



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DEL GÉNERO
STAPHYLOCOCCUS EN MUESTRAS DE GANADO BOVINO Y DE
HUMANOS IMPLICADOS EN LA MANIPULACIÓN DE LA CARNE DE LA ISLA
SANTA CRUZ-GALÁPAGOS.

AUTORAS

Angely Nathaly Almeida Safadi
Beatriz Del Carmen Rojas Tacuri

AÑO

2020



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DEL GÉNERO
STAPHYLOCOCCUS EN MUESTRAS DE GANADO BOVINO Y DE
HUMANOS IMPLICADOS EN LA MANIPULACIÓN DE LA CARNE DE LA ISLA
SANTA CRUZ-GALÁPAGOS

Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Ingenieras en Biotecnología.

Profesor Guía

M.Sc. Carlos Andrés Bastidas Cáldes

Autoras

Angely Nathaly Almeida Safadi


Beatriz Del Carmen Rojas Tacuri

Año

2020

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

"Declaro haber dirigido el trabajo, Aislamiento e identificación de bacterias del género *Staphylococcus* en muestras de ganado bovino y de humanos implicados en la manipulación de la carne de la isla Santa Cruz-Galápagos, a través de reuniones periódicas con las estudiantes Angely Nathaly Almeida Safadi y Boatriz del Carmen Rojas Tacuri, en el semestre 2020-1, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".



Carlos Andrés Bastidas Caldés

Magister en Microbiología Ambiental

C.I. 0201619806

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

"Declaro haber revisado este trabajo, Aislamiento e identificación de bacterias del género *Staphylococcus* en muestras de ganado bovino y de humanos implicados en la manipulación de la carne de la isla Santa Cruz-Galápagos, de Angely Nathaly Almeida Safadi y Beatriz del Carmen Rojas Tacuri, en el semestre 2020-1, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".



María Gabriela Granja Bastidas

Máster en Bioquímica, Biología Molecular y Biomedicina: Especialidad en
Patología Molecular

C.I. 1712995149

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

"Declaramos que este trabajo es original, de nuestra autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes."



Angely Nathaly Almeida Safadi

C.I. 1725207813



Beatriz Del Carmen Rojas Tacuri

C.I. 1723004246

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero agradecimiento a M.Sc. Gabriela Granja por su paciencia, por guiarnos en este trabajo de investigación, brindándonos sus conocimientos y acompañándonos en cada momento para culminar nuestro proyecto. Además de ser una gran profesional, también demuestra tener mucha calidez humana.

Por otra parte, queremos agradecer a Dr. Jacobus de Waard quien nos dio la oportunidad de realizar este trabajo, brindándonos todo el apoyo necesario para alcanzar nuestra meta. No solo es un gran investigador, sino también es un excelente ser humano y su enseñanza perdurará en nosotras.

A la Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad para Galápagos (ABG), por abrirnos las puertas y ofrecernos todos los recursos necesarios para realizar nuestra investigación.

A Juan Carlos Laglaguano, quien nos brindó su apoyo y guía, colaborándonos para terminar este trabajo.

Finalmente, agradecemos a la Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, carrera de Biotecnología, y a quienes la conforman, por habernos formado durante esta etapa importante en nuestras vidas, para convertirnos en excelentes profesionales.

Angely y Beatriz

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres Jimmy y Karen, por su amor y motivación constante para culminar mi carrera. A mi hermano David, por brindarme su apoyo en todo momento y llenar mi vida de música y alegría.

Angely

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo de investigación a Dios por ser el sendero que guía mi vida. A mi papá por su amor, paciencia y por inspirarme en ser una gran profesional. Finalmente, a mi madre que es mi fuerza interior y me motiva a cumplir cada meta que me proponga.

Beatriz

RESUMEN

Galápagos cuenta con una gran biodiversidad, por ello el archipiélago ha sido declarado Patrimonio Natural de la Humanidad por parte de la UNESCO. De todas las Islas, Santa Cruz es una de las más importantes en cuanto a actividades relacionadas con la producción agropecuaria, turismo y comercio. El género *Staphylococcus* está distribuido ampliamente por todo el mundo, siendo uno de los principales grupos de microorganismos con importancia en la salud pública. Desde el año 2009 al 2015, se ha visto una incidencia alta de enfermedades asociadas a contaminación por *Staphylococcus*, ingesta de alimentos contaminados y falta de agua potable. Por tanto, el problema radica en que, en el archipiélago de Galápagos, la empresa de faenamiento aún no dispone de estudios microbiológicos que examinen la carga microbiana de la carne en su totalidad, esto implica que existe desinformación acerca de la presencia del género *Staphylococcus* en el proceso de faenamiento. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue identificar y aislar bacterias del género *Staphylococcus* en muestras de ganado bovino y de humanos implicados en la manipulación de la carne, provenientes de la isla Santa Cruz-Galápagos Ecuador. En este trabajo se analizaron 102 muestras de carne de camal y 52 hisopados nasales obtenidos de trabajadores de la Empresa Pública de Faenamiento de la isla Santa Cruz. Los aislados se identificaron mediante pruebas bioquímicas tradicionales. Se realizó PCR punto final para amplificar la presencia del gen ARN 16s. Además, se secuenció el gen ARN 16s mediante la técnica SANGER para los aislados confirmados como *Staphylococcus* spp. Las especies aisladas fueron: *S. aureus*, *S. caprae*, en muestras de humanos. *S. cohnii*, *S. saprophyticus*, *S. chromogenes*, *S. xylosus* en muestras de vacas y *S. epidermidis* tanto en humanos como en vacas. En conclusión, en el proceso de faenamiento de la isla Santa Cruz, se evidenció una gran diversidad de especies del género *Staphylococcus* spp. no solo se encontró *S. aureus* un patógeno oportunista, sino también especies ambientales y especies colonizadoras de la piel.

ABSTRACT

Galápagos has a great biodiversity, so the archipelago has been declared a World Heritage Site by UNESCO. Of all the Islands, Santa Cruz is one of the most important in terms of activities related to agricultural production, tourism and commerce. The genus *Staphylococcus* is widely distributed throughout the world, being one of the main groups of microorganisms with importance in public health. From 2009 to 2015, there has been a high incidence of diseases associated with *Staphylococcus* contamination, intake of contaminated food and lack of drinking water. Therefore, the problem is that, in the Galápagos archipelago, the slaughtering company does not yet have microbiological studies that examine the microbial load of the meat as a whole, this implies that there is misinformation about the presence of the genus *Staphylococcus* in the slaughter process. Therefore, the objective of this study was to identify and isolate bacteria of the genus *Staphylococcus* in samples of cattle and humans involved in the handling of meat, from the island Santa Cruz-Galapagos Ecuador. In this work, 102 samples of goat meat and 52 nasal swabs obtained from workers of the Public Slaughter Company of Santa Cruz Island were analyzed. The isolates were identified by traditional biochemical tests. Endpoint PCR was performed to amplify the presence of the 16s RNA gene. In addition, the 16s RNA gene was sequenced by the SANGER technique for confirmed isolates such as *Staphylococcus* spp. The isolated species were: *S. aureus*, *S. caprae*, in human samples. *S. cohnii*, *S. saprophyticus*, *S. chromogenes*, *S. xylosus* in cows' samples and *S. epidermidis* in both humans and cows. In conclusion, in the slaughter process of Santa Cruz Island, evidenced a great diversity of species of the genus *Staphylococcus* spp. not only *S. aureus* was found opportunistic pathogen, but also environmental species and skin colonizing species.

ÍNDICE

1. Capítulo I. Introducción.....	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Planteamiento del problema.....	3
1.3 Objetivos	3
1.3.1 Objetivo General	3
1.3.2 Objetivos específicos.....	4
1.4 Justificación de la investigación	4
2. Capítulo II. Marco teórico	5
2.1 Sector Agropecuario en Galápagos.....	5
2.2 Salud Pública en Galápagos, su relación con el consumo de productos cárnicos y la inocuidad alimentaria.	6
2.2.1 Salud Pública en Galápagos	6
2.2.2 Inocuidad y consumo de productos cárnicos en la Isla.....	7
2.3 Contaminación de la carne por malas prácticas para alimentos procesados.....	7
2.3.1 Puntos de contaminación en la cadena de producción de la carne	8
2.3.2 Principales fuentes de contaminación	8
2.3.3 Proceso de manipulación en los mataderos.....	9
2.4 Principales bacterias asociadas a la contaminación por manipulación de alimentos.	11
2.5 Control en la inocuidad de alimentos	12
2.5.1 Controles en la manipulación de las carnes	13
2.6 Generalidades del género <i>Staphylococcus</i> spp.	14
2.7 Infecciones causadas por el género <i>Staphylococcus</i> spp.	15
2.7.1 Intoxicación Alimentaria:.....	16
2.7.2 Infecciones de la piel:	16
2.7.3 Enfermedades graves	19
3. Capítulo III. Procedimientos	22
3.1. Población y muestra	22
3.1.1 Población	22
3.1.2 Muestra	23

3.2 Toma de muestras.....	23
3.2.1 Recolección muestras carne de bovino.....	23
3.2.2 Recolección hisopos nasales.....	24
3.3 Aislamiento e identificación de <i>Staphylococcus</i> spp.	25
3.3.1 Pruebas bioquímicas	25
3.3.1.1 Catalasa.....	25
3.3.1.2 Coagulasa	25
3.3.1.3 DNasa.....	26
3.3.1.4 Tinción Gram	26
Las bacterias se identificaron mediante observación microscópica. Se realizó un frotis en los portaobjetos de las colonias aisladas, se fijó la muestra y se procedió según lo descrito por Forbes (2009). De esta manera si se visualiza una coloración rosada (Gram negativas) y coloración morada (Gram positivas).....	26
3.3.2 Congelamiento de las muestras.....	26
3.4 Extracción y amplificación de ADN.	27
3.4.1 Extracción ADN.....	27
3.4.2 Amplificación	27
3.5 Electroforesis y visualización de geles	28
3.6 Secuenciación.....	28
3.6.1 Análisis BLAST	28
3.7 Evaluación estadística de los resultados	29
4. Capítulo IV. Resultados y Discusión	29
4.1 Análisis microbiológico de las muestras de <i>Staphylococcus</i>	29
4.1.1 Análisis de las pruebas fenotípicas	29
4.2 Identificación de <i>S. aureus</i> en humanos y canales	33
4.2.1 Identificación de <i>S. aureus</i> en humanos	33
4.2.2 Identificación de <i>S. aureus</i> en canales	34
4.3 Análisis Molecular PCR Punto Final.....	35
4.4 Análisis de pruebas bioquímicas y secuenciación	39
4.5 Análisis de la prevalencia del género <i>Staphylococcus</i> spp.	41
4.5.1 Análisis de la prevalencia de <i>Staphylococcus</i> en humanos	41
4.5.2 Análisis de la prevalencia de <i>Staphylococcus</i> en canales.....	42

5. Capítulo V. Conclusiones y Recomendaciones	45
5.1 Conclusiones	45
5.2 Recomendaciones	46
REFERENCIAS	47
ANEXOS.....	65

Índice de tablas

Tabla 1. Protocolo de amplificación para ARN 16s	27
Tabla 2. Condiciones termociclador para ARN 16s	28
Tabla 3. Resumen de los resultados microbiológicos para los aislados de humanos y canales	32

Índice de Figuras

Figura 1. Proceso de descuerado de ganado bovino	10
Figura 2. Etapa de evisceración de ganado bovino	11
Figura 3. Inspección veterinaria al final del proceso de faenamiento	11
Figura 4. Infecciones y enfermedades causadas por <i>S. aureus</i> . A. El consumo de alimentos contaminados por <i>S. aureus</i> causa intoxicaciones alimentarias. B. Brote alérgico en la piel causado por intoxicación alimentaria	16
Figura 5. Impétigo con ampollas rojas y costras de color miel	17
Figura 6. Forúnculos formados en el tejido cutáneo	18
Figura 7. Infecciones de piel por <i>S. aureus</i> . A-B. Dermatitis caracterizada por ampollas y erupciones cutáneas C. Síndrome de Choque Tóxico caracterizado por manchas y heridas en la piel	18
Figura 8. Lesión de Janeway producida por endocarditis en la palma de la mano, la cual presenta lesiones subcutáneas	19
Figura 9. La Bacteriemia en algunos casos conduce a septicemia, la cual está acompañada de síntomas como fiebres altas, piel manchada e inflamada	20
Figura 10. Paciente con infección, presenta el área enrojecida alrededor del catéter venoso)	21
Figura 11. Mastitis en el tejido mamario. La zona afectada presenta inflamación, hinchazón y enrojecimiento	22
Figura 12. Identificación de <i>S. aureus</i> en muestras de humanos.....	34
Figura 13. Identificación de <i>S. aureus</i> en muestras de canales.	35
Figura 14. Productos de la PCR del gen ARNr 16s de muestras de canales y humanos. Carriles 33, 34, 35 y 36.....	37
Figura 15. Productos de la PCR del gen ARNr 16s de muestras de canales y humanos. Carriles 1, 2, 3 y 4.....	38
Figura 16. Productos de la PCR punto final del gen ARN 16s del total de muestras de vacas y humanos	38
Figura 17. Prevalencia de <i>Staphylococcus</i> spp. en humanos.	42
Figura 18. Prevalencia de <i>Staphylococcus</i> spp. en canales.....	44

1. Capítulo I. Introducción

1.1 Antecedentes

El género *Staphylococcus* es uno de los principales grupos de microorganismos con importancia en salud pública. Dentro de este género, *Staphylococcus aureus*, es la especie de mayor relevancia por ser un patógeno oportunista. En el ser humano se encuentra localizada en áreas cutáneas y mucosas (González, Hernández, Apaulaza, Díaz, & Cordero, 2016). *S. aureus* es capaz de producir enfermedades como: neumonía, intoxicaciones sanguíneas (bacteriemia), endocarditis, enfermedades diarreicas agudas, enteritis y gastroenteritis (Karli et al., 2016).

Además, se han encontrado otras especies del género *Staphylococcus*, coagulasa negativa (SCN) aisladas en menor frecuencia de la piel de humanos, animales y del medio ambiente. Su grado patogénico ha ido en aumento y la virulencia depende de la capacidad de ciertas cepas de formar biopelículas en las superficies en las cuales se encuentran adheridas. Las especies más frecuentes de SCN son: *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. caprae*, *S. cohnii*, *S. chromogenes* y finalmente *S. xylosus*. Estas especies pueden provocar infecciones de la piel, infecciones asociadas a la presencia de catéteres, endocarditis, peritonitis e infecciones del tracto urinario (Fariña, Carpinelli, Samudio, Guillén, Laspina, Sanabria, Abente, Rodas, González, et al., 2013).

En cuanto a los análisis microbiológicos de carnes, se ha demostrado la presencia de bacterias patógenas, lo que representa un problema en la salud pública para los consumidores (Jiménez, Chaidez, & León, 2012). El agente más frecuente es *Staphylococcus*, su presencia se asocia con la contaminación introducida por los manipuladores de alimentos, falta de buenas prácticas de manufactura, incumplimiento de procedimientos para el manejo higiénico, instalaciones inadecuadas y materia prima contaminada (Jordá, Marucci, Guida, Pires, & Manfredi, 2012).

En el caso de alimentos provenientes del ganado bovino, se ha establecido que el proceso de faenamiento es un eslabón clave en la cadena de producción. El trabajo del manipulador durante el procedimiento de extracción de vísceras representa un punto crítico de riesgo de contaminación (Delgado, Cedeño, Montes de Oca, & Villoch, 2015).

Dentro del contexto histórico del sector agropecuario en Galápagos, las principales actividades realizadas han sido agricultura y ganadería. De todas las islas, Santa Cruz es una de las más importantes en cuanto a la actividad pecuaria, ya que cuenta con un centro de faenamiento que cubre la alta demanda de productos cárnicos de la población. Es importante que en el proceso de faenamiento de la carne de res se tecnifique sus procedimientos, el uso de tecnologías, y el sistema de agua potable (Instituto Nacional de Estadística y Censo, 2014).

En Galápagos desde el año 2009 al 2015 se encontró una incidencia alta de enfermedades asociadas a contaminación por *Staphylococcus aureus* (Consejo de Gobierno de Régimen Especial de Galápagos, 2015). El Ministerio de Salud Pública, reportó que en el año 2015 se detectaron 257 casos de contaminación que causaron intoxicación alimentaria, diarreas y gastroenteritis, siendo responsables del 97% de causas de morbilidad en la isla Santa Cruz (MSP, 2015), mientras que en el año 2016 el número de casos aumentó a 466 (Ministerio de Salud Pública, 2016).

Los análisis microbiológicos realizados en la isla Santa Cruz, evidenciaron la presencia de bacterias como: *Escherichia coli* y coliformes en muestras de leche, queso y carne. Algunas muestras positivas para *E. coli* se encontraban por encima de los valores permitidos por el INEN. Sin embargo, no se han registrado análisis microbiológicos que identifiquen la presencia de *Staphylococcus* en muestras de carne (Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG) & Ministerio del Ambiente, 2017).

1.2 Planteamiento del problema

En el archipiélago de Galápagos no existen informes que analicen la presencia de especies del género *Staphylococcus* en el proceso de faenamiento. La Empresa Pública del Sistema Integral de Faenamiento de Santa Cruz opera desde marzo del 2018, dado a su poco tiempo de funcionamiento, la empresa aún no dispone de estudios microbiológicos que examinen la carga microbiana de la carne en su totalidad, esto implica que existe desinformación acerca de la presencia del género *Staphylococcus* constituyéndose como un riesgo de que la carne de consumo se encuentre contaminada por estos microorganismos.

De hecho, *Staphylococcus* se encuentra en las áreas cutáneas y fosas nasales del ser humano, por tanto, si los manipuladores de los alimentos, no usan correctamente el uniforme de trabajo como guantes, mascarillas, o incumplen con los procedimientos de buenas prácticas de manufactura (BPM), conlleva a una contaminación cruzada, siendo un peligro potencial de que la carne pueda estar infestada de bacterias debido a un mal tratamiento de la misma (Jordá, Marucci, Guida, Pires, & Manfredi, 2012).

Además, otro punto por destacar son las instalaciones del centro de faenamiento de Santa Cruz, que aún no cuentan con todos los acabados y las instauraciones de servicios como agua, aire acondicionado y cámaras de refrigeración óptimas. Considerando esto como otro foco de transmisión de bacterias al no existir la indumentaria adecuada (Burguet & Trimiño, 2012). Los datos obtenidos de este estudio serán entregados a la Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena de Galápagos.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Aislar e identificar bacterias del género *Staphylococcus* en muestras de ganado bovino y de humanos implicados en la manipulación de la carne, provenientes de la isla Santa Cruz-Galápagos Ecuador.

1.3.2 Objetivos específicos

- Identificar especies de *Staphylococcus* spp. mediante pruebas bioquímicas.
- Amplificar la presencia del gen ARN 16s, mediante PCR en los aislados obtenidos.
- Comprobar las diversas especies de *Staphylococcus* spp. por secuenciación mediante la técnica de SANGER.

1.4 Justificación de la investigación

La isla Santa Cruz es uno de los lugares con mayor producción en el sector agropecuario, con una distribución de productos cárnicos que representa uno de sus ingresos económicos más altos, de manera que el estudio microbiológico de carnes es importante, tanto desde el punto de vista económico como también de prácticas de buena manufactura para la correcta comercialización de la carne (CGREG,2016).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) la seguridad alimentaria se basa en que los alimentos que llegan al consumidor sean seguros desde el punto de vista físico, químico y microbiológico. Siendo imprescindible que las carnes sean sometidas a controles que garanticen la calidad del producto. En este contexto, uno de los objetivos del centro integral de Faenamiento de Galápagos es implementar un sistema de comercialización completo e integral, donde se optimice la cadena de valor de

los cárnicos, comprendiendo productos de calidad e inocuos. (Jaramillo, Díaz, Ortiz, & Ayora, 2014).

Por tanto, este proyecto se realizó con el fin de conocer el nivel microbiológico de *Staphylococcus* en la carne dada la susceptibilidad de la misma a la contaminación. Por lo cual la implementación de este estudio logrará informar acerca del estado de la carne en el proceso de faenamiento, mediante la inspección de la carga microbiana, contribuyendo con un primer reporte que aporta a mejorar la trazabilidad de la carne y permite que a futuro existan mejoras en el sistema de identificación y control de microorganismos en la carne.

2. Capítulo II. Marco teórico

2.1 Sector Agropecuario en Galápagos

El archipiélago de Galápagos cuya capital es Puerto Baquerizo Moreno está conformado por 19 islas mayores, 200 islotes y rocas que cubren una superficie aproximadamente de 7985 km² (CGREG, 2016). El 97% de la extensión total de las islas pertenece al Parque Nacional Galápagos, el restante está destinado a las actividades de los habitantes (cultivo, sector agropecuario, áreas habitadas). La isla Santa Cruz, es la más importante del archipiélago, debido a las actividades que realiza como: comercio, turismo y producción agropecuaria (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, 2013).

En cuanto al sector agropecuario, según el censo realizado en los años 2014-2016 sobre el suelo disponible para este tipo de actividades, se dispone de 25.059 ha de tierras rurales, de las cuales 19.010 ha ocupan 755 Unidades de Producción Agropecuaria (UPA). Sin embargo, no todas las unidades de producción están destinadas a cultivos o uso ganadero, el suelo también puede ser utilizado como cultivo de pastos, sostenimiento de infraestructuras, entre otras (INEC, 2014).

El ganado vacuno se encuentra distribuido en 313 UPA, de las cuales la mayor parte se asienta en la isla Santa Cruz. La producción de carne ocupa alrededor del 61%, mientras que el restante es destinado para la producción de leche. Las principales razas del ganado son: mejorada (Simental), de las cuales existen 905 ejemplares y mestiza que ocupan alrededor del 80% de cabezas de ganado (INEC, 2014).

Adicionalmente durante los años 2014–2016 la producción pecuaria ha aumentado junto con el número de fincas, surgiendo como pequeños emprendimientos individuales, que se han dado debido a la alta demanda de productos cárnicos (CGREG, 2016).

