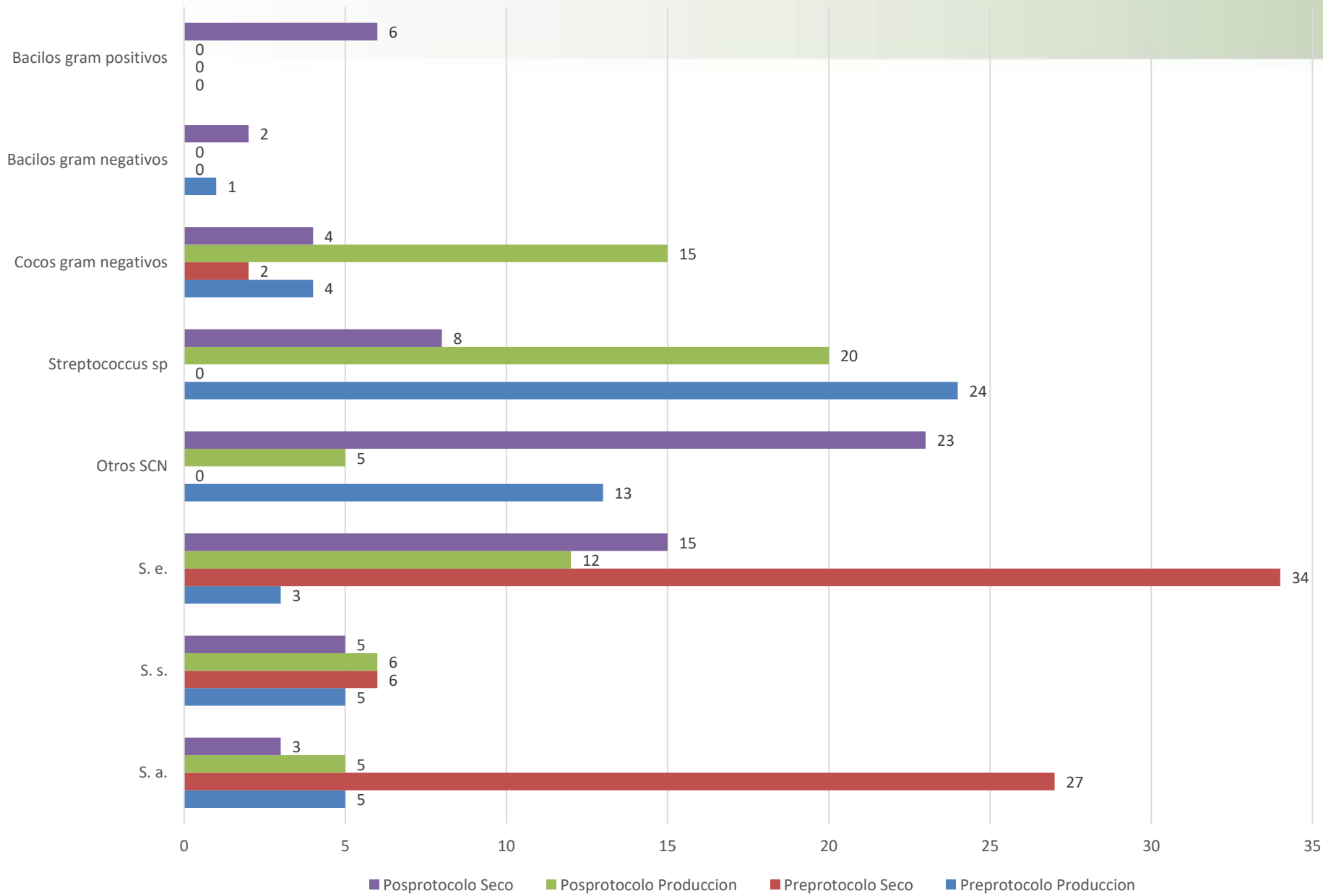
Pruebas API
Microgen Staph-ID System
Microgen® STREP-ID



Aislamiento de microorganismos



De los 255
aislamientos 169
fueron Estafilococos
Gram positivos



Staphylococcus aureus, el principal agente causal de mastitis se encontró en un 23,67%

RESULTADOS y DISCUSIÓN

Ranks \pm desviación estándar de la cantidad de *Estafilococos Gram +* encontrados en los diferentes tratamientos pre y pos protocolo.