2.2 Salud Pública en Galápagos, su relación con el consumo de productos cárnicos y la inocuidad alimentaria.

2.2.1 Salud Pública en Galápagos

El Distrito de Salud Pública número 20 es la institución encargada de controlar y administrar los hospitales y centros de salud en el Archipiélago. En los últimos años ha existido una inversión alta en los servicios de salud logrando centros de atención con especialistas, equipos de tecnología, consultas externas, cuidados en neonatología, cirugías y servicios de hospitalización (CGREG, 2015). No obstante, la atención y servicios médicos en la isla Santa Cruz presentan un déficit en tratamientos y servicios de calidad.

Según estadísticas tomadas del Ministerio de Salud Pública sobre el perfil de morbilidad en la isla Santa Cruz- Galápagos, en los años 2015-2016 se registraron alrededor de 466 casos de contaminación por *Staphylococcus aureus* (MSP, 2016). Las principales enfermedades que se presentan en la Isla asociadas a la ingesta de alimentos contaminados y falta de agua potable son: gastroenteritis, diarreas, enfermedades intestinales, infecciones de piel y dermatitis (CGREG, 2016).

2.2.2 Inocuidad y consumo de productos cárnicos en la Isla.

Los productos cárnicos (carne de res) poseen una alta demanda en los hogares y se ha establecido que la producción local puede satisfacer la demanda, sin necesidad de ingresar otro tipo de carne de res a la Isla (CGREG, 2016).

En los habitantes y dueños de fincas dedicados a la producción agropecuaria existe aún un déficit de información acerca de: las medidas sanitarias, manejo de animales y control de inocuidad de alimentos que garanticen la calidad de sus productos desde una fase inicial, ya que como se ha visto existe una alta incidencia de intoxicaciones alimentarias y enfermedades relacionadas al consumo de alimentos contaminados (CGREG, 2015). Es por ello que instituciones como la ABG se dedican a controlar periódicamente sitios de producción pecuaria tales como; fincas, sitios de almacenamiento de alimentos, entre otros, para asegurar que se cumplan las medidas adecuadas de buenas prácticas de producción (CGREG, 2016).

2.3 Contaminación de la carne por malas prácticas para alimentos procesados

La contaminación de alimentos es considerada un peligro de origen físico, químico y biológico que produce un efecto negativo y amenaza la salud del consumidor. La carne es un alimento de origen animal y está expuesta a varios peligros de contaminación durante el proceso de obtención, ya que como se sabe todos los animales transportan microorganismos que están presentes en sus pezuñas, pelos y cuero. Por tanto, la manipulación en pasos posteriores es un factor de mayor riesgo con respecto a la contaminación de la carne (Lonergan et al., 2018).

2.3.1 Puntos de contaminación en la cadena de producción de la carne

La contaminación en la carne puede ocurrir en varios pasos de la cadena de obtención del producto, es decir desde la producción primaria hasta el transporte de las carnes a su destino, como se explica a continuación (Saucier, 2016).

- **Producción Primaria:** La carne puede estar contaminada por varios peligrosos que incluyen: animal con parásitos y microorganismos.
- **Proceso de manipulación en los mataderos:** El matadero y el proceso de faenamiento es considerado un filtro importante en la calidad de los alimentos, ya que en este punto es donde existe un mayor riesgo de contaminación por manipulación de los operarios (Delgado et al., 2015).
- **Transporte:** La contaminación ocurre cuando los vehículos no cuentan con un sistema de refrigeración adecuado, las paredes y suelos no están previamente desinfectadas y en el transporte de carnes se utiliza recipientes o piezas sucias (Zamora & Mendoza, 2018).
- **Almacenamiento:** En este paso la contaminación está dada cuando en las carnicerías e industrias, no se tienen las condiciones de higiene y se rompe la cadena de frío. Además cuando los productos cárnicos entran en contacto directo con el suelo y el tiempo de acondicionamiento o almacenamiento sobrepasa la fecha establecida (Zamora & Mendoza, 2018).

2.3.2 Principales fuentes de contaminación

2.3.2.1 Utensilios y equipos: Es un tipo de contaminación secundaria principalmente proviene de microorganismos psicrófilos, del ambiente y del hombre. Al no existir medidas de limpieza extremas ocurre una acumulación de residuos que genera el crecimiento de microorganismos, principalmente enterobacterias y *Streptococcus* fecales (Prado, 2014). Las medidas de prevención se basan en aplicar protocolos adecuados de limpieza, evitar a toda costa el contacto con el suelo y adquirir instalaciones, utensilios y equipos que sean fáciles de desinfectar (Garcinuño, 2017).

2.3.2.2 Plagas: Tanto insectos, roedores y aves son considerados animales que pueden transmitir enfermedades que afectan al ser humano. Las medidas empleadas para prevenir este tipo de contaminación, consisten en realizar un control periódico de plagas, además de prohibir el ingreso de cualquier animal ya que son considerados portadores de microorganismos (Garcinuño, 2017).

2.3.2.3 Ambiente: El ambiente es una fuente constante de contaminación por varios microorganismos localizados en heces fecales de personas y animales, los manipuladores pueden ser portadores de bacterias y pueden contaminar la carne si estornudan, hay contacto con la piel o tocan superficies sucias. Para prevenir la contaminación, las instalaciones del lugar deben contar con ventilación adecuada y renovación del aire (Garcinuño, 2017).

2.3.2.4 Agua: Se ha considerado el agua como un vehículo importante de contaminación, ya que puede llevar microorganismos, partículas contaminantes, metales pesados, entre otros. Incluso en refrigeración, las carnes pueden ser contaminadas por microorganismos psicrófilos por falta de limpieza y agua contaminada. Para prevenir la contaminación por el agua, es imprescindible usar agua potable en los proceso de manipulación del alimento (Prado, 2014).

2.3.2.5 Seres humanos: Se considera al ser humano, como un factor de mayor riesgo debido a que se encuentra manipulando el alimento directamente y puede ser portador de microorganismos como: enterobacterias, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*. Las medidas de prevención se basan en aplicar buenas prácticas de manipulación, higiene y control de equipos (Garcinuño, 2017).

2.3.3 Proceso de manipulación en los mataderos

El proceso de faenamiento es un punto clave en el proceso de obtención de la carne, ya que en este punto es donde existe un mayor riesgo de contaminación.

Por tanto, el cuidado de la higiene del personal ayuda a reducir en gran parte la carga microbiana de las carnes (Delgado et al., 2015). Las etapas importantes que debe considerar el manipulador en los mataderos son las siguientes:

2.3.3.1 Desollado: Es el procedimiento por el cual se retira la piel del animal que generalmente está sucia, es importante que los trabajadores utilicen cuchillos de uso exclusivo para esta actividad. El proceso de descuerado se lo observa con mayor detalle en la Figura 1 (Bohórquez & Theran, 2016).



Figura 1. Proceso de descuerado de ganado bovino.

Tomado de: (Tecnofrig, 2015).

2.3.3.2 Eviscerado: Es el procedimiento por el cual se retiran las vísceras del animal, el manipulador debe evitar que la parte intestinal contamine el resto del canal, en este punto es donde existe mayor contacto del trabajador al realizar varios cortes para quitar las vísceras. Por tanto, se requiere de un trabajo minucioso. En la Figura 2 se observa el proceso de extracción de vísceras.



Figura 2. Etapa de evisceración de ganado bovino.

Tomado de: (FAO, 2014).

2.3.3.3 Inspección veterinaria: Se realiza un control de las condiciones de trabajo, las carnes y las vísceras que han sido extraídas. Este control es realizado por un profesional, médico veterinario. En la Figura 3 se observa la inspección realizada.



Figura 3. Inspección veterinaria al final del proceso de faenamiento.

Tomado de: (Senasa, 2017).

2.4 Principales bacterias asociadas a la contaminación por manipulación de alimentos.

La proliferación de bacterias, además de la manipulación incorrecta por parte del personal de la faena, puede proceder también de las instalaciones del lugar como: pisos, paredes, cuchillos contaminados, entre otros. En cuanto a las bacterias psicrótróficas de la superficie incluyen especies como: *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, algunos tipos de *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Streptococcus*, *Bacillus* y *Staphylococcus* (Soto, Pérez, & Estrada, 2016).

En el caso de *Staphylococcus*, se conoce que *S. aureus* es el principal patógeno de los manipuladores de alimentos y esto se debe a que *S. aureus* forma parte del microbiota normal de los seres humanos. Sin embargo, otras especies que son *Staphylococcus* coagulasa negativa también se han encontrado en alimentos provenientes del ganado bovino (carne y leche) (Duarte & Roa, 2018). Por tanto, la presencia de estos microorganismos puede estar en el manipulador, el animal y durante todo el proceso de la faena.

2.5 Control en la inocuidad de alimentos

Existen más de 250 enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), estas representan un problema emergente de salud pública y de morbilidad. El tema de inocuidad alimentaria en cada gobierno, industria e institución debe ser manejado con responsabilidad ya que está relacionado directamente con la salud del consumidor. Varios estudios han reportado enfermedades por el consumo de alimentos no inocuos, que generalmente ocurren por la manipulación incorrecta de los trabajadores y por la falta de seguimiento de los controles apropiados en cuanto a la calidad (Palomino, González, Pérez, & Aguilar, 2018).

Para obtener productos inocuos es necesario tener como base las condiciones sanitarias óptimas según el Codex Alimentario. Por tanto, se han propuesto varias medidas de prevención contra ETA mediante la aplicación de HACCP (sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control) y de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) (Palomino et al., 2018).

2.5.1 Controles en la manipulación de las carnes

El trabajo del manipulador en el centro de faenamiento debe ser controlado, principalmente para conocer si se cumplen las buenas prácticas de manufactura. Para asegurar la cadena de procesamiento de la carne de res y tener alimentos inocuos, se han desarrollado medidas y normas preventivas que deben ser aplicadas desde el sacrificio del animal hasta su transporte (Delgado et al., 2015).

Consisten en una serie de acciones que son llevadas a cabo con el fin de disminuir los peligros en el producto, incluye normas de higiene personal, contaminación por el hombre, aspectos de limpieza y desinfección en las operaciones (Meneses, Domínguez, & Guerra, 2016). Las instalaciones y el personal de trabajo que participen en la manipulación de alimentos deben regirse por el manual de buenas prácticas de manufactura utilizado para el control adecuado de los productos.

El manual de buenas prácticas de manufactura consta de varios capítulos que se deben considerar en el manejo de alimentos; entre ellos se mencionan los capítulos (II, III, IV, V, VII y VIII). Estos capítulos establecen consideraciones desde el lugar y edificio en el que se trabaje, se menciona que cada espacio debe basarse en una construcción sólida y sanitaria, de tal manera que permita realizar una desinfección y limpieza adecuada. Con respecto al capítulo VII y VIII se considera la higiene personal, estado de salud, conducta y ropa adecuada del operario (Riós, 2015). Las prácticas de higiene impiden en gran parte la contaminación de patógenos provenientes de humanos. Las normas de Aseo Personal se encuentran detalladas en el Anexo 1 (Codex Alimentarius, 2005).

2.5.1.1 Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control

(HACCP): Es el sistema de control encargado de producir alimentos seguros, el fin es identificar y controlar los peligros que pueden presentarse durante la obtención del producto (Meneses et al., 2016).

Toda empresa debe comprometerse a implementar el Sistema HACCP, por tanto, los trabajadores serán responsables de diseñar y ejecutar un programa de seguimiento de los puntos de calidad. El equipo encargado de esta tarea está integrado por personas de distintas áreas con diferentes conocimientos de manera que se cubra el proceso en la mayor parte. El diseño del sistema HACCP se visualiza en el Anexo 2 (Carro & Gonzáles, 2013).

Todas las instalaciones que se dediquen al manejo de alimentos deben contar con el HACCP considerando varios puntos establecidos según la sección 417 del manual HACPP. Lo primero que cada empresa dedicada al manejo de alimentos debe hacer es describir el tipo de producto que realiza, seguido de un diagrama de flujo en el que consten todos los pasos, posibles riesgos, peligros, puntos de control crítico para obtener el producto. La matriz diseñada con el plan HACCP en la que consten los índices descritos y acciones correctivas se puede ver en el Anexo 3 (United States Department of Agriculture & Food Safety and Inspection Service, 2005).

2.6 Generalidades del género *Staphylococcus* spp.

Staphylococcus pertenece a la familia Micrococcaceae, son cocos Gram positivos con un diámetro que oscila de 0.5 a 1.5 micras. Su mayor característica es que son grupos que se encuentran en forma de racimos (Tortora, Funke, & Case, 2007). Este microorganismo posee requerimientos nutricionales poco exigentes, por eso crecen en diversas condiciones ambientales, sin embargo, las temperaturas más adecuadas oscilan entre 30 y 37 °C y un pH de 7. Crecen en medios de cultivos habituales sin problemas, pero su crecimiento es mejor en agar sangre o manitol salado. Estos microorganismos pueden ser aerobios o anaerobios facultativos (Pahissa, 2009).

El género *Staphylococcus* está compuesto por 35 especies y 17 subespecies. Existen especies de este género que están asociadas con enfermedades del ser humano como: *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. schleferi* y *S. epidermidis* (Fernández, García, Pérez & de los Santos

2017). De estos solo *S. aureus* se caracteriza por producción de la enzima coagulasa que le permite a la bacteria coagular el plasma (Pahissa, 2009).

Su estructura posee una pared celular compuesta por peptidoglicano y los ácidos teicoicos. El peptidoglicano se encarga de dar la estructura y brindar estabilidad al microorganismo, también interviene en la patogenicidad ya que posee actividad de tipo endotoxina. Los ácidos teicoicos son polímeros unidos por un enlace covalente al peptidoglicano, se componen de N-acetil-glucosamina y ribitol, estos se encargan de unir a la bacteria a las superficies mucosas por medio de uniones específicas a la fibronectina. La membrana celular posee un complejo de proteínas, lípidos e hidratos de carbono que son la barrera osmótica de la célula. Algunas cepas de *Staphylococcus* se encuentran recubiertas por una capa de polisacáridos externos llamado *slime* o cápsula mucoide que le brinda una mejor adherencia y un mayor efecto antifagocítico (Pahissa, 2009).

Por lo general *S. aureus* en el ser humano puede existir dentro de la flora normal de la piel y mucosas. No obstante, el nicho ecológico principal de esta bacteria es las fosas nasales anteriores, a las cuales se les reconoce como una potencial fuente de infección y como un factor de riesgo elevado para subsecuentes infecciones invasivas (Montalvo, 2009).

Gracias a su fácil propagación estas bacterias se pueden transmitir de una especie a otra, su mecanismo de transmisión es por contacto directo, siendo las manos el factor más importante en la transmisión de este microorganismo. (Sejas, Zurita, Rodríguez, Espinoza, 2016).

2.7 Infecciones causadas por el género *Staphylococcus* spp.

Con respecto a la patogenia de *Staphylococcus*, este microorganismo al encontrarse en la piel y en las fosas nasales produce varias infecciones cutáneas acompañadas de una serie de síntomas. Sin embargo, el problema se presenta cuando estas bacterias llegan a la sangre, pulmones, huesos, articulaciones y corazón. Entre las especies del género *Staphylococcus* causantes de infecciones y enfermedades están: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S.*

chromogenes, *S. saprophyticus*, *S. xylosus* y *S. caprae*. El tratamiento consiste en administrar antibióticos o drenar las zonas afectadas (Rupal, 2014). Entre las enfermedades e infecciones relevantes están las siguientes:

2.7.1 Intoxicación Alimentaria: La intoxicación ocurre por la ingesta de alimentos contaminados con toxinas producidas por los *Staphylococcus* (Socorro, Ávalos, & Soto, 2015) Véase Fig. 4 A. Generalmente la intoxicación alimentaria por *S. aureus* se da por la mala conservación del alimento a temperaturas altas (60°C) o en temperaturas bajas (4°C). Los alimentos que constituyen un riesgo son los productos cárnicos, ensaladas, productos de aves, huevos y panadería. Los síntomas de la intoxicación causada por *S. aureus* son variados e incluyen los siguientes: vómito, náuseas, alergias, retortijones en el estómago y diarrea (Alarcón, Oyarzo, Escudero, Cerda, & Valenzuela, 2017) Véase Fig. 4 B.

Cuando la intoxicación alimentaria avanza es posible que se produzcan síntomas como: dolores de cabeza, deshidratación, calambres musculares y variación en la presión arterial (Alarcón et al., 2017). La intoxicación alimentaria depende de la sensibilidad del ser humano a la toxina, es decir la cantidad de alimento ingerido y el estado de salud. Por lo general, la intoxicación tiene una duración de dos-tres días.



Figura 4. Infecciones y enfermedades causadas por *S. aureus*. **A.** El consumo de alimentos contaminados por *S. aureus* causa intoxicaciones alimentarias. **B.** Brote alérgico en la piel causado por intoxicación alimentaria.

Tomado de: (ADAM quality, 2017).

2.7.2 Infecciones de la piel: Entre las infecciones de la piel más comunes están las siguientes:

Impétigo: Es considerada una infección bacteriana, causada por *Staphylococcus*. En la parte superficial de la piel se produce una inflamación y la aparición de ampollas grandes que terminan formando costras dolorosas (Véase Figura 5). Es posible contraer este tipo de infección si el líquido de las ampollas de la piel entra en contacto con zonas heridas de la piel (Bowen et al., 2015).



Figura 5. Impétigo con ampollas rojas y costras de color miel.

Tomado de: (Mayo Foundation for Medical Education and Research, 2019).

Forúnculos: Los forúnculos son infecciones que atacan al grupo de folículos y el tejido cutáneo. Los síntomas visibles son: bultos rojos, hinchados, acumulación de pus, enrojecimientos continuos (Véase Figura 6). Por lo general, el cuidado consiste en no apretar y pellizcar la zona de inflamación ya que la infección puede propagarse por todo el tejido. Los forúnculos aparecen en cualquier extensión del tejido cutáneo, se da principalmente en cuello, rostro, glúteos y axilas (Rupal, 2014).



Figura 6. Forúnculos formados en el tejido cutáneo.

Tomado de: (Mayo Foundation for Medical Education and Research, 2019).

Dermatitis: Las infecciones por *Staphylococcus* producen toxinas que causan dermatitis. Esta enfermedad afecta a bebés, niños y es caracterizada por ampollas, fiebre y erupción cutánea (Rupal, 2014). Véase Figura 7 A.

Síndrome de Choque Tóxico: El síndrome se presenta cuando las cepas de *Staphylococcus* producen toxinas y en el cuerpo humano causa heridas en la piel, erupciones cutáneas, dolores abdominales, náuseas, fiebres altas (Cadena, Barrera, Mendoza, & Montoya, 2018) Véase Fig. 7 B.



Figura 7. Infecciones de piel por *S. aureus*. **A-B.** Dermatitis caracterizada por ampollas y erupciones cutáneas **C.** Síndrome de Choque Tóxico caracterizado por manchas y heridas en la piel.

Tomado de: (EcuRed, 2012), (Mayo Foundation for Medical Education and Research, 2019).

2.7.3 Enfermedades graves

Endocarditis: La Endocarditis más común es la bacteriana, se produce cuando microorganismos, en este caso *S. aureus* ingresan al corazón, provocando una inflamación en su membrana interna. Las lesiones en la piel causadas por la endocarditis se presentan como manchas de color púrpura localizadas en las manos y plantas de los pies (Lesión de Janeway), así mismo se presentan lesiones subcutáneas con dolor intenso de color rojo. Esta inflamación puede causar daños en las válvulas del corazón perjudicando el estado de salud de la persona (Chang, Vásquez, & López De La Vega, 2014) Véase Fig. 8.



Figura 8. Lesión de Janeway producida por endocarditis en la palma de la mano, la cual presenta lesiones subcutáneas.

Tomado de: (Chang et al., 2014).

Bacteriemia: Es un tipo de infección causada por la presencia de microorganismos en la sangre. Las bacterias causantes de esta infección son: *S. aureus*, *E. coli*, *Staphylococcus* coagulasa negativo (*S. epidermidis*, *S. cohnii*, *Enterococcus* y *Streptococcus*. La entrada de bacterias está asociada a intervenciones quirúrgicas, dispositivos insertados, neumonías y abscesos. En algunos casos la bacteriemia puede provocar septicemia, sepsis, shock acompañada de síntomas como: fiebre alta y posteriormente daño de órganos (Herrera & Santos, 2015) Véase Fig. 9.



Figura 9. La Bacteriemia en algunos casos conduce a septicemia, la cual está acompañada de síntomas como fiebres altas, piel manchada e inflamada.

Tomada de: (Medical Press, 2018)

Infecciones protésicas y de catéter: Las especies de *Staphylococcus* caracterizados por ser coagulasa negativos, principalmente *Staphylococcus epidermidis*, es una bacteria que generalmente causa infección en los implantes, catéteres y en las prótesis articulares (Palomino et al., 2017). Los microorganismos logran alcanzar la prótesis en el quirófano, en el proceso post-operatorio (Gómez, Ibáñez, & González, 2008).

Los agentes causantes de este tipo de infecciones en su mayoría son: el material del catéter, la vía del catéter, la situación del enfermo y el sitio de inserción del catéter. Los síntomas de estas infecciones se manifiestan con enrojecimiento en las zonas afectadas, brotes epidémicos y salida de pus. Entre las complicaciones frecuentes se encuentran tromboflebitis séptica, endocarditis y bacteriemia (J. García, De Pablos, & Gutiérrez, 2010) Véase Fig. 10.



Figura 10. Paciente con infección presenta el área enrojecida alrededor del catéter venoso colocado.

Tomada de: (Añez, 2011).

Infecciones del tracto Urinario: La mayoría de las infecciones ocurridas en el tracto urinario se da en mujeres jóvenes, y la causa principal se da por *Escherichia Coli*. Sin embargo, dentro del género *Staphylococcus*, existe una bacteria causante de este tipo de infección y es precisamente *S. saprophyticus* y en menor frecuencia *S. caprae* (Fariña et al., 2013).

S. saprophyticus causa infecciones urinarias bajas (cistitis). Los síntomas que se presentan en las infecciones son: dolor lumbar, al orinar y fiebre (Echevarría, Sarmiento, & Osoreo, 2006).

Mastitis: Es una inflamación que ocurre durante la lactancia de uno o varios lóbulos del tejido mamario, puede o no presentarse una infección. Los agentes causantes de las mastitis son la colonización bacteriana y la retención de leche (Paricio, 2017). Las bacterias que frecuentemente causan mastitis son: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus viridans* (Espínola, Costa, & Paricio, 2016) y en el caso de animales, *S. chromogenes* es el causante de provocar mastitis al ganado vacuno y bovino (Dos Santos et al., 2016) Véase Fig.11.



© MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH. ALL RIGHTS RESERVED.

Figura 11. Mastitis en el tejido mamario. La zona afectada presenta inflamación, hinchazón y enrojecimiento.

Tomada de: (Alan & Chisholm, 2015).

3. Capítulo III. Procedimientos

3.1. Población y muestra

El presente proyecto de investigación se desarrolló en el laboratorio de investigación de la Universidad de las Américas, bajo la supervisión del Doctor Jacobus De waard y Doctora Ismar Rivera. Las muestras adquiridas de Galápagos cuentan con la guía sanitaria para movilización de muestras (N.º 148-ABG-2019) además, existe una inclusión del proyecto en el contrato marco de accesos a los recursos genéticos de la ABG con N.º Oficio ABG-CT-2019-0048-M.

3.1.1 Población

La población de estudio fueron 102 muestras de carne en el punto final del camal (salida de la carne al consumidor) ubicadas en la isla Santa Cruz-Galápagos, 52 hisopados nasales que fueron obtenidos de los dueños de las fincas y trabajadores de la Empresa Pública para el Sistema Integral de Faenamiento de la isla Santa Cruz- Galápagos.

3.1.2 Muestra

La recolección de muestras en humanos fue mediante muestreo no probabilístico por selección intencional. Para las muestras de vacas se realizó el cálculo de la muestra aplicando la formula estadística para tamaño de muestra. Se tomó en cuenta el número de vacas que son faenadas por mes siendo 138 vacas. Se obtuvo una muestra de 102 con un nivel de confianza de 95%, un margen de error de 5% y un Z alfa/2 de 1,96.

3.2 Toma de muestras

3.2.1 Recolección muestras carne de bovino

La recolección de la muestra de carne se dio en el punto final del camal (salida de la carne al consumidor). La obtención de la muestra se realizó con mascarilla y guantes estériles, se colocó una cuadrícula de acero de 10x10 en la muestra (carne) en la parte del tórax, con una esponja humedecida en caldo letheen compuesto por peptona de carne 10.0, extracto de carne 5.0, lecitina de soja 0.7, cloruro de sodio 5.0 y un pH final 7.0 ± 2 (Britania, 2015). Se lavó la parte que delimita la cuadrícula, luego la esponja se guardó en una funda ziploc estéril a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ según lo descrito por World Bioproducts - Sponge sampling device, (2019). Se trasladó la muestra en un cooler por aproximadamente 30 minutos. En el laboratorio ABG se exprimió la esponja y se colocó 1mL de la muestra en 200 μL de glicerol puro autoclavado, estos microtubos se refrigeraron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.2.2 Recolección hisopos nasales

3.2.2.1 Consideraciones Éticas

Se realizó un consentimiento informado de acuerdo al Comité de Bioética de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ) el cual se entregó a cada participante durante la toma de muestras. En este documento se explicó el objetivo y fundamento del proyecto de investigación. En la parte final del mismo, se encuentran los espacios para que las personas que aceptaban voluntariamente firmen y completen la información solicitada (Anexo 4).

3.2.2.2 Toma de muestras de hisopados nasales

Las muestras de hisopado nasal fueron obtenidas de los dueños de las fincas y trabajadores del camal, siguiendo las medidas adecuadas de asepsia, utilizando guantes y mascarillas respectivamente. El procedimiento aplicado para cada hisopado de las fosas nasales fue adquirido de Fosch et al., (2012) y la metodología llevada a cabo se detalla a continuación.

Se inclinó suavemente la cabeza de la persona hacia atrás con una mano sosteniendo la mandíbula, con la otra mano, se insertó la punta del hisopo de algodón estéril en la parte frontal de una de sus fosas nasales, se frotó suavemente el hisopo contra la pared de la fosa nasal con un movimiento rotatorio, después se sacó el hisopo de la fosa nasal y utilizando el mismo hisopo se tomó la muestra de la otra fosa nasal. Finalmente se introdujo el hisopo en el microtubo con medio de transporte Stuart y se cortó la varilla para que sólo quede la porción adherida al hisopo dentro del microtubo. Se cerró el microtubo firmemente y se mantuvo a -4°C hasta su traslado al laboratorio ABG por aproximadamente 30 minutos, luego estos microtubos se refrigeraron a -20°C .

3.3 Aislamiento e identificación de *Staphylococcus* spp.

Las muestras fueron aisladas en medio selectivo manitol salado, este agar contiene una concentración elevada de sal (10%), azúcar manitol y rojo fenol como indicador de pH (Britania, 2019). Tanto para las muestras de humanos y de canales, se dividió las cajas Petri en dos y se escribió el código de la muestra en cada división. Para las muestras de humanos se procedió de la siguiente forma: con el mismo hisopo se realizó un frotis y se dejó incubar por 24 horas a 37°C. Para las muestras de canales se colocó 50 µL de la mezcla de caldo letheen y se inoculó mediante estriado por cuadrantes. Luego se escogieron colonias fermentadoras y no fermentadoras del medio manitol salado. A continuación, las colonias aisladas se inocularon mediante estriado por agotamiento en el medio BHI (Brain Heart Infusion) agar nutritivo compuesto por infusión de cerebro y corazón de ternera, glucosa y peptona (Dickinson, 2013). Finalmente, las placas se incubaron por 24 horas a 37°C.

3.3.1 Pruebas bioquímicas

Para la identificación del género *Staphylococcus* se realizó las siguientes pruebas bioquímicas detalladas a continuación:

3.3.1.1 Catalasa

Para la prueba de catalasa se utilizó peróxido de hidrogeno al 30 %, se tomó con el asa una colonia aislada del medio BHI y se inoculó en el porta objetos, a continuación se colocó una gota de peróxido, de este modo cuando el microorganismo es catalasa positiva se desprenden burbujas (Rodríguez, Coronado, Hernández, & García, 2005).

3.3.1.2 Coagulasa

En la prueba de coagulasa, primero se extrajo de voluntarios sangre venosa tipo O positivo en tubos BD Vacutainer con citrato de sodio, luego se centrifugaron por 15 minutos a 8000 rpm. A continuación, se separó el plasma en tubos de ensayo, se colocó dos asas de colonias aisladas en el mismo y se incubaron por 24 horas a 37°C. De este modo si el microorganismo es coagulasa positiva se visualiza la formación de un coágulo (Koneman & Allen, 2008).

3.3.1.3 DNasa

Para la prueba de DNasa se dividió en 4 partes las placas y se escribió el código de cada muestra. Luego a partir del cultivo puro se inoculó en la placa mediante un estriado. A continuación, se agregó ácido clorhídrico 1N. De forma que si se visualiza un halo claro alrededor del crecimiento bacteriano es considerado como DNasa positiva (MacFaddin, 2003).

3.3.1.4 Tinción Gram

Las bacterias se identificaron mediante observación microscópica. Se realizó un frotis en los portaobjetos de las colonias aisladas, se fijó la muestra y se procedió según lo descrito por Forbes (2009). De esta manera si se visualiza una coloración rosada (Gram negativas) y coloración morada (Gram positivas).

3.3.2 Congelamiento de las muestras

En la cámara de flujo, se colocó 1 mL del medio BHI con Glicerol en microtubos de 1.5 mL. A continuación, se tomó de una a dos colonias aisladas y se colocó en el microtubo, después se agitó con vórtex. También se colocó en microtubos 200 µL de TE y se tomó de dos a tres asas del cultivo puro. Todos los microtubos se congelaron a -80 °C.

3.4 Extracción y amplificación de ADN.

3.4.1 Extracción ADN

Protocolo de extracción 1

Se colocaron dos a tres colonias en 200 μ L de medio TE, estas muestras se calentaron a máxima temperatura por 10 minutos y luego se centrifugaron por 5 minutos a máxima velocidad.

Protocolo de extracción 2

Se realizó la extracción de ADN mediante el protocolo de Dewaard y colaboradores (2019), con modificaciones (Anexo 5).

3.4.2 Amplificación

Se realizó una PCR punto final para determinar la presencia del gen constitutivo ARN ribosomal 16s, este gen posee 756 pb.

Tabla 1.

Protocolo para ARN 16s

25 μ L la mezcla se hizo específica para cada reacción.

Reactivos	Ci	Cf	1Rx
PCR Master Mix Green	2X	1X	12.5 μ L
Staph 756F (16s rRNA forward primer)	5 μ M	0.4 μ L	2 μ L
Staph 756R (16s rRNA reverse primer)	5 μ M	0.4 μ L	2 μ L
Agua	-	-	3.5 μ L
ADN	-	-	5 μ L

Tabla 2.

Condiciones termociclador para ARN 16s

Condiciones	
1 ciclo	94 °C por 2 minutos
35 ciclos	94 °C por 30 segundos
	58.2°C por 45 segundos
	72°C por un minuto
1 ciclo	72°C por un minuto

3.5 Electroforesis y visualización de geles

Se preparó un gel de agarosa al 1%, se mezcló con buffer TBE 1X, después se fundió la agarosa en el microondas. Posteriormente se añadió 1 µL de SYBR Safe por 100 mL de gel, se agitó para homogenizar la muestra. Enseguida se colocó en la cámara de electroforesis el gel líquido con el SYBR Safe, también se colocaron los peines en el extremo superior. Se esperó hasta que se solidifique por completo y se retiró los peines. Luego se llenó la cámara de electroforesis con TBE 1X hasta que el gel este cubierto completamente. Posteriormente se cargaron las muestras en cada pocillo, se conectó la fuente de poder y se tapó con papel aluminio. Se corrió la electroforesis a 100 V por 15 y 30 minutos. Finalmente, se analizaron los resultados usando ImageLab y se foto documento los resultados (Green & Sambrook, 2012).

3.6 Secuenciación

Se secuenció el gen ARN 16s mediante la técnica de SANGER para los aislados confirmados como *Staphylococcus* spp. mediante el servicio de secuenciación de la Universidad de las Américas.

3.6.1 Análisis BLAST

Los resultados obtenidos del método de secuenciación SANGER, fueron analizados en el BLAST del NCBI. En el cual se colocó cada secuencia de las diferentes muestras. Este programa informático muestra distintos resultados como: el E- value de menor a mayor, Query cover y el porcentaje de identidad con la especie encontrada. De esa manera se halló la especie de cada muestra tanto en vacas como en humanos (Anexo 6).

3.7 Evaluación estadística de los resultados

Para la identificación de género *Staphylococcus* se realizó una estadística descriptiva, utilizando el programa Excel para elaborar tablas acerca de los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas. Además, se realizó una tabla que correlaciona los resultados de las pruebas bioquímicas versus los resultados de secuenciación. Finalmente, se elaboró gráficas de pastel reportando el porcentaje de cada especie identificada tanto en humanos como en canales.

4. Capítulo IV. Resultados y Discusión

4.1 Análisis microbiológico de las muestras de *Staphylococcus*.

4.1.1 Análisis de las pruebas fenotípicas

En la tabla 3 se aprecian los resultados en porcentajes de las pruebas microbiológicas para los aislados de humanos y canales. En el agar manitol salado se obtuvieron abundantes colonias grandes con fermentación de color amarillo (Ver Anexo 7). Este resultado coincide con lo esperado ya que según Forbes (2009), los microorganismos como *S. aureus* crecen en presencia de sal de esta forma fermentan el manitol produciendo colonias que alrededor tienen un halo amarillo. También existen otros *Staphylococcus* como *S. xylosus* que poseen la capacidad de fermentar el manitol como *S. aureus*. Esto se debe a

que el indicador rojo fenol presente en el agar tiene un pH de 8,2 que al estar en presencia de estos microorganismos produce ácido en el medio causando una reacción con el indicador y bajando el pH a 6,8 generando el cambio de color de rojo a amarillo (Duran, Zhurbenko, & Viera, 2004; Pérez & Villaverde, 1997; Granados & Villaverde, 1970; Grayson & Arffa, 1999; Santamaría, Comba, & Pérez, 2015).

Adicionalmente, también se obtuvo como resultado colonias sin cambio en el medio con fermentación roja-rosada (Ver Anexo 8). En efecto esto concuerda con lo esperado según Murray, Rosenthal & Pfaller (2013), existen *Staphylococcus* que crecen en concentraciones altas de sal, pero no fermentan el manitol, por tanto, se visualizan colonias rojas-rosadas que se hallan rodeadas de un halo del mismo color. Tal es el caso de las especies como: *S. epidermidis*, *S. chromogenes*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*, *S. capitis* y *S. scheeleiferi*. Sin embargo, también existen ciertas especies que presenta una fermentación del manitol variable, es decir, pueden fermentar o no el manitol salado, tal como: *S. haemolyticus*, *S. caprae*, *S. cohnii* y *S. saprophyticus* (Fariña et al., 2013; García, 2005; Leboffe & Pierce, 2019; Tortora et al., 2007).

Por lo antes descrito se infiere que este es un medio selectivo empleado para diferenciar *Staphylococcus* fermentadores y no fermentadores del manitol. Sin embargo, en este medio puede existir un crecimiento muy débil de *Enterococcus* y *Streptococcus*. Esto puede darse porque la concentración de sal no fue la adecuada, el medio presentaba agrietamiento, decoloración u otro signo de deterioro, es decir no se cumplió con los criterios de rendimiento óptimos del medio. De esta forma es necesario que luego los microorganismos aislados sean sometidos a otras pruebas de diferenciación para confirmar su identidad (Dickinson, 2013; Edberg & Miller, 2014; O'Leary, 1989).

Por otra parte, se realizó la prueba de catalasa, como se aprecia en la tabla 3 todas las muestras fueron catalasa positiva 100% (126/126) (Ver Anexo 9). Este resultado se asemeja a lo expuesto por Pahissa (2009), quien explica que la efervescencia generada por estos microorganismos Gram positivos se debe a que son capaces de producir una enzima llamada catalasa, la cual al entrar en

contacto con el peróxido de hidrogeno cataliza la liberación de las moléculas de agua y oxígeno, causando una producción rápida de burbujas (Harrigan, 1998; Narang, 2008; Engelkirk & Duben-Engelkirk, 2008; Socorro, Ávalos, & Soto, 2015; Stanier & Villanueva, 1996).

En cuanto a la prueba coagulasa, como se aprecia en la tabla 3 todas las muestras de canales fueron coagulasa negativa (102/102) (Ver Anexo 10). Este resultado concuerda con lo esperado ya que según Aranda et al., (2015), la ausencia del coágulo se debe a que el microorganismo no presenta la enzima coagulasa capaz de formar el coágulo de fibrina (Palavecino, 2002; Rupp & Archer, 1994; Samaranayake, 2011).

Así mismo, como se ve en la tabla 3, el 21% (5/24) de las muestras de humanos fueron coagulasa positiva (Ver Anexo 11). Según Todar (2015), la única especie de *Staphylococcus* capaz de formar este coágulo es *S. aureus*, esto se debe a que la enzima exocoagulasa presente en este microorganismo, participa en la activación del factor sérico (CRF) originando un complejo coagulasa-CRF que reacciona con el fibrinógeno y forma el coágulo de fibrina (Cavallini, Gamboa, Hernández, & García, 2006; Cervantes, García, & Salazar, 2014).

De hecho se conoce que esta prueba de coagulasa es empleada para diferenciar la especie *Staphylococcus aureus*, de otras especies de *Staphylococcus* que son coagulasa negativa porque carecen de esta enzima termoestable (Aties et al., 2016; Qian, Eichelberger, & Kirby, 2007). Por tanto, en las muestras de canales no se identificaron *S. aureus*. Esto se relaciona con un estudio realizado por Bochniarz, Wawron, & Szczubiał (2013), en el cual gracias a la prueba coagulasa se pudo diferenciar *Staphylococcus* coagulasas negativas de *S. aureus* en muestras de carne y leche de vacas.

Por otra parte, tenemos la prueba DNasa como se observa en la tabla 3 un total de 56 (46%) muestras (humanos-canales) dieron positivo para la prueba indicando la presencia de un halo (Ver Anexo 12). Estos resultados fueron los esperados ya que ciertas especies de *Staphylococcus* tienen actividad DNasa, esto sucede porque en el medio se encuentra el ácido desoxirribonucleico polimerizado que al entrar en contacto con los microorganismos que tienen las

enzimas desoxirribonucleasas lo hidrolizan formando una zona transparente alrededor de los organismos inoculados. Tal es el caso de las especies como: *S.aureus*, *S. epidermidis* (Cheesbrough, 2000; Kateete et al., 2010; Porres & Ruiz, 2018).

Sin embargo, esto no solo ocurre en las cepas de *S. aureus* y *S. epidermidis* sino en casi todas las especies de *Staphylococcus* ya que según Kloos & Schleifer (1975), en su estudio de aislamiento y caracterización de *Staphylococcus* de piel humana, reveló que *S. xylosus*, *S. cohnii* y *S. saprophyticus*, tiene la capacidad de producir enzimas desoxirribonucleasa. Esto puede deberse a que la producción de DNasa suele resultar como un mecanismo de agresión lo que significa que ciertas bacterias muestran esta nucleasa como indicativo de patogenicidad (Carloni, Bentancor, & De Torres, 2005; Dongyou Liu, 2011; MacFaddin, 2003).

Finalmente, también se aprecia en la tabla 3 que un total de 70 (56%) muestras (humanos-canales) fueron DNasa negativa, no se visualizó la presencia del halo (Ver Anexo 13). Esto concuerda con lo esperado ya ciertos *Staphylococcus* tienen actividad débil o nula de DNasa. Esto se debe a que hay especies que carecen de las enzimas desoxirribonucleasas (Fariña et al., 2013; Menzies, 1977; Struthers & Westran, 2003).

Tabla 3.

Resumen de los resultados microbiológicos para los aislados de humanos y canales

Pruebas Bioquímicas	Manitol Positivo		Manitol Negativo		Catalasa Positivo		Catalasa Negativo		DNasa Positivo		DNasa Negativo		Coagulasa Positivo		Coagulasa Negativo	
	#	%	#	%	#	%	#	%	#	%	#	%	#	%	#	%
Humanos	24	46	28	54	24	100	0	0	5	21	19	79	5	21	19	79
Canales	102	100	0	0	102	100	0	0	51	50	51	50	0	0	102	100
Total	126	82	28	18	126	100	0	0	56	44	70	56	5	4	121	96

4.2 Identificación de *S. aureus* en humanos y canales

4.2.1 Identificación de *S. aureus* en humanos

En la Figura 12 se aprecia los resultados de la identificación de *S. aureus*, la cual representó un 23% (5/24) de las muestras en humanos. Los aislados de *S. aureus* fueron encontrados en las muestras de personas que estuvieron en contacto directo con el ganado bovino y el proceso de faenamiento. Estos resultados son similares a otras investigaciones que analizaron muestras provenientes de fosas nasales en Colombia, obtuvieron una prevalencia de *S. aureus* del 28,7%; mientras tanto, en Portugal, este microorganismo representó el 19,8% por su parte, en Missouri, se aisló un 21,5% de estas cepas (Africano, Méndez, Holguín, Pachón, & Rojas, 2013; Castro, Santos, Meireles, Silva, & Teixeira, 2016; Kottler, 2008). Estos estudios demuestran que la colonización de *S. aureus* se dio ya que este microorganismo habita de forma natural en las narinas, garganta y en el tejido cutáneo de los seres humanos (Graber, 2017; Ward et al., 2018; Madsen et al., 2018).

Adicionalmente, como se visualiza en la Figura 12, el 77% (19/24) de los resultados corresponde a otras especies del género *Staphylococcus* como son: *S. caprae* y *S. epidermidis*. En un reporte realizado por Baos (2017), se encontraron resultados similares al identificar este tipo de especies que, aunque son poco frecuentes, han sido aisladas en humanos. La colonización de estas bacterias ocurre debido a que, al igual que *S. aureus*, están presentes en la superficie corporal, formando parte de la flora normal de la piel, axilas, cabeza y uñas (Gowda, Pensiero, & Packer, 2018; Requena & Velasco, 2019).

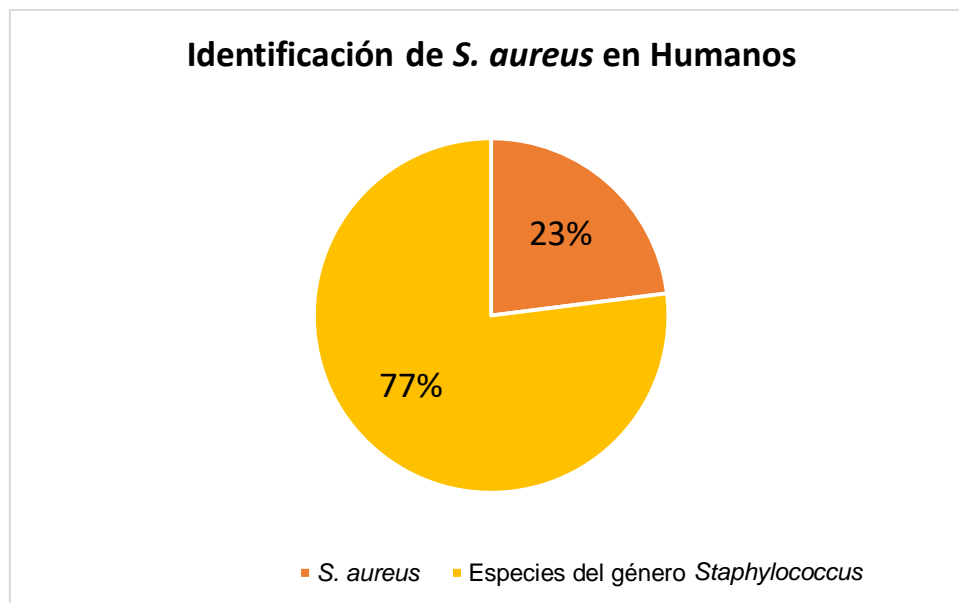


Figura 12. Identificación de *S. aureus* en muestras de humanos.