Protocolo	Tratamiento	Numero de microorganismos	
Pre	T1	45,12 \pm 0,51	AB
	T3	57,07 \pm 0,51	ABC
	T5	84,50 \pm 0,00	C
	T7	81,72 \pm 0,21	C
	T2	51,28 \pm 0,51	A
	T4	59,79 \pm 0,51	AB
	T6	83,66 \pm 0,23	BC
	T8	87,00 \pm 0,00	C
Pos	T1	37,95 \pm 0,46	A
	T3	63,17 \pm 0,49	ABC
	T5	78,40 \pm 0,30	C
	T7	70,79 \pm 0,43	BC
	T2	46,18 \pm 0,50	A
	T4	61,60 \pm 0,51	AB
	T6	39,38 \pm 0,46	A
	T8	62,15 \pm 0,50	AB

Protocolo	Tratamiento	Numero de microorganismos	
Pre	T1	60,92 \pm 0,28	A B
	T3	56,00 \pm 0,00	A
	T5	70,22 \pm 0,44	A B
	T7	83,83 \pm 0,51	A B
	T2	56,97 \pm 0,25	A
	T4	66,61 \pm 0,43	A
	T6	73,05 \pm 0,48	A
	T8	81,22 \pm 0,51	A
Pos	T1	58,91 \pm 0,21	A
	T3	56,00 \pm 0,00	A
	T5	65,14 \pm 0,36	A B
	T7	56,00 \pm 0,00	A
	T2	62,07 \pm 0,36	A
	T4	61,47 \pm 0,35	A
	T6	53,00 \pm 0,00	A
	T8	53,00 \pm 0,00	A

PROTOCOLO	PRODUCCION	MICROORGANISMO	
		PRUEBAS BIOQUIMICAS	PRUEBAS API
PRE	SECO	Streptococcus sp	Streptococcus agalactiae
PRE	PRODUCCIÓN	Streptococcus sp	Streptococcus agalactiae
PRE	SECO	Staphylococcus epidermidis	Staphylococcus epidermidis
PRE	PRODUCCIÓN	Staphylococcus epidermidis	Staphylococcus epidermidis
PRE	SECO	Staphylococcus saprophyticus	Staphylococcus saprophyticus
PRE	PRODUCCIÓN	Staphylococcus aureus	Staphylococcus aureus
PRE	SECO	Staphylococcus aureus	Staphylococcus aureus
PRE	PRODUCCIÓN	Staphylococcus saprophyticus	Staphylococcus saprophyticus
POS	SECO	Streptococcus sp	Streptococcus uberis
POS	PRODUCCIÓN	Streptococcus sp	Streptococcus dysgalactiae
POS	SECO	Staphylococcus sp	Staphylococcus simulans
POS	PRODUCCIÓN	Staphylococcus sp	Staphylococcus warneri
POS	SECO	Staphylococcus sp	Staphylococcus simulans
POS	PRODUCCIÓN	Staphylococcus saprophyticus	Staphylococcus saprophyticus
POS	SECO	Staphylococcus aureus	Staphylococcus aureus
POS	PRODUCCIÓN	Staphylococcus aureus	Staphylococcus aureus