4.2.2 Identificación de *S. aureus* en canales

En la Figura 13 los resultados muestran que no se encontró *S. aureus* 0% (0/12) en las muestras de canales. Los resultados obtenidos se asemejan a dos estudios realizados en Ecuador y México, en los cuales no se aisló *S. aureus* en ninguna de las muestras de carne bovina provenientes de mataderos; de hecho, se halló en mayor prevalencia *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. (Delgado et al., 2015; Sagrario et al., 2007). La ausencia de *S. aureus* podría deberse a una distribución irregular de la bacteria en el alimento, es decir, a pesar de que en la zona de muestreo no se encontró el microorganismo, este pudo haber estado en otro sitio de la carne que no fue considerado en el estudio (Periago, 2013). Adicionalmente, esto podría darse debido a un fallo en la detección, ya que según Arroyo (2008), es necesario utilizar un medio de enriquecimiento para lograr recuperar *S. aureus* de muestras que en un inicio resultan negativas ya que al ser inoculadas directamente en su medio selectivo, el microorganismo pudo no tener las condiciones óptimas para su crecimiento.

Por otra parte, como se aprecia en la Figura 13, el 100% (12/12) correspondió a otras especies del género *Staphylococcus* en las muestras de canales. La

diversidad encontrada se compara con un estudio realizado en Argentina por Porcel, Urueña, Gaudio, & de Castillo (2013), en el cual se identificaron diferentes especies de *Staphylococcus* coagulasa negativa, representando el 93% de las muestras obtenidas en una fábrica dedicada al sector alimenticio. La colonización de estas bacterias podría deberse a su capacidad de adherirse a superficies y estar presentes en la piel del animal, razón por la cual, en el presente estudio se encontró una mayor diversidad de las mismas en las muestras de carne (Fariña et al., 2013).

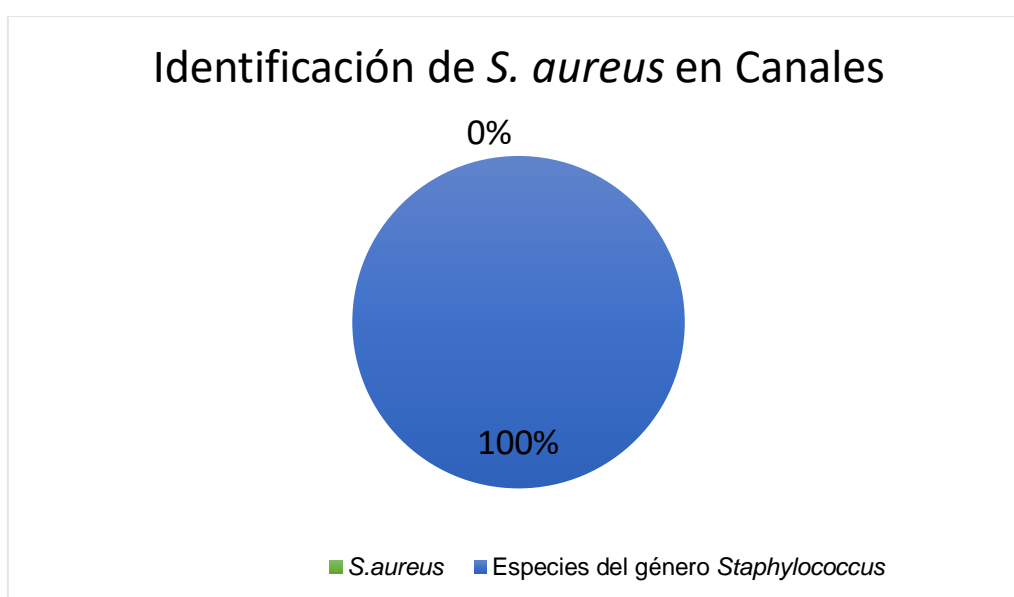


Figura 13. Identificación de *S. aureus* en muestras de canales.

4.3 Análisis Molecular PCR Punto Final

En las Figuras 14-16 se aprecia la amplificación del gen ARNr 16s para 12 muestras de canales y 24 de humanos. En la Figura 14 y 15 se observan bandas con una intensidad variada, por ejemplo: en la primera Figura existen bandas con una intensidad mayor (carriles 3-6) mientras que, en los carriles (28-31 y

carril 35) se observan bandas más débiles. Esta variación en la intensidad de bandas pudo deberse a que las muestras poseían concentraciones distintas de ADN total, lo cual puede afectar en la obtención del amplicón y la eficiencia de la reacción (Espinosa, 2012); ya que según Méndez & Pérez (2004) se ha demostrado que existen muchos factores que pueden influir en el resultado final de la PCR, siendo la concentración de ADN uno de los más importantes (Reyes & colaboradores, 2015).

Por otra parte, la utilización de diferentes métodos de extracción pudo influir en la concentración del ADN, como lo reportan varias investigaciones (Desloire, Moro, Chauve, & Zenner, 2006; Lazarevic, Gaïa, Girard, François, & Schrenzel, 2013; Sengüven, Baris, Oygur, & Berktaş, 2014). En el presente estudio, se obtuvo ADN utilizando Buffer TE y un nuevo kit de extracción. Se ha demostrado que el uso del Buffer TE permite obtener resultados de amplificación; no obstante, se ha comprobado que al trabajar con protocolos de extracción donde únicamente se utiliza ebullición con TE, la concentración de ADN resultante presenta variabilidad, lo cual incide en la intensidad de las bandas (Acevedo, Navarro, Constantino, Zulma, & Benavides, 2007; Ahmed & Dabool, 2017). Además, el kit empleado en el estudio no ha sido validado para la extracción de ADN en bacterias. Según Al-Talib y colaboradores (2013), pese a que los kits no convencionales pueden ser probados, es necesario que antes se sometan a un proceso de validación.

Adicionalmente, en este estudio no se puede aseverar que las muestras tuvieran la concentración igual de ADN, ya que las extracciones fueron procesadas por diferentes operadores. Según Stiefel (2007) y Penacino (2015) la pericia del operador es un factor determinante para la eficiencia del resultado, ya que es posible que existan errores técnicos, por ejemplo: fallo en la toma de volumen, error en la suspensión de la muestra y diferencias en el tiempo de procesamiento.

Por otro lado, las muestras pudieron presentar una calidad baja de ADN, lo cual no fue posible verificar ya que no se realizó ningún método de espectrofotometría. La baja calidad de ADN explicaría la ausencia de

amplificación de ciertas muestras como se observa en la Figura 16. Esto pudo deberse a la extracción con Buffer TE, ya que este método puede tener alta contaminación de proteínas e impurezas en la muestra, afectando a la calidad del material genético y a la eficiencia de la reacción (Díaz, Garrote, Vigil, Suárez, & Mugica, 2013; Oliveira, Da Silva, Reiter, & Rieger, 2014; Sambrook & Russel, 2012; Yahya, Firmansyah, Arlisyah, & Risandiansyah, 2017).

Finalmente, es importante recalcar que esta PCR no ha sido estandarizada para las condiciones aquí mostradas, esto se pudo evidenciar con la presencia de dímeros de primers los cuales afectan directamente a la eficiencia de la reacción y a la especificidad del producto (Greif, 2014). Por tanto, para evitar amplificaciones de secuencias inespecíficas y dímeros, esta técnica debe ser previamente estandarizada, considerando todos los posibles factores que influyan en el resultado final de la reacción (Ibarra, de Dios, & Velasquillo, 2013; Inocencia, Marcozzi, Del Rosario, D'angelo, & Rangel, 2013; Naranjo, Li, & Martínez, 2014).

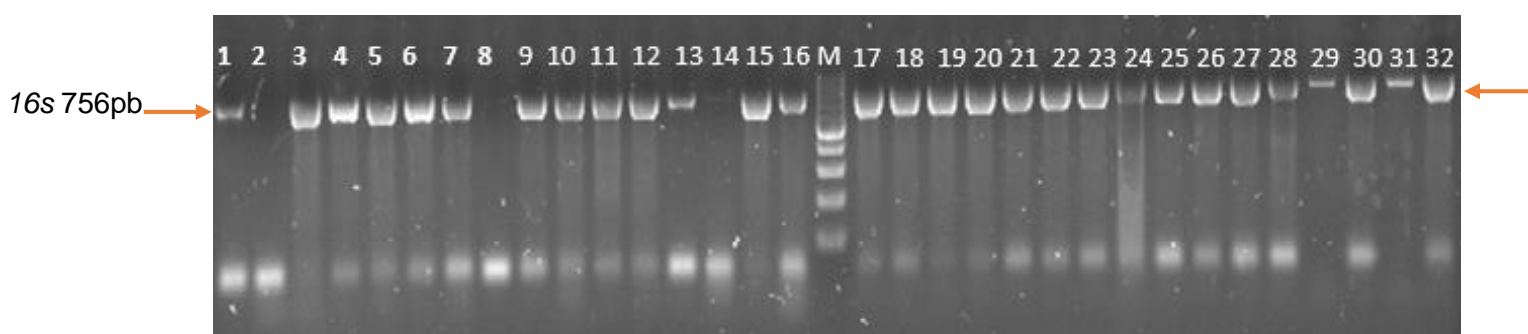


Figura 14. Productos de la PCR del gen ARNr 16s de muestras de canales y humanos, este gen consta de 756 pb. Carriles **1** (G-A-034-7859), **3** (G-A-046-3880), **5** (G-A-041-7424), **6** (G-A-02-5498), **7** (G-A-030-2874), **9** (G-A-94-7956), **10** (G-A-02-5498), **11** (G-A-70-7923), **12** (G-A-015-4264), **13** (G-A-068-2768) **14** (G-A-09-4239) y **15** (G-A-0102-4265): Corresponden a aislados de vacas. Carriles: **2** (G-H-04-A-P), **4** (G-H-03-V-J), **8** (G-H-01-C-A), **16** (G-H-02-E-M), **17** (G-H-028-V-P), **18** (G-H-013-G-C), **19** (G-H-027-L-C), **20** (G-H-012-L-C), **21** (G-H-026-A-P), **22** (G-H-010-M-C), **23** (G-H-020-L-A), **24** (G-H-09-E-T), **25** (G-H-019-J-Z), **26** (G-H-08-E-T), **27** (G-H-017-J-B), **28** (G-H-07-A-J), **29** (G-H-016-D-T), **30** (G-H-06-C-A), **31** (G-H-015-N-M) y **32** (G-H-05-Z-M): Corresponden a

aislados de humanos. **M**: Marcador molecular 100 pb TrackIt DNA Ladder (*Invitrogen*[™], 2017). Carril **17**: Control negativo. Las flechas naranjas señalan la banda que representa la presencia del gen.

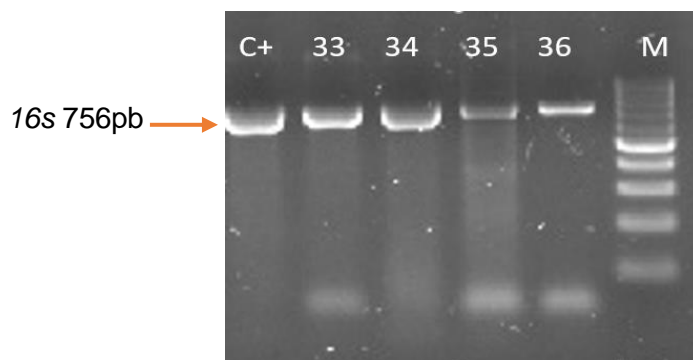


Figura 15. Productos de la PCR del gen ARNr 16s de muestras de canales y humanos, este gen consta de 756 pb. Carriles **33** (G-H-043- V-L), **34** (G-H-041-J-M), **35** (G-H-030-P-C) y **36** (G-H-029-J-G): Corresponden a aislados de humanos. **M**: Marcador de tamaño molecular de 100 pb TrackIt DNA Ladder (*Invitrogen*[™], 2017). **C+**: Control positivo (*S. aureus* ATCC 25923). La flecha naranja señala la banda que representa la presencia del gen.

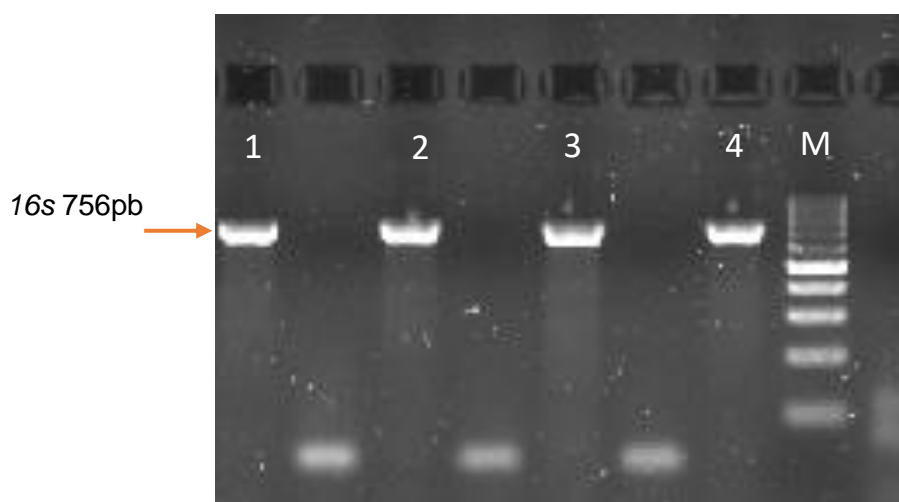


Figura 16. Productos de la PCR punto final del gen ARN 16s del total de muestras de vacas y humanos, este gen consta de 756 pb. Carril **1**. Control positivo (*S. aureus* ATCC 25923). Carriles **2** (G-H-01-C-A) y **3** (G-H-04-A-P): Corresponden a aislados de humanos. Carril **4** (G-A-09-4239): Corresponde a aislado de vaca.

M: Marcador de tamaño molecular de 100 pb TrackIt DNA Ladder (*Invitrogen*TM, 2017). La flecha naranja señala la banda que representa la presencia del gen.

4.4 Análisis de pruebas bioquímicas y secuenciación

En los Anexos 14-15 se observan las tablas comparativas entre las pruebas bioquímicas y los resultados de secuenciación de las muestras de humanos y canales respectivamente. Las muestras: 3, 6, 8,10, 17, 19, 20, 26, 27, 28, 30 y 41 corresponden a humanos y la muestra 46 a vaca. Estos aislados no coinciden en las pruebas microbiológicas y la secuenciación, los resultados de la secuenciación del gen ARN 16s arrojan que las muestras fueron identificadas como *S. epidermidis*, según lo expuesto anteriormente acerca de la prueba manitol salado se sabe que *S. epidermidis* presenta fermentación de color rojorosa, no obstante, en este estudio se observó fermentación amarilla. Este resultado es explicado por diversos estudios sobre las identificaciones erróneas (Ayeni, Andersen, & Nørskov-Lauritsen, 2017; Shittu, Lin, Morrison, & Kolawole, 2006; Vanderhaeghen, 2012) coinciden en que varias investigaciones han informado la fermentación de manitol salado asumiendo como especies fermentadoras de manitol sin embargo, cuando se han realizado pruebas moleculares los resultados han revelado especies *Staphylococcus coagulasa* negativa (SCN). De hecho, en un estudio realizado en Nigeria confirmaron *S. aureus* mediante pruebas microbiológicas, luego estas muestras fueron analizadas por la técnica de MALDI-TOF y sorprendentemente estos aislados resultaron ser *Staphylococcus coagulasa* negativa (Ayeni et al., 2017). Es así que diversas investigaciones han demostrado que alrededor del 40-50% de aislados confirmados en agar manitol salado (fermentación amarilla) luego de su detección por métodos moleculares de hecho son *Staphylococcus coagulasa* negativa (Becker et al., 2002; Blanc et al., 2004). Varios estudios han informado la fermentación de manitol en varias especies *Staphylococcus coagulasa* negativa, incluida *S. epidermidis* (Jayaratne y Rutherford, 1999; Blanc et al., 2003), *S. saprophyticus* (Mir et al., 1998), *S. warneri*, *S. hominis*, *S. cohnii*

(Becker et al., 2002; Blanc et al., 2004). La razón de este hallazgo aun no está clara y justifica una mayor investigación.

Además, en las muestras 17, 19 y 26 de aislados de humanos y en las muestras 2, 15, 68, 70 y 102 correspondientes a vacas el porcentaje de identidad fue menor a 99%. Este resultado es explicado por diversas investigaciones que hablan acerca de la secuenciación del gen ARN 16s (Becker et al., 2004; Hwang, Kim, Park, Song, & Kim, 2011; Karakulska et al., 2012) coinciden en que el gen ARN 16s no tiene mayor poder discriminatorio en la identificación de los aislado además señalan que la desventaja de la secuenciación es que adolece de la mala calidad de algunas secuencias depositadas en bases de datos, especialmente las secuencias del gen ARN 16s depositadas en GenBank, por lo cual ciertas secuencias presentan una menor distinción en la identificación de las especies (Heikens et al., 2005).

Finalmente en las muestras 9 y 12 correspondientes a aislados de humanos y en las muestras 25 y 94 de aislados de vacas, no se obtuvieron resultados en el programa informático BLAST, en el cual al introducir la secuencia el resultado fue que no se encontraron similitudes significativas en un microorganismo (J. Álvarez & Calaza, 2005). Este resultado podría deberse a que la secuencia dada presenta bases con mala calidad de lectura, bases altamente repetitivas, exista contaminantes, los alineamientos sean cortos o finalmente el fragmento podría ser un dímero de cebador, por lo cual puede conducir a una competencia de reactivos de PCR inhibiendo la amplificación de la secuencia del ADN (Bioinformatics at Comav, 2013).

Adicionalmente, este resultado también podría deberse a que la principal causa de que la reacción falle es la cantidad de ADN presente en la muestra. Esto podría deberse a que previo a la secuenciación no se cuantificó el ADN y la calidad del mismo no fue óptima. Por tanto, en la muestra podría haber una cantidad de ADN mínima o no existe ADN (Instituto de Investigaciones Biomédicas "Albert Sols," 2010). Además, otro de los problemas frecuentes es la detección de dímeros, la presencia de más de un amplificado y la ausencia del cebador (Bioinformatics at Comav, 2013).

4.5 Análisis de la prevalencia del género *Staphylococcus* spp.

4.5.1 Análisis de la prevalencia de *Staphylococcus* en humanos

En la Figura 17 se aprecian los resultados de prevalencia del género *Staphylococcus* en humanos. Se encontró la presencia de las siguientes especies: *S. epidermidis*, que representó el 64% (14/22), seguido de *S. aureus* con el 23% (5/22) y finalmente *S. caprae* con el 13% (3/22). Los resultados obtenidos sobre la frecuencia de *S. epidermidis* en humanos concuerdan con otros estudios a nivel de Latinoamérica, en donde esta bacteria representó entre el 40-80% de las muestras analizadas (Espejo, Rodríguez, Rodríguez, & Gómez, 2019; Fariña et al., 2013; Hernández, Quintero, Mesa, Molano, & Hurtado, 2005; Pinilla et al., 2017). Se halló una alta prevalencia de esta bacteria debido a que se encuentra distribuida por casi toda la superficie corporal en humanos, formando parte de la flora normal de la piel y de las fosas nasales (García, Pardo, & Seas, 2003; Minto, Barelli, Martínez, & Darini, 1999; Seija, 2006). Además, se conoce que la colonización de esta bacteria pudo actuar en competencia con microorganismos potentes como es el caso de *S. aureus*, que en el presente estudio se identificó en un porcentaje menor al de *S. epidermidis*, alcanzando el 23% (5/22) del total de la muestra estudiada (Baos, 2017; Janek, Zipperer, Kulik, Krismer, & Peschel, 2016; Lee et al., 2019).

Adicionalmente, otra de las especies identificadas corresponde a *S. caprae*, la cual representó el 13% (3/22). En varios estudios se encontró *S. caprae* en porcentajes significativamente menores al obtenido en este estudio, con valores entre el 0.6 y 2.4% de prevalencia (Li et al., 2017; Minto, Barelli, Martínez, & Darini, 1999; Ortega et al., 2019; Stahl et al., 2010; Vandenesch et al., 1995). En cuanto a nuestro estudio, el porcentaje fue mayor 13% (3/22), esto pudo deberse a que se tomaron muestras de hisopados de personas que trabajaban con ganado, se ha demostrado que *S. caprae* se aísla en mayor frecuencia de animales, por lo cual las personas que se encuentran en contacto directo con

animales como ovejas, cerdos, vacas y cabras, son más propensas a adquirir esta bacteria (D'Ersu et al., 2016; Seng et al., 2015).

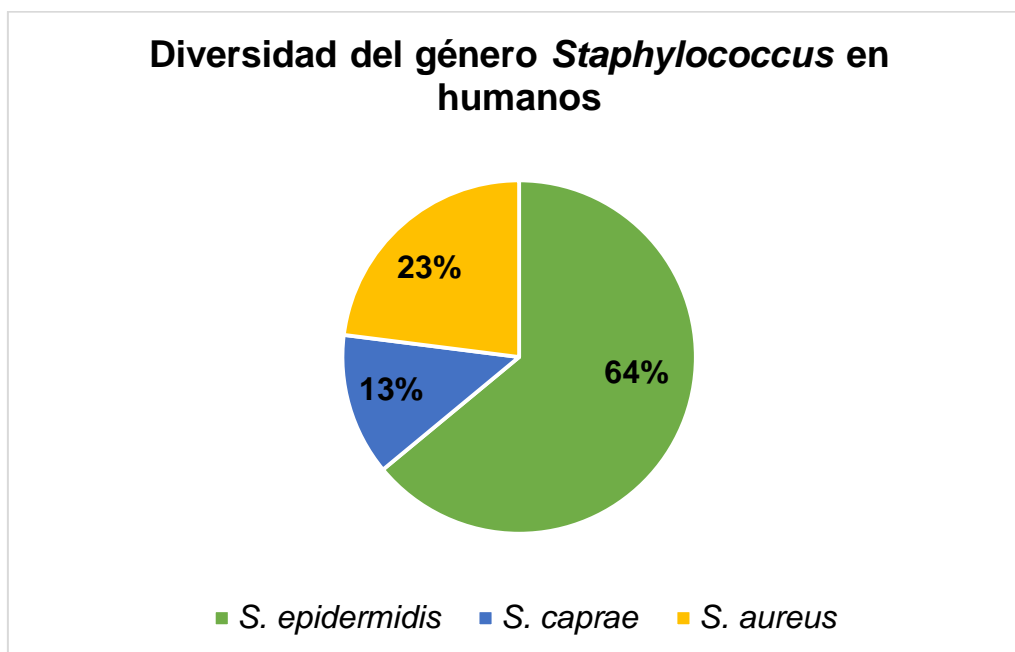


Figura 17. Prevalencia de *Staphylococcus* spp. en humanos.

4.5.2 Análisis de la prevalencia de *Staphylococcus* en canales

En la Figura 18 se aprecian los resultados de prevalencia del género *Staphylococcus* en canales. Se observan 5 especies: El 60% fue representado por *S. cohnii* 30% (3/10) y *S. saprophyticus* 30% (3/10), seguido de *S. chromogenes* con el 20% (2/10). En cuanto a *S. epidermidis* y *S. xylosus*, fueron las especies con menor prevalencia alcanzando apenas el 10% (1/10). Los resultados obtenidos para *S. cohnii* son similares a los reportados en varias investigaciones a nivel internacional, donde se encontró esta bacteria en superficies, mesones, maquinas, utensilios y en la carne proveniente de industrias del sector alimenticio, con porcentajes que variaron entre 18 y 23.5% de prevalencia frente a otras especies *Staphylococcus* coagulasa negativo (Brizzio, Tedeschi, & Zalazar, 2011; Fagerlund, Langsrud, Heir, Mikkelsen, & Møretrø, 2016; Marek, Pyzik, Pysniak, & Adaszek, 2016; Porcel et al., 2013). La colonización de *S. cohnii* reportada pudo deberse a que este microorganismo

presenta una gran habilidad para adherirse a células epiteliales y a varias superficies ya sean plástico, vidrio, acero, por lo cual se considera un microorganismo de fácil contaminación (Álvarez, Linares, Bailador, Suárez, & Olcoz, 2006; Duarte & Roa, 2018). Además, se ha visto que las especies de *Staphylococcus* coagulasa negativos tienen la capacidad de producir biofilms, es decir, que al agregarse pueden formar colonias grandes y de esta forma estar protegidas de agentes antimicrobianos (Aties et al., 2016; Fariña et al., 2013; García et al., 2019). Es por ello que, si no existen protocolos adecuados de desinfección en el faenamiento, las superficies de trabajo y utensilios pueden formar reservorios de esta bacteria y contaminar el producto final, como es la carne de consumo (Velez, Etcheverría, & Padola, 2016).

Por otro lado, la especie *S. saprophyticus*, tuvo un 30% (3/10) de prevalencia, seguida por *S. chromogenes* con un 20% (2/10). Estos resultados no concuerdan con los encontrados en otros estudios, donde la prevalencia de estas bacterias fue entre el 10.6 y 12.6% del total de las especies evaluadas (Denamiel, Puigdevall, Más, Albarells, & Gentilini, 2009; Mahmmod, Klaas, Svennesen, Pedersen, & Ingmer, 2018). En este estudio la alta prevalencia de estas especies pudo deberse a que formaban parte de la flora gastrointestinal tanto de vacas como de cerdos, también se encontraron en varias partes del ganado vacuno, como es el pelaje, la vagina y los pezones (Martín, 2014; Navarro, 2011). Por lo cual, es posible que estas bacterias se propagaron desde el primer paso del proceso de faenamiento, ya que es ahí cuando se lava al animal y posteriormente se retira el pelaje (Bohórquez & Theran, 2016; Ehlers & Merrill, 2018).

En cuanto, a *S. epidermidis* su prevalencia fue del 10% (1/10) en las muestras de canales. Esta baja prevalencia encontrada no se asemeja con varios reportes donde se aisló esta bacteria en carne de ganado bovino en donde los porcentajes fueron entre 20 y 22% (Maldonado, Rojas, Cajiao, Capacho, & Bermúdez, 2016; Podkowik et al., 2016). La baja presencia de este microorganismo pudo deberse a que *S. epidermidis* actuó en competencia con el resto de especies *Staphylococcus* encontradas en las muestras, las cuales están en mayor prevalencia tanto en el animal como en el producto final (Lee et al., 2019). La presencia de esta bacteria en la muestra pudo deberse a que ésta se encontraba

en las granjas habitadas por el ganado y en la piel de las personas que mantuvieron contacto con los animales, por lo cual pudo ser transmitido de humanos a vacas (Argudín, Butaye, & Vanderhaeghen, 2014; Jaglic et al., 2010). Finalmente, *S. xylosus* se encontró en igual prevalencia que *S. epidermidis* 10% (1/10). Su incidencia en este estudio es similar a los resultados obtenidos en varias investigaciones, en las cuales, de todos los aislamientos, *S. xylosus* representó entre el 9 y 40 % de muestras procedentes de vacas (Casaes, Pires, Pereira, Del Aguila, & Flosi, 2016; Martín, 2014; Vela et al., 2012). La presencia de esta bacteria pudo deberse a que tiene la capacidad de adaptarse a diferentes entornos, por lo cual se adhiere con facilidad a diferentes superficies (Navarro, 2011; Planchon et al., 2006). Además, se ha encontrado en la piel de humanos y animales (vacas, aves) y de forma natural en productos alimenticios como la carne y leche cruda (Burgos, López, Aguayo, Pérez, & Gálvez, 2011; Dordet, Dorchies, De Araujo, Talon, & Leroy, 2007). Es por ello, que en este estudio la fuente de contaminación de esta especie en la carne pudo venir tanto de animales como de humanos.

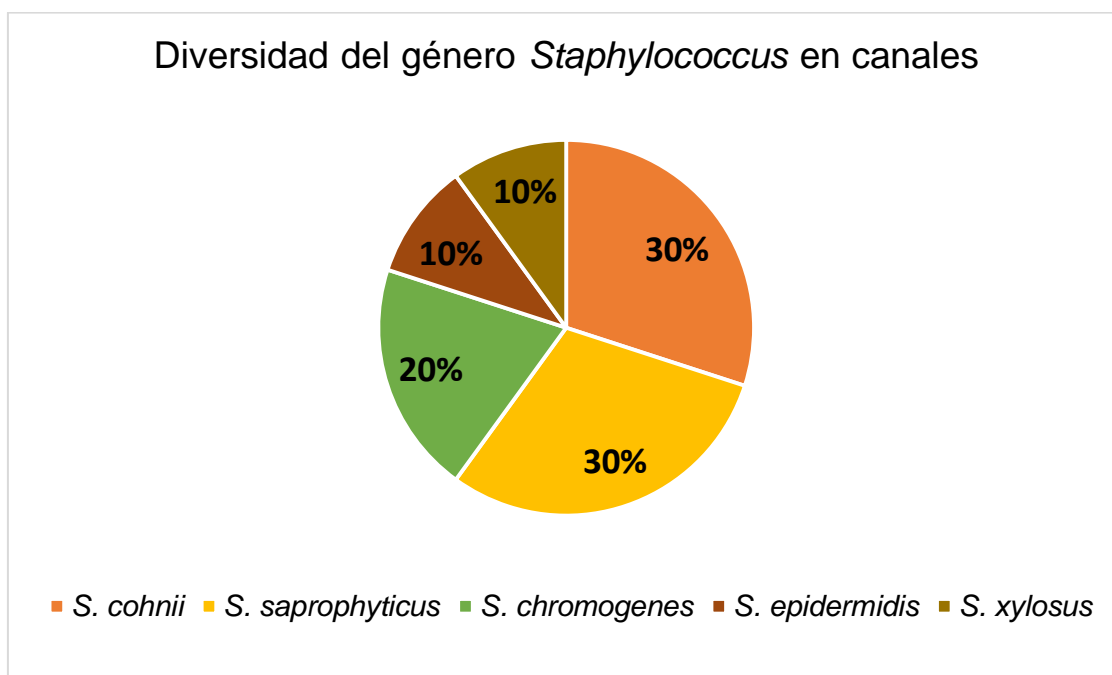


Figura 18. Prevalencia de *Staphylococcus* spp. en canales.

5. Capítulo V. Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Conclusiones

- Se evidencia alta diversidad de especies del género *Staphylococcus* spp. aisladas en muestras de carne y de hisopados nasales.
- Las especies aisladas se identificaron como: *S. aureus*, *S. caprae*, en muestras de humanos.
- La especie *S. epidermidis* se identificó en muestras tanto de humanos como en carne de vacas. Sin embargo, en humanos su prevalencia es mayor, ya que forma parte de la flora normal de la piel y de las fosas nasales.
- En muestras de carne de vaca se identificaron especies como: *S. cohnii*, *S. saprophyticus*, *S. chromogenes*, *S. xylosus*, esto pudo deberse a la capacidad que tienen estas especies para adherirse a células epiteliales y superficies, además, que se encuentran en varias partes del ganado vacuno.
- Existe una baja prevalencia de colonización de *S. aureus* en los trabajadores del centro de faenamiento de la isla Santa Cruz- Galápagos, además esta especie no se encontró en ninguna muestra de carne.
- Los resultados de este proyecto contribuyen a establecer una línea base de la prevalencia de estos microorganismos pertenecientes a una zona geográfica aislada.

5.2 Recomendaciones

Se recomienda que en estudios posteriores se realice la cuantificación de ADN, y a su vez, una estandarización de las condiciones de PCR.

Se recomienda emplear un método de extracción de ADN estandarizado, tomando en cuenta que métodos no convencionales puede influir en la cantidad del material genético obtenido.

En el centro de faenamiento, se debe considerar la desinfección de las superficies y utensilios con agentes que tengan acción bactericida, como es el caso de hipoclorito de sodio.

En el proceso de faenamiento es necesario mantener las condiciones sanitarias en cada punto desde la obtención de materia prima hasta el producto final, por lo cual es necesario realizar mejoras en las instalaciones que garanticen un proceso correcto de manipulación de la carne.

En el muestreo realizado a humanos, se debe tratar de tomar muestras de garganta, además de las fosas nasales, para tener resultados que abarquen más la investigación.

Es necesario realizar actividades de seguimiento y de vigilancia en el centro de faenamiento, de tal manera que se asegure que los manipuladores y trabajadores cumplan con las buenas prácticas de manufactura (BPM).

Se recomienda que para la identificación molecular a nivel de especies no solo se utilice el gen ARN 16s sino también se empleen genes mas específicos como por le ejemplo el gen *gap* para asegurar la identidad de las especies.

Se recomienda que además de realizar pruebas bioquímicas los aislados sean sometidos a otras técnicas moleculares para confirmar los resultados obtenidos previamente.

REFERENCIAS

- ADAM quality. (2017). Infecciones por *Staphylococcus aureus*. Recuperado de <http://mynmhc.adam.com/content.aspx?productId=618&pid=5&gid=000845>
- Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG), & Ministerio del Ambiente. (2017). *Informe de Gestión*. Ecuador.
- Ahmed, O., & Dablood, A. (2017). Quality Improvement of the DNA extracted by boiling method in Gram negative bacteria. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/315740913_Quality_Improvement_of_the_DNA_extracted_by_boiling_method_in_Gram_negative_bacteria
- Al-Talib, H., Yean, C. Y., Al-Khateeb, A., & Ravichandran, M. (2013). Comparative Evaluation of Three Different Methods of Genomic DNA Extraction for. *World Applied Sciences Journal*, 21(3), 424–427. <https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2013.21.3.2850>
- Alan, R., & Chisholm, A. (2015). Mastitis. Recuperado de <https://www.cancercarewny.com/content.aspx?chunkiid=103589>
- Alarcón, M. P., Oyarzo, C., Escudero, C., Cerda, F., & Valenzuela, F. (2017). Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico tipo A, en frotis nasofaríngeos en manipuladores de alimentos. *Rev Med*, 6. Recuperado de www.graphpad.com
- Álvarez, J., & Calaza, M. (2005). Acceso y manejo de datos genómicos. Recuperado de <http://mathgene.usc.es/cursoverano/cv2005/materiales/datosgenomicos/datosgenomicos.pdf>
- Álvarez, M., Linares, P., Bailador, C., Suárez, P., & Olcoz, J. (2006). Bacteriemia por *Staphylococcus cohnii* asociado a colecistitis aguda. Recuperado de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992006000100016

- Añez, C. (2011). Cateter venoso. Recuperado de <http://drcristiananez.com/salvaje-de-pie-diabetico-infectado/cateter-venosa-1/>
- Aranda, Y., Chiroque, G., Díaz, A., Rodríguez, Y., Velásquez, L., & Llenque, L. (2015). Frecuencia de aislamiento de *Staphylococcus aureus* Oxacilina resistente en quesos artesanales comercializados en el mercado La Unión (Trujillo, Perú) mayo-julio 2015 | Aranda Rojas | REBIOL, 13–18.
- Argudín, A., Butaye, P., & Vanderhaeghen, W. (2014). Antimicrobial resistance and population structure of *Staphylococcus epidermidis* recovered de pigs farms. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/275951180_Antimicrobial_resistance_and_population_structure_of_Staphylococcus_epidermidis_recovered_from_pigs_farms
- Arroyo, N. (2008). Avalúo Microbiológico de Peligros y Comparación de la Carne Molida de Venta al Detal de Procesadores Locales de Puerto Rico y los Importados de Estados Unidos . Recuperado de [http://bovinosparacarne.uprm.edu/publication/arroyollantin\[1\].pdf](http://bovinosparacarne.uprm.edu/publication/arroyollantin[1].pdf)
- Aties, L., Del Río, G., Escalona, R., Brossard, G., Figueredo, I., & Duret, Y. (2016). Biofilm detection in negative coagulasa staphylococcus and clinical epidemiological variables, 351–358. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=67826>
- Ayeni, F. A., Andersen, C., & Nørskov-Lauritsen, N. (2017). Comparison of growth on mannitol salt agar, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, VITEK® 2 with partial sequencing of 16S rRNA gene for identification of coagulase-negative staphylococci. *Microbial Pathogenesis*, 105, 255–259. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.02.034>
- Baos, E. (2017). *Caracterización y seguimiento de la resistencia a linezolid en staphylococcus epidermidis en la unidad de cuidados intensivos del Hospital Clínico San Carlos tras la descripción del primer brote de staphylococcus*

aureus linezolid resistente.

- Becker, K., Harmsen, D., Mellmann, A., Meier, C., Schumann, P., Peters, G., & Von Eiff, C. (2004). Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of *Staphylococcus* species. *Journal of Clinical Microbiology*, *42*(11), 4988–4995. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.11.4988-4995.2004>
- Bioinformatics at Comav. (2013). Secuenciación de Sanger. Recuperado el 10 de febrero, de 2020 de https://bioinf.comav.upv.es/courses/intro_bioinf/sanger.html
- Bochniarz, M., Wawron, W., & Szczubiał, M. (2013). Coagulase-negative staphylococci (CNS) as an aetiological factor of mastitis in cows, 1–6. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2013-0068>
- Bowen, A. C., Mahé, A., Hay, R. J., Andrews, R. M., Steer, A. C., Tong, S. Y. C., & Carapetis, J. R. (2015). The Global Epidemiology of Impetigo: A Systematic Review of the Population Prevalence of Impetigo and Pyoderma. *PLOS ONE*, *10*(8), e0136789. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136789>
- Britania. (2019). *Manitol Salado Agar*.
- Brizzio, A., Tedeschi, F., & Zalazar, F. (2011). Descripción de un brote de intoxicación alimentaria estafilocócica ocurrido en Las Rosas, Provincia de Santa Fe, Argentina. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/262468837_Descripcion_de_un_brote_de_intoxicacion_alimentaria_estafilococica_ocurrido_en_Las_Rosas_Provincia_de_Santa_Fe_Argentina
- Cadena, A., Barrera, C., Mendoza, R., & Montoya, C. (2018). *Síndrome de choque tóxico por Staphylococcus aureus* (Vol. 63). Recuperado de www.medigraphic.org.mx
- Carlóni, G. H., Bentancor, L. D., & De Torres, R. A. (2005). Bs. As; 2 Inst.Sanidad Ganadera, Perú 1655 (1141) Bs. As; 3 Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica. *Chorroarín*, *280*(1113).

- Carro, R., & Gonzáles, D. (2013). *Normas HACCP y Sistema de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control*. Argentina. Recuperado de http://nulan.mdp.edu.ar/1616/1/11_normas_haccp.pdf
- Casaes, S., Pires, C., Pereira, S., Del Aguila, M., & Flosi, M. (2016). Identification and molecular phylogeny of coagulase-negative staphylococci isolates de Minas Frescal cheese in southeastern Brazil: Superantigenic toxin production and antibiotic resistance. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 2641–2653. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9693>
- Castro, A., Santos, C., Meireles, H., Silva, J., & Teixeira, P. (2016). Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. *Journal of Infection and Public Health*, 9(2), 153–160. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2015.08.001>
- Cavallini, E., Gamboa, M., Hernández, F., & García, J. (2006). *Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio - Google Libros*. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=vwB0fgirgN0C&pg=PA227&dq=prueba+de+coagulasa&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi_f2Nv9rnAhVLxVvkKHSy2DOoQ6AEIMDAB#v=onepage&q=prueba+de+coagulasa&f=false
- Cervantes, E., García, R., & Salazar, P. (2014). *Características generales del Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* (Vol. 61). Recuperado de www.medigraphic.com/patologiaclinicawww.medigraphic.org.mx
- Chang, P., Vásquez, M., & López De La Vega, C. (2014). *Endocarditis infecciosa por Staphylococcus aureus: informe de un caso Infective endocarditis caused by Staphylococcus aureus: Case report*. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2014/dcm142e.pdf>
- Cheesbrough, M. (2000). *District Laboratory Practice in Tropical Countries, Part 2*. (Cambridge University Press, Ed.) (ilustrada, reimpresión). Recuperado de <https://books.google.com.ec/books?id=PHPx140zdowC&pg=PA67&dq=Dn>

ase+test&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiUwb_Ks9rnAhUFzIkKHdiGDgAQ6A
EIMTAB#v=onepage&q=Dnase test&f=false

Codex Alimentarius. (2005). *Proyecto de Código de Prácticas de Higiene para la Carne*. Codex Alimentarius. (2005). *Proyecto de Código de Prácticas de Higiene para la Carne*. Recuperado de [http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCAC%2BRCP%2B58-2005%252FCXP_058s.pdf)

[proxy/en/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCAC%2BRCP%2B58-2005%252FCXP_058s.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCAC%2BRCP%2B58-2005%252FCXP_058s.pdf)

Consejo de Gobierno de Régimen Especial de Galápagos. (2015). Plan de Implementación de Políticas, Principales Características Demográficas para Galápagos. Recuperado de <http://www.gobiernogalapagos.gob.ec/>

Consejo de Gobierno de Régimen Especial de Galápagos. (2016). Características Demográficas para Galápagos. Recuperado de <http://www.gobiernogalapagos.gob.ec/>

Delgado, H., Cedeño, C., Montes de Oca, N., & Villoch, A. (2015). *Hygienic quality of the meat obtained at slaughterhouses in Manabí-Ecuador*. *Revista de Salud Animal* (Vol. 37). Centro Nacional de Salud Animal. de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2015000100001

Desloire, S., Moro, C., Chauve, C., & Zenner, L. (2006). Comparison of four methods of extracting DNA de *D. gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Veterinary Research*, 37(5), 725–732. <https://doi.org/10.1051/vetres:2006031>

Díaz, C., Garrote, H., Vigil, A., Suárez, Y., & Mugica, R. (2013). Cuantificación de ácido ribonucleico para la realización de la técnica de RT-PCR. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892013000300010

Dickinson, B. (2013). *BD Brain Heart Infusion (BHI) Agar USO PREVISTO*

REACTIVOS BD Brain Heart Infusion (BHI) Agar Fórmula por litro de agua purificada.* Recuperado de <http://www.bd.com>

Dongyou Liu. (2011). *Molecular Detection of Human Bacterial Pathogens*. (CRC Press, Ed.) (ilustrada). Recuperado de [https://books.google.com.ec/books?id=NQ7LBQAAQBAJ&pg=PA313&dq=Dnase+test+in+S.+aureus&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj959b6s9rnAhXSt1kKHAIQAQ6AEIWzAF#v=onepage&q=Dnase test in S. aureus&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=NQ7LBQAAQBAJ&pg=PA313&dq=Dnase+test+in+S.+aureus&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj959b6s9rnAhXSt1kKHAIQAQ6AEIWzAF#v=onepage&q=Dnase%20test%20in%20S.%20aureus&f=false)

Dordet, E., Dorchies, G., De Araujo, C., Talon, R., & Leroy, S. (2007). Genomic diversity in *Staphylococcus xylosus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(22), 7199–7209. <https://doi.org/10.1128/AEM.01629-07>

Dos Santos, D., Lange, C., Avellar, P., Dos Santos, K., Brito, M., & Giambiagi-deMarval, M. (2016). *Staphylococcus chromogenes*, a Coagulase-Negative *Staphylococcus* Species That Can Clot Plasma. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(5), 1372–1375. <https://doi.org/10.1128/JCM.03139-15>

Duarte, N., & Roa, S. (2018). *Evaluación de la calidad microbiológica del aire en la Clínica de Optometría de La Universidad de La Salle*. Recuperado de https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria