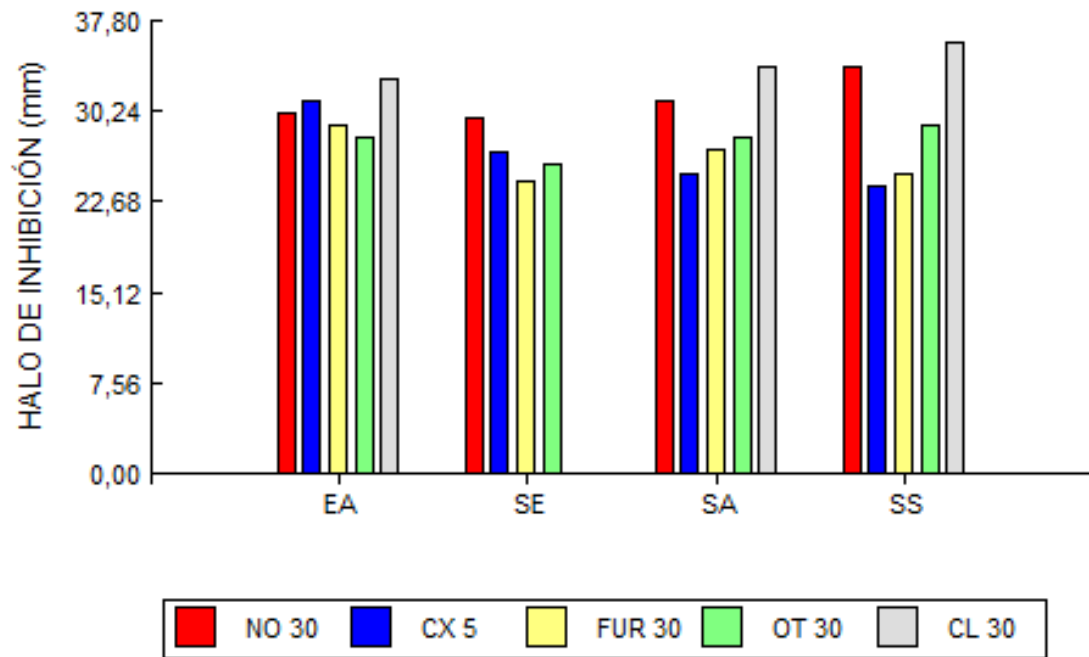
RESULTADOS y DISCUSIÓN

Al momento de identificar los microorganismos aislados se pudo corroborar por medio de pruebas API a Estafilococos específicos (Microgen Staph-ID System) e identificar otros como causantes de mastitis que son *Staphylococcus simulans* y *Staphylococcus warneri*

Al identificar Estreptococos (Microgen® STREP-ID) se pudo identificar a *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus uberis* causantes de mastitis