Duran, A., Zhurbenko, R., & Viera, D. (2004). Propuesta de una modificación en la formulación del medio agar manitol salado utilizado en el aislamiento de estafilococos de importancia clínica Proposal of the modified formulation of mannitol salt agar medium used in the isolation of clinically importa. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 56(3), 172–177. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602004000300004

Echevarría, J., Sarmiento, E., & Osóres, F. (2006). Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. *Acta Med*, 6. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v23n1/a06v23n1>

EcuRed. (2012). Síndrome del shock tóxico. Recuperado de https://www.ecured.cu/Síndrome_del_shock_tóxico

- Edberg, S. C., & Miller, J. M. (2014). A New Epidemiological Tool for *Staphylococcus aureus*; Surveillance. *Advances in Microbiology*, 04(13), 919–924. <https://doi.org/10.4236/aim.2014.413102>
- Ehlers, S., & Merrill, S. A. (2018). *Staphylococcus Saprophyticus*. *StatPearls*.
- Espejo, L. J., Rodríguez, K. L., Rodríguez, M. F., & Gómez, A. (2019). Genotype identification of *Staphylococcus* with methicillin-resistant phenotype isolated de human, animal and environmental samples. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 30(1), 364–376. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i1.14614>
- Espínola, B., Costa, M., & Paricio, J. M. (2016). Mastitis. Puesta al día. *Comité de Lactancia Materna, AEP*, 9. Recuperado de https://www.aeped.es/sites/default/files/mastitis_puesta_al_dia.pdf
- Espinosa, L. (2012). *Guía práctica sobre la técnica de PCR 517 Guía práctica sobre la técnica de PCR*. Recuperado de http://www.chemsoc.org/chembytes/ezone/1999/parkes_
- FAO. (2014). Buenas prácticas para la industria de la carne. Recuperado de http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/slaugh_process.html
- Fariña, N., Carpinelli, L., Samudio, M., Guillén, R., Laspina, F., Sanabria, R., ... De Kaspar, H. (2013). *Staphylococcus coagulasa-negativa* clínicamente significativos. Especies más frecuentes y factores de virulencia. *Infectol*, 9. Recuperado de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v30n5/art03.pdf>
- García, C., Pardo, J., & Seas, C. (2003). *Bacteremia por Staphylococcus epidermidis y absceso de partes blandas en un paciente postoperado: Reporte de un caso*. *Rev Med Hered* (Vol. 14).
- García, J., De Pablos, M., & Gutiérrez, A. (2010). El microbiólogo y la infección asociada con catéter. *Esp Quimioter*, 2, 53–62. Recuperado de <https://seq.es/seq/0214-3429/23/2/garciarodriguez.pdf>

- García, V. (2005). *Introducción a la microbiología (2a ed.)* -. (EUNED, Ed.). Recuperado de [https://books.google.com.ec/books?id=K_ETVnqnMZIC&pg=PA61&dq=agar+manitol+salado+pueden+crecer+otros+microorganismos+?&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj3wKqhnrnAhWNjVkkHS67AvgQ6AEIQjAD#v=onepage&q=agar manitol salado pueden crecer otros microorganismos %3F&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=K_ETVnqnMZIC&pg=PA61&dq=agar+manitol+salado+pueden+crecer+otros+microorganismos+?&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj3wKqhnrnAhWNjVkkHS67AvgQ6AEIQjAD#v=onepage&q=agar+manitol+salado+pueden+crecer+otros+microorganismos+%3F&f=false)
- Garcinuño, R. M. (2017). Contaminación de los alimentos durante los procesos de origen y almacenamiento. *Aldaba*, (36), 51. <https://doi.org/10.5944/aldaba.36.2012.20530>
- Gómez Rodríguez, N., Ibáñez Ruán, J., & González Pérez, M. (2008). Artritis por *Staphylococcus epidermidis* sobre prótesis de rodilla en una mujer de 82 años con gota secundaria a diuréticos. *Reumatología Clínica*, 4(2), 80–82. [https://doi.org/10.1016/S1699-258X\(08\)71806-0](https://doi.org/10.1016/S1699-258X(08)71806-0)
- Gowda, A., Pensiero, A. L., & Packer, C. D. (2018). *Staphylococcus caprae*: A Skin Commensal with Pathogenic Potential. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.3485>
- Graber, C. (2017). Route of transmission of *Staphylococcus aureus*. *Www.TheLancet.Com/Infection*, 17, 124–125. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30397-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30397-8)
- Granados, R., & Villaverde, M. (1970). *Microbiología - Raquel Granados Pérez, María del Carmen Villaverde Peris - Google Libros* (Editorial Paraninfo). Recuperado de [https://books.google.com.ec/books?id=sUrlecdf_O8C&pg=PA83&dq=manitol+salado&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwilk5CPm9rnAhVuuVkkHaFGDfQQ6AEINzAC#v=onepage&q=manitol salado&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=sUrlecdf_O8C&pg=PA83&dq=manitol+salado&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwilk5CPm9rnAhVuuVkkHaFGDfQQ6AEINzAC#v=onepage&q=manitol+salado&f=false)
- Grayson, M., & Arffa, R. (1999). *Enfermedades De La Cornea* . España: Elsevier España. Recuperado de <https://books.google.com.ec/books?id=tbV7zTLpXgWC&pg=PA75&dq=agar+manitol+salado+pueden+crecer+otros+microorganismos+?&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj3wKqhnrnAhWNjVkkHS67AvgQ6AEIVDAF#v=onepage&>

- q=agar manitol salado pueden crecer otros microorganismos %3F&f=false
- Greif, G. (2014). *PCR: Reacción en cadena de la polimerasa*. Recuperado de www.karymullis.com
- Harrigan, W. F. (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology*. (Gulf Professional Publishing, Ed.) (ilustrada). Recuperado de [https://books.google.com.ec/books?id=ll5DHCE2YW4C&pg=PA113&dq=catalase+test&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjFx4b07tvnAhXkY98KHc10Dk0Q6AEIOzAC#v=onepage&q=catalase test&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=ll5DHCE2YW4C&pg=PA113&dq=catalase+test&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjFx4b07tvnAhXkY98KHc10Dk0Q6AEIOzAC#v=onepage&q=catalase%20test&f=false)
- Hwang, S. M., Kim, M. S., Park, K. U., Song, J., & Kim, E. C. (2011). *tuf* gene sequence analysis has greater discriminatory power than 16S rRNA sequence analysis in identification of clinical isolates of coagulase-negative staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(12), 4142–4149. <https://doi.org/10.1128/JCM.05213-11>
- Ibarra, C., de Dios, T., & Velasquillo, C. (2013). *Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real (Vol. 2)*. México. Recuperado de www.medigraphic.org.mxhttp://www.medigraphic.com/ridwww.medigraphic.org.mx
- Instituto de Investigaciones Biomédicas “Albert Sols.” (2010). Servicio de Secuenciación Automática. Recuperado el 10 de febrero de 2020 de https://www.iib.uam.es/portal/documents/76122/76162/Manual_de_uso_del_Servicio_de_Secuenciacion.pdf/7c953210-449a-444f-8822ceaa2b1e7006
- Instituto Nacional de Estadística y Censo. (2014). Estadísticas Agropecuarias , Censo de Unidades Agropecuaria de Galápagos. Recuperado de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>
- Jaramillo, P., Díaz, E., Ortiz, D., & Ayora, J. (2014). *Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Santa Cruz*. Santa Cruz. Recuperado de www.biodiversaconsultores.ec
- Jiménez, M., Chaidez, C., & León, J. (2012). Calidad microbiológica de carne de

res comercializada en el mercado municipal de Culiacán, Sinaloa.
 Recuperado de
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922012000400002

Karakulska, J., Fijałkowski, K., Nawrotek, P., Pobucewicz, A., Poszumski, F., & Czernomysy-Furowicz, D. (2012). Identification and methicillin resistance of coagulase-negative staphylococci isolated de nasal cavity of healthy horses. *Journal of Microbiology*, 50(3), 444–451. <https://doi.org/10.1007/s12275-012-1550-6>

Kateete, D. P., Kimani, C. N., Katabazi, F. A., Okeng, A., Okee, M. S., Nanteza, A., ... Najjuka, F. C. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-9-23>

Koneman, E., & Allen, S. (2008). *Diagnostico Microbiologico/ Microbiological diagnosis: Texto Y ...* - Elmer W. Koneman, Stephen Allen - Google Libros. Recuperado Febrero 17, 2020, de <https://books.google.com.ec/books?id=jyVQueKro88C&pg=PA614&dq=coagulasa&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwje1Lqk59fnAhVwmuAKHWIPC2UQ6AEINzAC#v=onepage&q=coagulasa&f=false>

Leboffe, M., & Pierce, B. (2019). *Microbiology: Laboratory Theory and Application, Essentials* - Michael J. Leboffe, Burton E. Pierce - Google Libros. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=8ZOFDwAAQBAJ&pg=PA201&dq=salted+mannitol+microbiological&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwim0vX0rdrnAhWys1kKHfuWD_MQ6AEIMTAB#v=onepage&q=salted_mannitol_microbiological&f=false

MacFaddin, J. (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. (Ed. Médica Panamericana, Ed.). Recuperado de <https://books.google.com.ec/books?id=FYWSzy7EjR0C&pg=PA128&dq=d>

nasa&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjBs86AsdrnAhVCjlkKHVbSBOwQ6AEILzAB#v=onepage&q=dnasa&f=false

- Madsen, A. M., Moslehi-Jenabian, S., Islam, M. Z., Frankel, M., Spilak, M., & Frederiksen, M. W. (2018). Concentrations of Staphylococcus species in indoor air as associated with other bacteria, season, relative humidity, air change rate, and S. aureus-positive occupants. *Environmental Research*, *160*, 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.10.001>
- Mahmmod, Y., Klaas, I. C., Svennesen, L., Pedersen, K., & Ingmer, H. (2018). Communications of Staphylococcus aureus and non-aureus Staphylococcus species de bovine intramammary infections and teat apex colonization. *Journal of Dairy Science*, *101*(8), 7322–7333. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14311>
- Maldonado, N., Rojas, J., Cajiao, L., Capacho, A., & Bermúdez, J. (2016). Incidence of possible bacteria causing mastitis in the municipalities of pamplona, pamplonita and toledo, norte de santander. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, *14*, 1–17.
- Mayo Foundation for Medical Education and Research. (2019). Infecciones de la piel por Staphylococcus aureus. *BMC Medical Education*, *17*(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s12909-017-0869-4>
- Medical Press. (2018). La flora intestinal puede ofrecer protección contra la sepsis | Medical Press. Recuperado de https://www.medicalpress.es/la-flora-intestinal-puede-ofrecer-proteccion-contra-la-sepsis/?fbclid=IwAR003LC8uVMNP7HYTt16z0vuRYwevpVaws9rLCZb9Bvbcn-zlQLabS_CWec
- Méndez, S., & Pérez, E. (2004). La PCR múltiple en microbiología clínica, 183–192. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-la-pcr-multiple-microbiologia-clinica-13058027>

- Meneses, Y., Domínguez, E., & Guerra, B. (2016). Analysis of the beef life cycle of chichí padrón slaughterhouse. *Centro Azúcar*, 10. Recuperado de [http://centroazucar.uclv.edu.cu/media/articulos/PDF/2016/3/9 Vol 43 No.3 2016.pdf](http://centroazucar.uclv.edu.cu/media/articulos/PDF/2016/3/9_Vol_43_No.3_2016.pdf)
- Menzies, R. E. (1977). Comparison of coagulase, deoxyribonuclease (DNase), and heat stable nuclease tests for identification of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Pathology*, 30(7), 606–608. <https://doi.org/10.1136/jcp.30.7.606>
- Ministerio de Salud Pública. (2016). Perfil de morbilidad ambulatoria 2016 Ecuador. *MSP*, 1(1–6). Recuperado de https://public.tableau.com/profile/darwin5248#!/vizhome/Perfildemorbilidad_ambulatoria2016/Men?publish=yes
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2013). *Microbiología Médica + StudentConsult* - (7th ed.). España . Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=6tIJAgAAQBAJ&pg=PA23&dq=manitol+salado+fermentacion+roja+rosada&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwik7aH3o9rnAhUEmVkkKHQ8gAxAQ6AEISTAE#v=onepage&q=manitol_salado_fermentacion_roja_rosada&f=false
- Narang. (2008). *Food Microbiology* . (APH Publishing, Ed.). Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=k28jt5E1VzQC&pg=PA71&dq=catalase+test&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjF4b07tvnAhXkY98KHc10Dk0Q6AEIRjAD#v=onepage&q=catalase_test&f=false
- Navarro, C. (2011). Mastitis bovina causada por ECN | PortalVeterinaria. Recuperado de <https://www.portalveterinaria.com/rumiantes/articulos/6414/mastitis-bovina-causada-por-ecn.html>
- O'Leary, W. (1989). *Practical Handbook of Microbiology* . (CRC Press, Ed.). Recuperado de <https://books.google.com.ec/books?id=erL29sLL5nEC&pg=PA591&dq=salt+ed+mannotol+microbiological&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwim0vX0rdrnAhW>

ys1kKHfuWD_MQ6AEIJzAA#v=onepage&q=salted mannitol
microbiological&f=false

- Oliveira, C., Da Silva, T., Reiter, K., & Rieger, A. (2014). Evaluation of four different dna extraction methods in coagulase-negative staphylococci clinical isolates. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4085835/>
- Ortega, S., Franco, R., Salazar, B., Rodríguez, S., Cancino, M. E., & Cancino, J. C. (2019). *Prevalence and virulence factors of coagulase negative Staphylococcus causative of prosthetic joint infections in an orthopedic hospital of Mexico cirugía y cirujanos artículo original Resumen. Cir (Vol. 87).*
- Pahissa Berga, A. (n.d.). *Infecciones producidas por Staphylococcus aureus.*
- Palavecino R., E. (2002). Métodos recomendados para el estudio de susceptibilidad en Staphylococcus aureus, Staphylococcus coagulasa negativa y Staphylococcus saprophyticus: Nuevos puntos de corte e interpretación de resultados. *Revista Chilena de Infectología*, 19(SUPPL. 2), 119–124. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182002019200011>
- Palomino, C., González, Y., Pérez, E., & Hugo, V. (2018). Metodología Delphi en la gestión de la inocuidad alimentaria y prevención de enfermedades transmitidas por alimentos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(3), 483. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.353.3086>
- Palomino, J., Puente, A., López, M., Valencia, J., Aguilera, C., López, L., & Jiménez, M. (2017). Infección de prótesis articular. Recuperado de <http://guiaprioam.com/indice/infeccion-de-protesis-articular/>
- Paricio, J. M. (2017). Diagnóstico y manejo de la mastitis en la madre lactante. Actualización. *Congreso Español de Lactancia Materna*, 11. Recuperado de http://www.e-lactancia.org/media/papers/Mastitis_Texto-CongrLM_Zar-Paricio.pdf
- Paul G. Engelkirk, & Janet L. Duben-Engelkirk. (2008). *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic* . (Lippincott Williams, Ed.)

(ilustrada). Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=l56-WMdyqzcC&pg=PA285&dq=Dnase+test&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiUwb_Ks9rnAhUFzlkKHdiGDgAQ6AEIOzAC#v=onepage&q=Dnase+test&f=false

Penacino, G. A. (2015). *Analisis de adn: errores tecnicos o manipulacion de resultados*. Buenos Aires. Recuperado de www.slagf.org

Pérez, R., & Villaverde, M. (1997). Microbiología. Recuperado Febrero 8, 2020, de https://books.google.com.ec/books?id=sUrlecdf_O8C&pg=PA83&lpg=PA83&dq=porque+ciertas+especies+puede+fermentar+el+manitol+y+otras+no&source=bl&ots=EvV2sou_KX&sig=ACfU3U1cp1wkh2iSVLdHGNHZ4nwgVTg8KA&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjK8ePDhsPnAhWEnFkKHcYcXDKQQ6AEwAnoECAs

Periago, M. (2013). Higiene, inspección y control alimentario. Microbiología e higiene de los alimentos. Recuperado de <https://www.um.es/web/innovacion/plataformas/ocw/listado-de-cursos/higiene-inspeccion-y-control-alimentario/practicas>

Porcel, N., Urueña, R., Gaudioso, M., & de Castillo, M. (2013). Bactericidal activity of sodium hypochlorite against biofilm-producing *Staphylococcus cohnii* in a factory. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/535/53530579007.pdf>

Porres, N., & Ruiz, E. (2018). Microbiología clínica - NEREA PORRES OSANTE, ELENA RUIZ RUIZ - Google Libros. Recuperado Noviembre 14, 2019, de <https://books.google.com.ec/books?id=GNBXDwAAQBAJ&pg=PA101&dq=dnasa+aureus&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjg76SK2OjIAhXlqFkKHdYcDgQQ6AEISjAF#v=onepage&q=dnasa+aureus&f=false>

Puig, Y., Espino, M., Leyva, V., Apórtela, N., Pérez, Y., & Soto, P. (2015). Resistencia a los antimicrobianos en cepas de *Staphylococcus coagulasa* positiva aisladas en alimentos y manipuladores | Puig Peña | Revista Cubana de Alimentación y Nutrición, 245–260. Recuperado de

<http://revalnutricion.sld.cu/index.php/rcan/article/view/132/130>

Prado, L. (2014). *Microbiología de la carne fresca y procesada*. Recuperado de http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/lapb/micro_carnes.pdf

Qian, Q., Eichelberger, K., & Kirby, J. E. (2007). Rapid identification of *Staphylococcus aureus* in blood cultures by use of the direct tube coagulase test. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(7), 2267–2269. <https://doi.org/10.1128/JCM.00369-07>

Reyes, J., Vietri, M., Rivas, A., Lares, M., Herrera, L., Cruz, M., & Ferrer, E. (2015). Estandarización de la técnica de PCR para la detección de ADN de *Leishmania* sp. en muestras de sangre de caninos. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762015000200003

Riós, V. (2015). *Manual de requisitos y buenas prácticas de manufactura*. Chile. Recuperado de <https://www.sanidadnaval.cl/wp-content/uploads/2016/01/MANUAL-DE-REQUISITOS-BUENAS-PRACTICAS-DE-MANUFACTURA-DE-ALIMENTO-2.pdf>

Rodríguez, E., Coronado, M., Hernández, F., & García, J. (2005). *Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio* - Google Libros. Recuperado Febrero 16, 2020, de <https://books.google.com.ec/books?id=vwB0fgirgN0C&pg=PA217&dq=catalasa&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjBx53439fnAhXxguAKHUZOD90Q6AEIMDAB#v=onepage&q=catalasa&f=false>

Rupal, C. (2014). Infecciones por estafilococo (para Padres) - KidsHealth. Recuperado de <https://kidshealth.org/es/parents/staphylococcus-esp.html>

Samaranayake, L. (2011). *Essential Microbiology for Dentistry E-Book*. (Elsevier Health Sciences, Ed.) (4th ed.). Recuperado de <https://books.google.com.ec/books?id=xanRAQAAQBAJ&pg=PA125&dq=coagulase+test&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjw9rSgv9rnAhUQrIkKHXFMAfUQ6AEIlgQEwCQ#v=onepage&q=coagulase+test&f=false>

- Santamaría, J., Comba, N., & Pérez, X. (2015). *Manual de Microbiología General: Principios Básicos de Laboratorio*. Recuperado de <https://books.google.com.ec/books?id=qjCjDwAAQBAJ&pg=RA1-PA1&dq=agar+manitol+salado+pueden+crecer+otros+microorganismos+?&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj3wKqhnrnAhWNjVvKkHS67AvgQ6AEISjAE#v=onepage&q=agar manitol salado pueden crecer otros microorganismos %3F&f=false>
- Saucier, L. (2016). Microbial spoilage, quality and safety within the context of meat sustainability. *Meat Science*, 120, 78–84. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2016.04.027>
- Senasa. (2017). Análisis del rol del servicio de inspección veterinaria en los frigoríficos | SENASA. Recuperado de <http://www.senasa.gob.ar/senasa-comunica/noticias/analisis-del-rol-del-servicio-de-inspeccion-veterinaria-en-los-frigorificos>
- Seng, P., Barbe, M., Pinelli, P., Gouriet, F., Drancourt, M., Minebois, A., ... Stein, A. (2015). Staphylococcus caprae bone and joint infections: a re-emerging infection? *Clinical Microbiology and Infection*, 20(12), O1052–O1058. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12743>
- Shittu, A., Lin, J., Morrison, D., & Kolawole, D. (2006). Identification and molecular characterization of mannitol salt positive, coagulase-negative staphylococci de nasal samples of medical personnel and students. *Journal of Medical Microbiology*, 55(3), 317–324. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46072-0>
- Socorro, G., Ávalos, H., & Soto, M. (2015). Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Biomed*, 15. Recuperado de <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb142534.pdf>
- Stahl, Jean-P., Berthelot, P., Bouscarra, J., Chidiac, C., & Drapé, J.-L. (2010). *Recommendations for bone and joint prosthetic device infections in clinical practice (prosthesis, implants, osteosynthesis)*. Recuperado de

https://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/english/bone_joint-device-infections-French-recommendations.pdf

- Stanier, R., & Villanueva, J. (1996). *Microbiología*. (J. Villanueva, Ed.) (ilustrada). Recuperado de <https://books.google.com.ec/books?id=2u-6Q2XCMDgC&pg=PA225&dq=catalasa&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiX64Hu6tvnAhUEH6wKHbdbDb0Q6AEINzAC#v=onepage&q=catalasa&f=false>
- Stiefel, B. (2007). *Fronteras de la ciencia: Formación ciudadana en secundaria - Berta Marco Stiefel*. Madrid: Narcea Ediciones.
- Struthers, K., & Westran, R. (2003). *Clinical Bacteriology*. (CRC Press, Ed.) (Ilustrada). Recuperado de [https://books.google.com.ec/books?id=KxA3gfbO-C0C&pg=PA38&dq=Dnase+test+in+S.+aureus&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj959b6s9rnAhXSt1kKHaiAQ6AEIOzAC#v=onepage&q=Dnase test in S. aureus&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=KxA3gfbO-C0C&pg=PA38&dq=Dnase+test+in+S.+aureus&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj959b6s9rnAhXSt1kKHaiAQ6AEIOzAC#v=onepage&q=Dnase+test+in+S.+aureus&f=false)
- Tecnofrig. (2015). Equipamiento e ingeniería del faenamamiento. Recuperado de <http://www.tecnofrig.com.ar/rielera-bovinos.html>
- Todar, K. (2015). *Staphylococcus*. Recuperado de <http://www.textbookofbacteriology.net/staph.html>
- Tortora, G., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología*. Médica Panamericana.
- Tecnofrig, G., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología*. Médica Panamericana.
- USDA, & FSIS. (2005). Modelo HACCP general para productos cárnicos y avícolas percederos , térmicamente , cocinados parcialmente.
- Vanderhaeghen, W. (2012). *Isolation and Characterisation of Methicillin-Resistant Staphylococci de Domestic Animals*. Ghent University, Bélgica. Recuperado de www.janranson.be
- Velez, M., Etcheverría, A., & Padola, N. (2016). *Influencia del Hipoclorito de*

Sodio en biofilms formados por Escherichia coli.