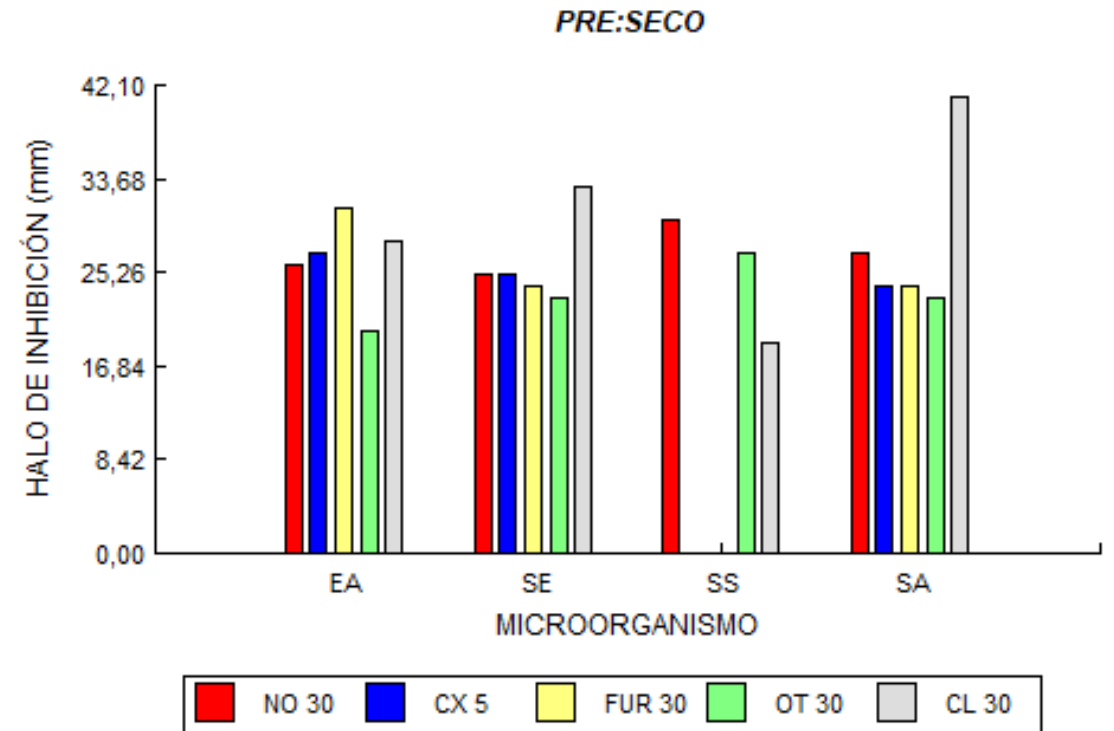
RESULTADOS y DISCUSIÓN

Halo de inhibición de 5 antibióticos ante los microorganismos identificados, preprotocolo en vacas en producción positivas a mastitis en La Hacienda El Prado – IASA I



EA: *Streptococcus agalactiae*; SE: *Staphylococcus epidermis*; SA: *Staphylococcus aureus*; SS: *Staphylococcus saprophyticus*. NO 30: Novobiocin (30 µg); Cloxacilina (5 µg); FUR 30: Ceftiofur (30 µg); OT 30: Oxitetracilina (30 µg); CL 30: Cefalaxina (30 µg).

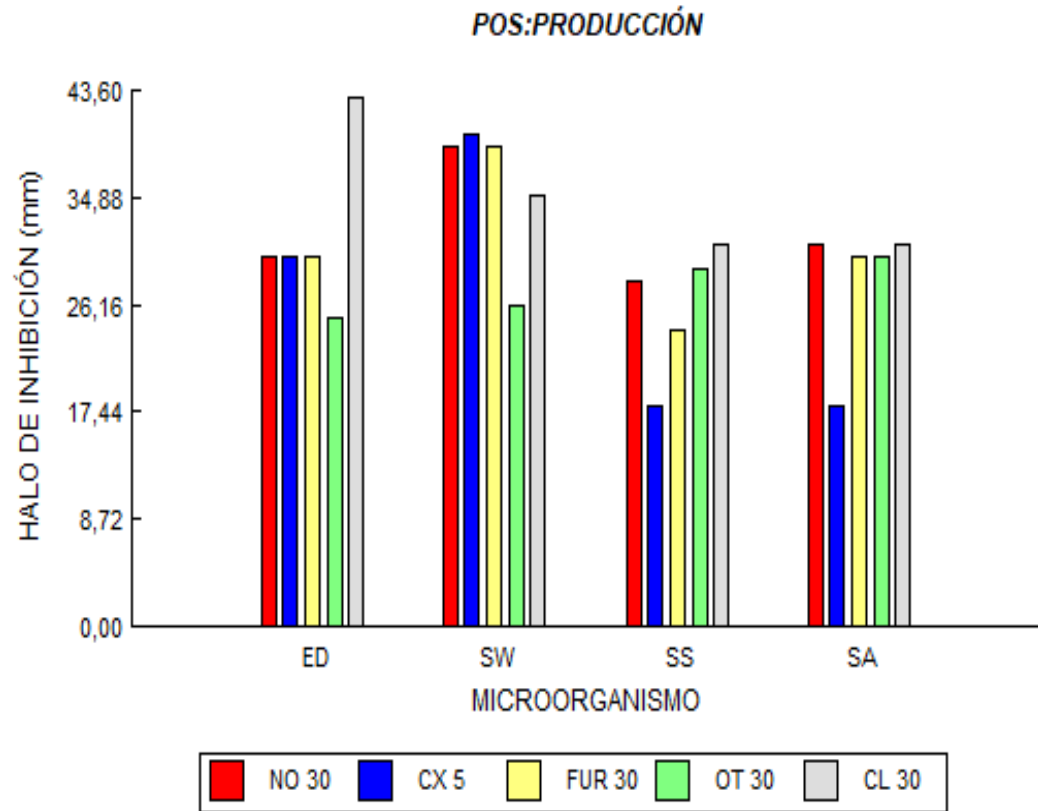
Halo de inhibición de 5 antibióticos ante los microorganismos identificados, preprotocolo en vacas en seco positivas a mastitis en La Hacienda El Prado – IASA I.