- Yahya, A., Firmansyah, M., Arlisyah, A., & Risandiansyah, R. (2017). Comparison of DNA Extraction Methods Between Conventional, Kit, Alkali and Buffer-Only for PCR Amplification on Raw and Boiled Bovine and Porcine Meat. *The Journal of Experimental Life Sciences*, 7(2), 110–114. <https://doi.org/10.21776/ub.jels.2017.007.02.09>
- Zamora, R., & Mendoza, L. (2018). Calidad de la Carne del Ganado Vacuno. *Observatorio de La Economía Latinoamericana*, 7. Recuperado de <https://www.eumed.net/rev/oel/2018/04/calidad-carne-ecuador.zip>

ANEXOS

Anexo 1: Normas de Higiene Personal según el Codex Alimentarius para el manejo de productos cárnicos

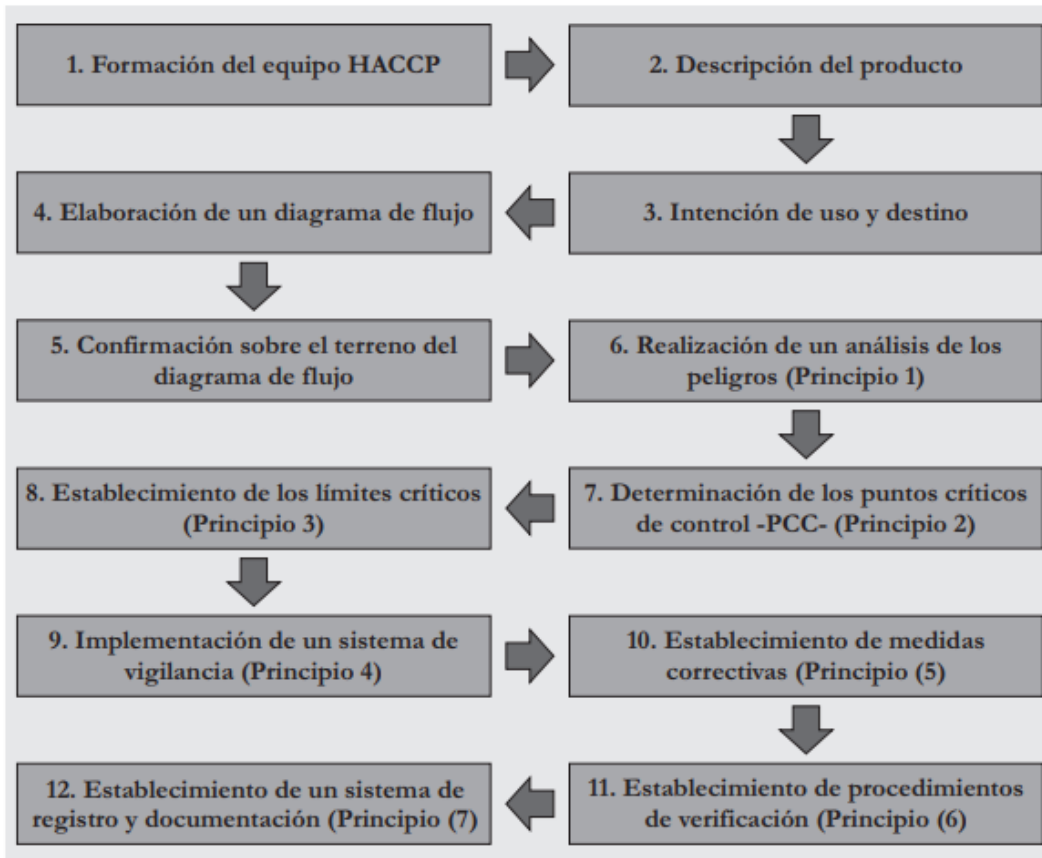
11.1 ASEO PERSONAL

169. Las personas que en el transcurso de su trabajo entren en contacto directo o indirecto con carne o partes comestibles de animales, deberán mantener un aseo personal y un comportamiento adecuados. No deberán estar clínicamente afectados por agentes que puedan ser transmitidos por la carne.

Las personas que entren en contacto directo o indirecto con carne o partes comestibles de animales deberán:

- mantener un nivel adecuado de aseo personal;
- usar ropa protectora apropiada a las circunstancias, y asegurarse de que la ropa protectora no desechable sea limpiada antes del trabajo y en el curso de éste;
- si utilizan guantes durante la matanza y el faenado de los animales y la manipulación de la carne, asegurarse de que son de un tipo autorizado para la actividad de que se trate, por ejemplo de cota de malla de acero inoxidable, de fibras sintéticas o de látex, y que se usan conforme a las especificaciones, por ejemplo, lavarse las manos antes de ponerse los guantes, cambiar o desinfectar los guantes si están contaminados;
- lavarse y desinfectarse inmediatamente las manos y la ropa protectora cuando hayan estado en contacto con partes anormales de los animales que pueda contener patógenos transmitidos por los alimentos;
- cubrir toda herida o corte con una venda impermeable; y
- guardar la ropa protectora y los efectos personales en lugares separados de las zonas donde puede haber carne.

Anexo 2. Secuencia para la aplicación de un Sistema HAACP.



Anexo 3. Ejemplo de matriz con Plan HACCP

PLAN HACCP																							
CATEGORÍA DE PROCESO: PRODUCTOS TRATADOS TÉRMICAMENTE, NO PERECEDEROS																							
EJEMPLO DEL PRODUCTO: REFRIGERIOS EN FORMA DE BARRITAS, CECINA (TASAJO)																							
N°. de Punto crítico de control y ubicación	Límites críticos	Procedimientos de vigilancia y frecuencia de los mismos	Registros HACCP	Procedimientos de verificación y frecuencia de los mismos	Acciones correctivas																		
1B Fermentación (refrigerios en forma de barras producidas con un paso de fermentación)	<p>pH ≤ 5.3 - logrado al utilizar una de las siguientes combinaciones de temperaturas de la cámara y horas máximas de fermentación</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Temp. Constante de la cámara °C (°F)</th> <th>Hrs. Máx.*</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>24 (75)</td><td>80</td></tr> <tr><td>27 (80)</td><td>60</td></tr> <tr><td>29 (85)</td><td>48</td></tr> <tr><td>32 (90)</td><td>33</td></tr> <tr><td>35 (95)</td><td>28</td></tr> <tr><td>38 (100)</td><td>25</td></tr> <tr><td>41 (105)</td><td>20</td></tr> <tr><td>43 (110)</td><td>18</td></tr> </tbody> </table>	Temp. Constante de la cámara °C (°F)	Hrs. Máx.*	24 (75)	80	27 (80)	60	29 (85)	48	32 (90)	33	35 (95)	28	38 (100)	25	41 (105)	20	43 (110)	18	<p>El tecnólogo de garantía de la calidad, o la persona designada, tomará 5 muestras individuales del producto para realizar mediciones de pH de cada lote al término del ciclo de fermentación. Antes del retiro de la fermentación, se determina el cumplimiento con el límite crítico de tiempo relacionado con la temperatura especificada de la cámara de fermentación a fin de satisfacer el límite documentado de horas grado.</p> <p>El pH se mide colocando un electrodo de pH en una suspensión acuosa de cada muestra con una razón 1:1 (p/p) de carne/agua destilada. La referencia de la metodología se encuentra archivada.</p> <p>El tecnólogo de garantía de la calidad, o la persona designada, anotará la temperatura de la cámara y el tiempo transcurrido hasta llegar a un pH ≤5.3.</p>	<p>Registro de fermentación</p> <p>Registro de acciones correctivas</p> <p>Registro de calibración de termómetros</p>	<p>Una vez por turno laboral, el supervisor de garantía de la calidad, o la persona designada, revisará el Registro de fermentación y el Registro de acciones correctivas.</p> <p>El tecnólogo de garantía de la calidad, o la persona designada, verificará diariamente la exactitud de todos los termómetros frente a un termómetro de exactitud conocida y los calibrará con una exactitud de ±1° F según sea necesario.</p> <p>El tecnólogo de garantía de la calidad, o la persona designada, verificará diariamente la exactitud de todos los medidores de pH utilizados en las actividades de vigilancia y verificación comparándolos con un estándar conocido y los calibrará con una exactitud de ±0.1.</p> <p>El supervisor de garantía de la calidad, o la persona designada, observará una vez por turno laboral, al tecnólogo de garantía de la calidad, o la persona designada, realizando actividades de</p>	<p>Si ocurre una desviación del límite crítico, el supervisor de garantía de la calidad, o la persona designada, es responsable de los protocolos de las acciones correctivas:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. La causa de la desviación será identificada y eliminada. 2. El punto crítico de control estará bajo control después de que se aplique la acción correctiva. 3. Las medidas para prevenir la reaparición del suceso están establecidas. 4. No se permitirá la entrada al comercio de ningún producto que sea nocivo para la salud o que de alguna otra manera haya sido adulterado como resultado de una desviación del proceso.
Temp. Constante de la cámara °C (°F)	Hrs. Máx.*																						
24 (75)	80																						
27 (80)	60																						
29 (85)	48																						
32 (90)	33																						
35 (95)	28																						
38 (100)	25																						
41 (105)	20																						
43 (110)	18																						

Anexo 4. Consentimiento informado



Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos

Universidad San Francisco de Quito

**El Comité de Revisión Institucional de la USFQ
The Institutional Review Board of the USFQ**

Consentimiento Informado

Título de la investigación: Contaminación de portadores en Humanos de MRSA en fosas nasales vs Contaminación en carne de consumo producida en la isla Santa Cruz-Galápagos Ecuador.

Organización del investigador: Universidad de las Américas (UDLA).

Nombres de las investigadoras principales: Beatriz Rojas y Angely Almeida.

Datos de localización del investigador principal: 0998368071 ó al 0996158759 beatriz.rojas@udla.edu.ec y angely.almeida@udla.edu.ec

Co-investigadores: Alejandro Vega, Carlos Bastidas.

Código:	2016-183M
---------	-----------

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Introducción

La presente investigación es conducida por estudiantes de la Universidad de las Américas (UDLA) en conjunto con la Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG). El propósito de este formulario de consentimiento es proveer a los participantes de esta investigación una clara explicación acerca de este estudio, así como hacerles saber su rol en ella como participantes.

Este formulario incluye un resumen del propósito de este estudio. Usted puede hacer todas las preguntas que quiera para entender claramente la participación de su representado y despejar sus dudas. La información que se obtenga es **completamente confidencial** y su nombre nunca aparecerá vinculado a ninguno de los resultados de esta investigación.

Propósito del estudio

Esta investigación la realizamos porque queremos estudiar a *Staphylococcus aureus* de una zona geográfica aislada con el objetivo de conocer mediante un análisis microbiológico y molecular, si existe *Staphylococcus aureus* resistentes en las fosas nasales de las personas que trabajan con ganado vacuno en la isla Santa Cruz- Galápagos.

Se sabe que la resistencia antimicrobiana es un problema emergente de salud pública, ya que los microorganismos resistentes en los animales destinados al consumo se transmiten principalmente por los alimentos a los seres humanos, es por tanto que dichas bacterias causan enfermedades intestinales tales como parasitosis, enfermedades diarreicas agudas, enteritis.

Por tanto, al identificar las bacterias y ver la resistencia a distintos antibióticos el proyecto contribuirá a establecer una línea base acerca de estas bacterias pertenecientes a una zona geográfica aislada. El estudio será de gran utilidad, ya que en Galápagos no existen informes publicados sobre las cepas locales de *S. aureus* de esta manera podremos conocer la resistencia y sensibilidad a los antibióticos empleados para tratar las enfermedades de los isleños.

Descripción de los procedimientos

Si usted accede a participar en este estudio, se insertará la punta de un hisopo estéril en la parte frontal de una de sus fosas nasales y se frotará suavemente el hisopo contra la pared de la fosa nasal con un movimiento rotatorio. Esto tomará aproximadamente 5 minutos de su tiempo. Luego la muestra será almacenada a -4°C dicha muestra será procesada en los laboratorios de la Universidad de las Américas en Quito donde se realizará tanto un análisis microbiológico como molecular para identificar la presencia de *Staphylococcus aureus* resistentes.

Riesgos y beneficios

La participación en este estudio es estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación. Sus resultados serán codificados usando un número de identificación y, por lo tanto, serán anónimas. El estudio no conlleva ningún riesgo y el participante no recibe ningún beneficio, además no se dará ninguna compensación económica por participar en este estudio.

Confidencialidad de los datos

Para nosotros es muy importante mantener su privacidad, por lo cual aplicaremos las medidas necesarias para que nadie conozca su identidad ni tenga acceso a sus datos personales:

- 1) La información que nos proporcione se identificará con un código que reemplazará su nombre y se guardará en un lugar seguro donde solo los investigadores tendrán acceso.
- 2) Los nombres y los datos personales de usted no serán expuestos en reportes ni publicaciones.
- 3) El Comité de Bioética de la USFQ podrá tener acceso a sus datos en caso de que surgieran problemas en cuanto a la seguridad y confidencialidad de la información o de la ética en el estudio.

Derechos y opciones del participante

Usted puede decidir no participar en este estudio. Si decide que no participa solo debe decirselo al investigador principal o a la persona que le explica este documento. Además, aunque decida participar usted puede retirarse del estudio cuando lo desee. Si decide retirarse del estudio, su muestra será

Consentimiento informado

Comprendo mi participación en este estudio. Me han explicado los riesgos y beneficios de participar en un lenguaje claro y sencillo. Todas mis preguntas fueron contestadas. Me permitieron contar con tiempo suficiente para tomar la decisión de participar en el estudio y me entregaron una copia de este formulario de consentimiento informado. Acepto voluntariamente participar en esta investigación.

Nombre y Firma del participante

Fecha

Nombre y Firma del testigo

Fecha

Nombre del investigador que obtiene el consentimiento informado

Firma del investigador

Fecha

inmediatamente desechada por los investigadores. Entiendo que una copia de esta ficha de consentimiento me será entregada, y que puedo pedir información sobre los resultados de este estudio a la ABG cuando éste estudio haya concluido.

Información de contacto

Si usted tiene alguna pregunta sobre el estudio por favor llame al siguiente teléfono 0999684005 que pertenece a Alejandro Vega, o envíe un correo electrónico a patricio.vega@abgalapagos.gob.ec.

Si usted tiene preguntas de cualquier tipo, incluidas las bioéticas, sobre este formulario o este estudio, puede contactar al Dr. Iván Sisa, presidente del Comité de Bioética de la USFQ, al siguiente correo electrónico: comitebioetica@usfq.edu.ec

Anexo 5. Protocolo de extracción de ADN de bacteria.

1. Aísle previamente 3 asas de un cultivo de agar de la bacteria en 200 uL de TE y póngalo en una placa profunda.
2. Agregue 10 uL de lisozima a una concentración de 40 mg / mL, resuspenda usando la micropipeta y deje incubar durante 30 minutos a 37 ° C.
3. Añadir 50 uL de una solución 1:10 (proteinasasa K: agua destilada).
4. Añadir 250 uL de binding mix.
5. Resuspender usando la micropipeta y dejar incubar durante 60 minutos a 60°C.
6. Agregue 100 uL de isopropanol y resuspenda usando la micropipeta.
7. Centrifugue la placa del pozo profundo a 3700 rpm durante 3 minutos, cuidando el equilibrio de la centrífuga.
8. Deseche el líquido de cada pocillo invirtiendo la placa o usando la micropipeta, cuidando de mantener la sílice en el fondo de la placa.
9. Agregue y mezcle 500 uL wash buffer 1 y resuspenda usando la micropipeta.
10. Centrifugar a 3700 rpm durante 3 minutos, cuidando el equilibrio de la máquina centrífuga.
11. Deseche el líquido de cada pocillo invirtiendo la placa o usando la micropipeta, cuidando de mantener la sílice en el fondo de la placa.
12. Agregue y mezcle 500 uL del wash buffer 2 y resuspenda usando la micropipeta.
13. Centrifugar a 3700 rpm durante 3 minutos, cuidando el equilibrio de la máquina centrífuga.
14. Deseche el líquido de cada pocillo invirtiendo la placa o usando la micropipeta, teniendo cuidado de mantener la sílice en el fondo de la placa.
15. Repita una vez los pasos del 12 al 15. No resuspenda en el paso 12.

16. Añadir y mezclar 500 uL de etanol al 100%.
17. Centrifugar a 3700 rpm durante 3 minutos, cuidando el equilibrio de la máquina centrífuga.
18. Deseche el líquido de cada pocillo invirtiendo la placa o usando la micropipeta, cuidando de mantener la sílice en el fondo de la placa.
19. Incubar durante 15 minutos a 60°C.
20. Añadir y mezclar 200 uL de TE.
21. Centrifugar a 3700 rpm durante 3 minutos, cuidando el equilibrio de la máquina centrífuga.
22. Secar durante 20 minutos a 60 ° C.
23. Deje la muestra durante la noche a 4° C.

Anexo 6. Análisis BLAST.

MUESTRA	SECUENCIA	% DE IDENTIDAD	ESPECIE
Control positivo	GTGACKTCATCTTGACGTTMYWCAKYMGWTKAGCACGGCTYACTYCGTGCCAGCAGCCGCGGTA ATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCCGTTTTTTAAG TCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAAATTGAGTGCAGA AGAGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGC GAAGGCCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAG ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTG CTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAGGAATT GACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACC AAATCTTGACATCCTTTGACAACCTAGAGATAGAGCCTTCCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGT GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC CTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAGAGGRAG	99.55 %	<i>S. aureus</i>
1 H	HGGRWAWMKTCMTCTTGACGGTACCTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG GTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCCGTTTTTT AAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAAATTGAGTGC AGAAGAGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGT GGCGAAGGCCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGA TTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTT AGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAG GAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACC TTACCAAATCTTGACATCCTTTGACAACCTAGAGATAGAGCCTTCCCCTTCGGGGGACAAAGTGA CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCG CAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACGAA AAAAAAGKT	99.71%	<i>S. aureus</i>
2 H	GGAWMWTGMCCTCTTGACGGTACCTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGYGGTTTTTTA AGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAAATTGAGTGC GAAGAGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTG GCGAAGGCCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATT AGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAG TGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGA ATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTA	99.71%	<i>S. epidermidis</i>

	CCAAATCTTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCTTCGGGGGACAGAGTGACA GGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA ACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAACARAGGA GR		
3 H	GGTWCawkCACGTCTTGACGGTACCTATCAGAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT AATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCCGTTTTTTAA GTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAACTTGAGTGCAG AAGAGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGG CGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTA GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGTTTTCCGCCCTTAGT GCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGA ATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGAAGCAACGCGAAGAACCTTA CCAAATCTTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCTTCGGGGGACAGAGTGACA GGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA ACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAACARGGG RGRG	99.71%	<i>S. epidermidis</i>
4 H	TTCKGCMCTTGACGGTMCTTATCAGAGGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA CGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCCGTTTTTTAAGTCT GATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAG AGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGA AGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGAT ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGCT GCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTG ACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCA AATCTTGACATCCTTTGACAACTCTAGAGATAGAGCYTTCCTTCGGGGGACAAAAGTGACAGGT GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC CTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACACAMGGAA	99.28	<i>S. aureus</i>
5 H	GTTYAAWKCMGTCTTGACGGTACCTAATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG TAATACGTWGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCCGTTTTTTA AGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAACTTGAGTGCA GAAGAGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTG GCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGKATCAAACAGGATT AGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGTTTTCCGCCCTTAG TGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGA ATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGAAGCAACGCGAAGAACCTTA CCAAATCTTGACATCCTCTGAYCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCTTCGGGGGACAGAGTGACA	99.69%	<i>S. caprae</i>

	GGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA ACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACCG		
6 H	AWAMAWKCCGTCTTGACGGTACCTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTA ATACGTAKGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTAAG TCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAAACTGGAAAACCTGAGTGCAGA AGAGGAAAGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGC GAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAG ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTG CTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAAT TGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGAAGCAACGCGAAGAACCTTAC CAAATCTTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAG GTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAA CCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACCGAARA AAAGGGKGGGAGGGAGGGGAGGAGGCSRTGGAAGACRGGGRAGWRGWGRTGTGAKRYTA	99.02 %	<i>S. epidermidis</i>
7 H	GTAMGTTGCATCTTGACGGTACCTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA TACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTTAAGT CTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGAAAACCTGAGTGCAGAA GAGGAAAGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCG AAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGA TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTG TGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAAT GACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACC AAATCTTGACATCCTTTGACAAGTCTAGAGATAGAGCCTTCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGT GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC CTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACCRRRRRR ARGGKGGACGGGAGGGGCGGGGGGGGGGGGGG	99.71 %	<i>S. aureus</i>
8 H	ARTAWMAWKCCGTCTTGACGGTACCTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTTA AGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAAACTGGAAAACCTGAGTGC GAAGAGGAAAGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTG GCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATT AGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAG TGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGA ATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTA CCAAATCTTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGKTTTTCCCTTCGGGGGACAGAGTGACA GGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA	99.71 %	<i>S. epidermidis</i>

	ACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACRARRR ARRRRRRGGTGGGGATGCAGAGGGGGAGGGGGGGGGGGGGGGGG		
9 H	AWMRCGCCYWAAAAGGGAAAAAGGGCGGGGMTAGGGGGGGGGGGGGAGGCGCGGGAG TARGAGGTGGCAAGCGTAGCCRAATTTRGGGGTAAGGGGGGGTGGGGTGTGTAGRCTGAT GTGAAGCCACKGTCAGCGGRGAGGGTGTGGARACTGAAAACGTGAGTGGGAGGGGGAGGG GGAAGTCGTGTRTAGCGGRAAGTGGGRAGGGTRGGGAGGAACACGGTGGRAAGGGGGCTGTK TGGTCTGGACGGACGCTGATGGGGGAAGCGGGGGGAGCAAACAGGATTAATAACCGTGGGATC CAGGCCRWAGACGATGAGTGCTAGGTGTAGGGTTTTCCCCCCGKARTGCTGCARCTACRGA ATAASCACTCCCGCGGGGAATAACASCCGGGGTGGGAATGGCAGGGGAATTGASGGGGACGCG CAGRGGGGGGGGGGGGGGGGTTGAATGCGAATGARSTTGAAARTTCCCARACCGRCCTCCTS GGGGCTCKRAAAWAGAAAAGTCGGCGGTGGGGGGGARGAGTSCMGGGGGGGGGGCGGATTTG RGGKCAAC		No significant similarity found
10 H	TGTAAWAATRKMSGTCTTGACGTACCTATCAGAAGCCACGGTAACTACGTGCCAGCAGCCGC GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCCGTTTTT TAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAAACCTTGAGTG CAGAAGAGGAAAGTGGAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGT GGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGA TTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTT AGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAG GAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAAGCAACGCGAAGAACC TTACCAAATCTTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCTTCGGGGGACAGAGTGA CAGGTGGTGCATGGTTGTGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCG CAACCCTAAGCTTAGTTGCCRTCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGAMAAACCG ARRRARRGGKGG	99.29 %	S. epidermidis
12 H	GGTGTGTGCATTATCTCTMYWYYMKCTKYYYTATTWCGATGCTGCCTTAKYYTTKWTCACCTAGA CAWGCGATCCAYATMTCGTASYCAYGCTAGAGAAGAGCGCTMTTACATGGTCGTCCASAGGTGT GTGCATTATCTCTMYWYYMKCTKYYYTATTWCGATGCTGCCTTAKYYTTKWTCACCTAGACAWGC GATCCAYATMTCGTASYCAYGCTAGAGAAGAGCGCTMTTACATGGTCGTCCAS		No significant similarity found
13 H	GAYATKMGTCGAGGTACCTATCAGAAGCCACGGTACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGT AGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCCGTTTTTAAAGTCTGAT GTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAAACGGAAAACCTTGAGTGCAGAAGAGG AAAGTGGAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGG CGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACC CTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGCTGCA GCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACG GGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAAATC	99.28%	S. epidermidis

	TTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAGGTGGTG CATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTAA GCTTAGKTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAACARRRRRRRRRW WKKKGGGA		
15 H	TTTTAAAAAAGCGCGCTAGGCGGTTTTTAAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGG AGGGTCATTGGAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTG AAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTG ATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAG TGCTAAGTGTAGGGGGTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGG GAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATG TGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAATCTTGRCATSCTCTGACCCCTCTAGAGAT AGAGTTTTCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGT AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTAAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGC ACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACCGARRRGAAG	99.67%	<i>S. caprae</i>
16 H	GGTTTTTTTAAAGTGTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAA ACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGG AACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGAT CAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTT CCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCRCTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTG AACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTRATTGAAGCAAC GCGAAGAASCTTACCARATCTTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGKTTCCCTTCGGGG GGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCC CGCAACGAGSGCAASCSTTWAGCTTAGKTTGCCATCATTAAAGTTGGGGCACTCKAAGTTGACTGC CGGTGACAARCCGARRRGRARGKGGGAGGGAGGRGGACGARTAGAGTTGGGAAGRGWAGGWA GAGWGGATGGGRGGKTWGWGWAAGAGWWAAWAGAAGTGAGAWG	97.48 %	<i>S. caprae</i>
17 H	GAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTAAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCACCGTGGAGGGTCATT GGAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAAGGAAGTGAATTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAG ATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGC GTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAATGTTAGG GGGTTCCGCCCTTATGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAG GTGAACTCAAGGATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGACATGTGGTTAATTCAAGCACGCGA AACTTACCAATCTTGACTCCTCTGACCCTCTGAGTAGAGTTTTCCCTTCGGGGGACAGATGACGG TGTGCAGGKTGCGCAGCTCGTGTGAGATGTGGTTAATCCCGCACGAGCGCACCCCTAACTTATTG CATCATAATTGGCCTCTATTGATGCCGCACGRRRRRRRRGGGG	92.39%	<i>S. epidermidis</i>

19 H	GGACAATTAGTCTGACGTACTATCAGAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG TAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTTAARTCTGA WGTGAAAGCCCACGGSTCAACCSTGGARGGKCMTTGGAACTGGAAAAC TTGARTGSMRAAGAA GAAAGTGAATTCCMTGKGKARCAGGTGAAATGSSCARAAATTTGGARGAACMCCMGTGGCSAAR GSSACTTTCTGGTCTGKAACTGAMSCTKATGTGCSAAAGCSTGGGGATCAAACMGGATTARATAC CCTGGTARTCCACGCCSTAAACSATGARTGSTAARTGKTARGGGGTTTCCGCCCTTARTGSTGC MGCTWAMGCAWTAAGCACTCCGCCYGGGGAGTAC SAMCGCMAGGKTGAACTCMAAGGAATTG ACGGGGACCCGCACAAGCSGTGGARCATGTGGTTTAATTCSAAGCAACGCSGAGAACCTTACCAA ATCTTGRCATCCTCTGAMCCCTCTWGAGATAGARTTTTCCCCTTCGGGGGRCMGARTGRCMAGT GGTGSMWGGGTGTCGTCAGCTCGTGTCTSTGRGATKGTGGGTAAAGTCCCSSCACSAGCSCAACC CTTAAGCTTAGTGCCATCATAAGTGGGCMCYCTAGTGACTGCCGKGACACGAGGAGAG	86.07%	<i>S. epidermidis</i>
20 H	TRTTCWTGCACGTYCTTYMACGGTACTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG GTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTT AAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAAAC TTGAGTGC AGAAGAGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGT GGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGA TTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTT AGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAG GAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACC TTACCAAATCTTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCCTTCGGGGGACAGAGTGA CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCC GCAACGAGCG CAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACACARRRA RRRRRRRRRRRGGTGGG	99.29 %	<i>S. epidermidis</i>
26 H	ACAATGTCACGTCTTGACGGTACCTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTA ATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTTAAG TCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAAAC TTGAGTGCAGA AGAGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGSGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGC GAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAG ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTG STGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGKTGAAACTCAAAGGAAT TGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACC TTAC CAAATCTTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAG GTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCC GCAACGAGCGCAA CCCTTAAGCTTAGTTGCSRTCATAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACCARRRR GRRRRRGGKKGGG	98.87 %	<i>S. epidermidis</i>

27 H	AGGTCAGACCGACGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCG CGTAGGCCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACT GGAAAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATAT GGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTG GGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGG GGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAA GGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAG CAACGCGAAGAACCTTACCAAATCTTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCTTC GGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAG TCCCGCAACGAGCGCAACCCTTAAGCTTAGTTGCSAKCAKTAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTG CCGGTGACAAACCGRAAGGAGGKKG	99.10 %	<i>S. epidermidis</i>
28 H	TRATCWTKCMCGTYMTTYCACGGTACTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG GTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGYGGTTTTT AAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGAAAACCTTGAGTGC AGAAGAGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGT GGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGA TTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTT AGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAG GAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACC TTACCAAATCTTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCTTCGGGGGACAGAGTGA CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCG CAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACACAMRRA RARRARAGRWWWGTTTG	99.56	<i>S. epidermidis</i>
29 H	GGTTGGGKCATCTTGACGTAATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA CGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCCGGTTTTTTAAGTCT GATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGAAAACCTTGAGTGCAGAAG AGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGA AGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGAT ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGCT GCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTG ACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCA AATCTTGACATCCTTTGACAACCTCTAGAGATAGAGCTTTCCCTTCGGGGGACAAAAGTACAGGTG GTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCT TAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACCGARRRRR RRGKGGGATAGTGGAAGGGAGTAGAAGAC	99.43%	<i>S. aureus</i>

30 H	GGAWAWTKCCGTCTTGACGTACCTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTA ATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTAAAG TCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAAACCTTGAGTGCAGA AGAGGAAAGTGGAAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGC GAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAG ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTG CTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAAT TGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTAC CAAATCTTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGKTTTCCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAG GTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAA CCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACARRRGA ARGAGRRTGWAGGGACGAAGAGGGGRAGCGGAAARAARGGGGGGKA	99.57 %	<i>S. epidermidis</i>
41H	GTTAWKCCGYCTTYCACGGTTCCTYATYMGARAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG GTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTT AAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAAACCTTGAGTGC AGAAGAGGAAAGTGGAAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGT GGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGA TTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTT AGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAG GAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACC TTACCAAATCTTGACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCCTTCGGGGGACAGAGTGA CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCG CAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACACAARRR RRRRRRRRWGGGGGGAGAACAAGGGGGAATAAGAAGGAA	99.28 %	<i>S. epidermidis</i>
43 H	GTWTAKKGGGRAMKKCTTGACGTACTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT AATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTAA GTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAAACCTTGAGTGCAG AAGAGGAAAGTGGAAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGG CGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTA GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGT GCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGA ATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCCTTA CCAAATCTTGACATCCTTTGACAACCTAGAGATAGAGCCTTCCCCTTCGGGGGACAAAGTGACA GGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA ACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACGGAR GGRAAGGGKGGTTGAAAACATACATAACT	99.15 %	<i>S. aureus</i>

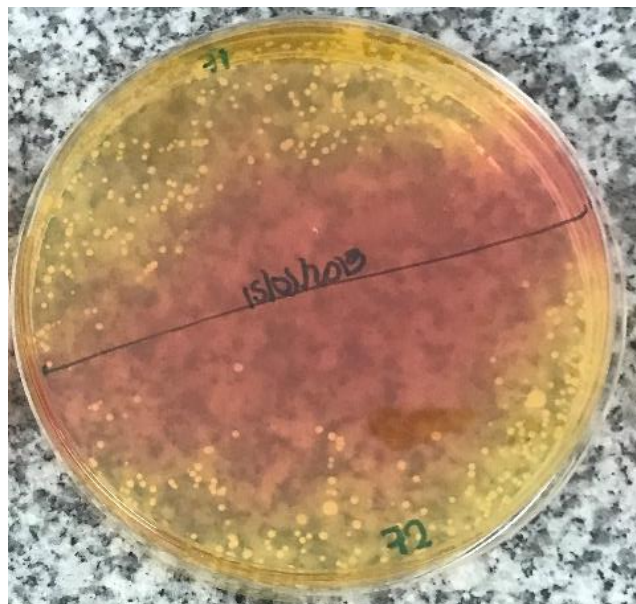
2 V	AAAACCGGGGTTWACCCTWAAYCAGAAAAGGCACGGCTAACTACGTGGCCAGCAGCCGCGGTAA TACSTACCCGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTCTTAAGT CTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGRAAACTTGAGTGCASAA GAGGAAAGTGGAAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCG AAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGA TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGC TGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGASCAGCAAGRTTGAACTCAAAGGAATT GACGGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTA CCAAATCTTGACATCCTTTGMAACTCTAGAGATAGAGCCTTCCYCTTCGGRGGACAAARTGACAG GTGGTGCATGGTTGTCGTCAGC	97.32 %	<i>S. cohnii</i>
9 V	GAGGAGATGARARAMKKMGTCTTGAGGTACCTATCAGAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC CGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGT TTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAACTTG AGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACA CCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAA CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGC CCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGTTGAACT CAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAA GAACCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGAAAACCTAGAGATAGAGCTTTCCCCTTCGGGGGACAA AGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTACGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACG AGCGCAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAGGTTGACTGCCGGTGACAA CAARRRRRRRRRRRRRKGKGG	99.43%	<i>S. saprophyticus</i>
15 V	GGGSKGGKGGKGGKARRGAARAAASGGGGAGGTCTGAMGGWCCTATCGAAAGCCCGGCTAYT ACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACSTARCGGMAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGC GCGCGTAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGA AACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAG ATATGGAGGAACACSAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGC GTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTA GGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCG CAWGGTTGAAAYTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGSATGTGGTTTARTTC GAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGAARACTCTAGAGATRGAGCTTCCC CTTCGGGGGACAAAGTGACAGGGGGTGGCAWGGWTGTCGGTACGCT	96.10 %	<i>S. xyloso</i>
25 V	NO SECUENCIA	--	--
30 V	GKRWAWMAWKGMCGTCTTGACGGTACCTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG CGGTAATACGTWGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTT CTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAACTTGAG	99.57%	<i>S. cohnii</i>

	TGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCA GTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAG GATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCC TTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAA AGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAA CCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGACAACCTAGAGATAGAGCCTTCCCCTTCGGGGGACAAAGT GACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAG CGCAACCCTTAACTTAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAACCA RRRRRAAGGGKGGG		
34 V	GAAACKGKACSGKCTTGACGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTTA AGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGAAAACCTTGAGTGCA GAAGAGGAAAGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTG GCGAAGGCGGCTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGAT TAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTTA GTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAG GAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACC TTACCAAATCTTGACATCCTTTGACCRCTCTAGAGATAGAGTTTTCTTCCGGAGGACAAAATGAC AGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGC AACCCTTGAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACCGAR RRGGRARGGGKGGG	99.57	<i>S. chromogenes</i>
41 V	GGAAWMGKAKMCGTCTTGACGGTACCTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG GTAATACGTAKGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTCTT AAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAACTTGAGTGC AGAAGAGGAAAGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGT GGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGA TTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTT AGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAG GAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACC TTACCAAATCTTGACATCCTTTGACAACCTAGAGATAGAGCCTTCCCCTTCGGGGGACAAAGTGA CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCG CAACCCTTAAGCTTAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACCG AARRRRRAAGGKGGG	99.57%	<i>S. cohnii</i>
46 V	GRWAMWKCCGTCTTGACGTACCTATCAGAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA TACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTTAAGT CTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGAAAACCTTGAGTGAGAA	99.43%	<i>S. epidermidis</i>

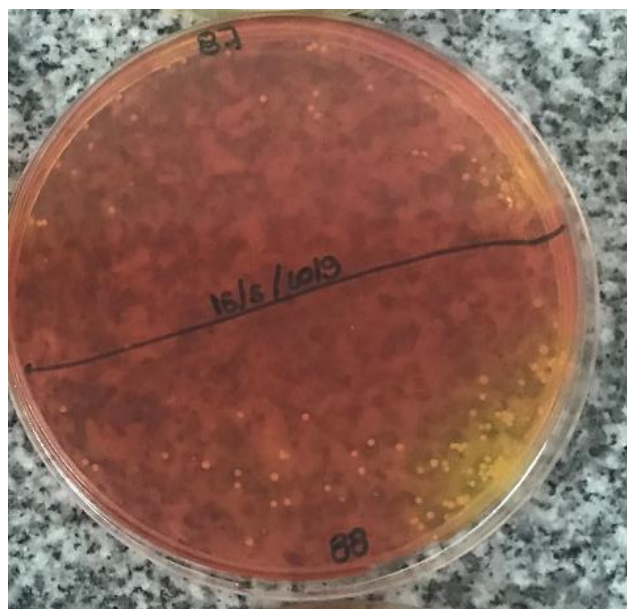
	GAGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCG AAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGA TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGC TGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATT GACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACC AAATCTTGACATCCTCTGACMCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAGG TGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC CTTAAGCTTAGTTGCCATGATTAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAACARRRRRRR RRRRKGTKGGG		
68 V	RCRCCMAAAAARGGCGTTTATGCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCSYKTAGGCGGTTTTTTAAG TSTGAKGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAAACCTTGAGTGCAGA AGAGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGC GAAGCGGCTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAG ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTG CTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGACTGAAACTCARAGGAAT TGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTAC CAAATCTTGACATCTTTTGACCRCTCTRGAGATAGAGTTTTCTCTTCGGAGGACAAAATGACAGG TGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTKRAGTCCCGCAACGAGCGCAAC CCTTGAGCTTAGKKTGCCRTSATTAAGTTGGGCACTSTAAGTTGACTGCCCGGTGACAAACCGGA AGGARGGKTGGG	96.91%	<i>S. chromogenes</i>
70 V	GAAYKGTGCTCTTGACGGTACCTATCAGAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA CSTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTCTTAAGTCT GATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGARACTTGAGTGCAGAAG AGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGA AGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGAT ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCT GCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTG ACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCA AATCTTGACATCCTTTGAMMACTCTAGAGATAGAGYYTTCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGT GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC CTTAARCTTAGTTGCCAKCATTWAGTTGGGCACTCTAGGTTGACTGCCGGTGACAACRRRRRGR RRGRGKKGKGG	98.29%	<i>S. saprophyticus</i>
94 V	GATACGTAKTACGCATGAGAGCGCGTASTTACTGYTCTGYMMTACGCCGAGCTGMCGCACACTA TCCGYACAMTAGCACTCRCTAGACACCTCTTCRCTMCCMCTGGCAGAAGRAGWCCMAKCAWTG CTARCGGWCAKMCTTACT		No significant similarity found

102	RAAAGGGCCCCSGSCGGGGTAATACYCCAGGTGGCAAGCGTTATCCGGGAATTATTGGGCGT AAAGCGCGCKTAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAT TGGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGC AGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGA AAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGT GTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACG ACCGCWWGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGGAGCATGTGGTT TAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGAAAACCTCTAGAGATAGAGC CTTCCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGT TGGGTAAAGTCCCGCRRRCGAGCGCAACCCTTAAAGCTTATTGCCATCATTAAAGTTGGGGCACTC TAGGTKGACTGCCGGTGACAAACCGGAAGGAARGGKGGG	97.46%	<i>S. saprophyticus</i>
-----	---	--------	-------------------------

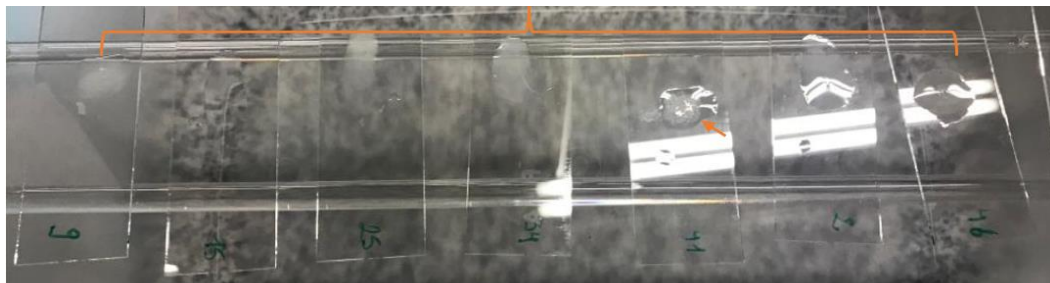
Anexo 7. Abundantes colonias grandes amarillas y blancas con fermentación de color amarillo en el medio (Manitol +)



Anexo 8. Colonias pequeñas sin cambio en el medio, fermentación roja-rosada (Manitol -).



Anexo 9. Presencia de burbujas confirma que los aislados son catalasa positivos. La flecha naranja indica los resultados positivos para la prueba.



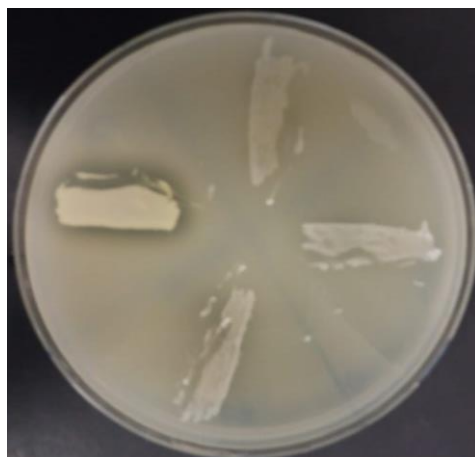
Anexo 10. Resultados para la prueba coagulasa, la ausencia del coágulo confirma que es Coagulasa –



Anexo 11. Resultados para la prueba coagulasa, la presencia de un coágulo blanquecino confirma que es Coagulasa +



Anexo 12. Presencia de un halo (DNasa +)



Anexo 13. No se visualiza la presencia del halo (DNasa -).



Anexo 14. Tabla comparativa de los resultados de los aislados de humanos confirmados como *Staphylococcus* spp. mediante pruebas bioquímicas vs secuenciación.

Origen	Toma de muestras	Código muestra	Resultado Pruebas Bioquímicas						Resultados		% de identidad
			Manitol salado	Catalasa	Coagulasa	Tinción	DNasa	Resultado	Secuenciación		
HUMANOS	Camal	G-H-01-C-A	f. amarillo	Positivo	Positivo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. aureus</i>	99,71%	
		G-H-02-E-M	f. amarillo/ f. rojo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	99,71%	
		G-H-07-A-J	f. amarillo	Positivo	Positivo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. aureus</i>	99,71%	
		G-H-010-M-C	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	99,29%	
		G-H-015-N-M	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. caprae</i>	99,67%	
		G-H-016-D-T	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. caprae</i>	97,48%	
		G-H-017-J-B	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	92,39%	
		G-H-028-V-P	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	99,56%	
		