EA: *Streptococcus agalactiae*; SE: *Staphylococcus epidermis*; SA: *Staphylococcus aureus*; SS: *Staphylococcus saprophyticus*. NO 30: Novobiocin (30 µg); Cloxacilina (5 µg); FUR 30: Ceftiofur (30 µg); OT 30: Oxitetracilina (30 µg); CL 30: Cefalaxina (30 µg).

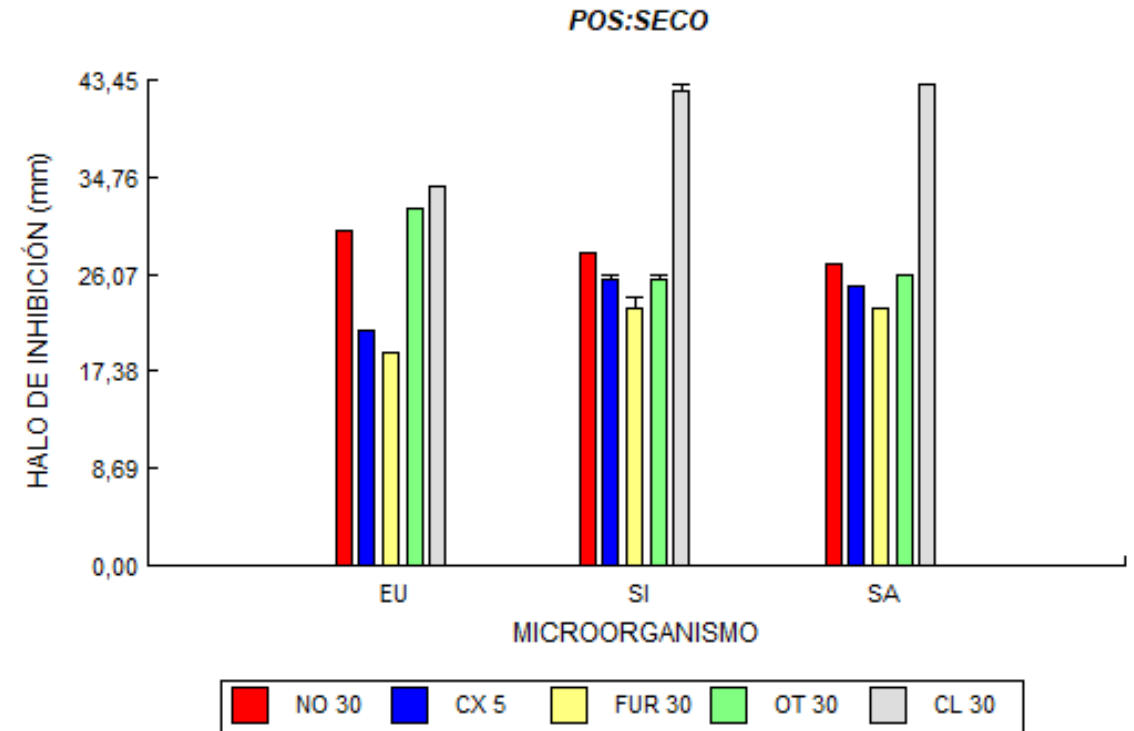
RESULTADOS y DISCUSIÓN

Halo de inhibición de 5 antibióticos ante los microorganismos identificados, posprotocolo en vacas en producción positivas a mastitis en La Hacienda El Prado – IASA I.



ED: *Streptococcus dysgalactiae*; SW: *Staphylococcus warneri*; SA: *Staphylococcus aureus*; SS: *Staphylococcus saprophyticus*. NO 30: Novobiocin (30 µg); Cloxacilina (5 µg); FUR 30: Ceftiofur (30 µg); OT 30: Oxitetracilina (30 µg); CL 30: Cefalaxina (30 µg).

Halo de inhibición de 5 antibióticos ante los microorganismos identificados, posprotocolo en vacas en seco positivas a mastitis en La Hacienda El Prado – IASA I.



EU: *Streptococcus uberis*; SI: *Staphylococcus simulans*; SA: *Staphylococcus aureus*. NO 30: Novobiocin (30 µg); Cloxacilina (5 µg); FUR 30: Ceftiofur (30 µg); OT 30: Oxitetracilina (30 µg); CL 30: Cefalaxina (30 µg).

CONCLUSIONES

Los agentes causales de mastitis subclínica preprotocolo tanto en vacas en producción como en seco en general fueron: Estafilococos Gram positivos, Estreptococos y Bacilos Gram negativos, en específico fueron *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Staphylococcus epidermis*; para posprotocolo tanto en producción y en seco en general fueron Estafilococos Gram positivos, Estreptococos, Bacilos Gram negativos y Bacilos Gram positivos en específico fueron *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Staphylococcus epidermis*.

Todos los agentes causales identificados son sensibles a los antibióticos utilizados en el estudio a excepción de *Staphylococcus epidermidis*, aislado antes de la aplicación del protocolo de vacas en producción que presenta resistencia a Cefalaxina, y *Staphylococcus saprophyticus* aislado antes de la aplicación del protocolo de vacas en seco que presenta resistencia a Cloxacilina y Ceftiofur.

CONCLUSIONES

La aplicación del protocolo (antibiótico) se debe enfocar en vacas que han tenido de 4 a 6 partos y especialmente cuando entran al seco, ya que, se tiene una disminución considerable de Estafilococos Gram positivos y una eliminación casi total de *Staphylococcus aureus* en las muestras positivas a mastitis.

En vacas que han tenido de 1 a 3 partos en producción, no muestran mayor carga bacteriana ni tampoco una mejora con la aplicación del protocolo, esto podría deberse a que la cantidad de antibiótico aplicado no es el óptimo.

El número de aislados de estafilococos Gram positivos y *Staphylococcus aureus* es mayor antes de la aplicación del protocolo en vacas en seco y con un número de partos de 4 a 6.

La baja resistencia a antibióticos puede deberse a las buenas prácticas de ordeño y al uso adecuado de antibióticos en La Hacienda El Prado – IASA I.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar la aplicación de diferentes antibióticos en vacas con números de partos diferentes o con un intervalo de 1 parto (1 parto – 2 partos – 3 partos - 4 partos – 5 partos – 6 partos) y evaluar si los agentes causales de mastitis difieren entre número de partos.

Se recomienda realizar la tipificación molecular de agentes causales de mastitis para así obtener una base de datos precisa y confiable.

Se recomienda prospectar genes de antibioresistencia a Cefalaxina, Cloxacilina y Ceftiofur en *Staphylococcus saprophyticus* y *Staphylococcus epidermidis* y así corroborar la antibioresistencia.



AGRADECIMIENTOS



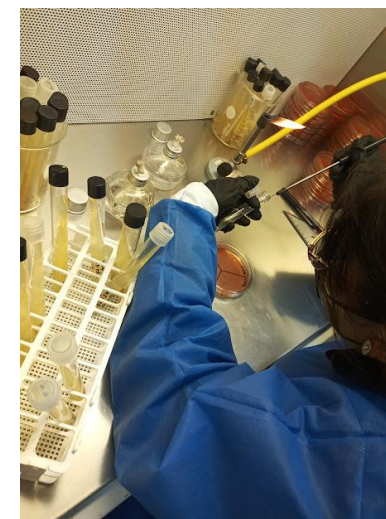
Dr. Jorge Ron Román, MSc

Ing. Diego Vela

Ing. Jennifer Cuenca

Ing. Gabriela Morales MSc.

Ing. Cristina Cholota, MSc



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA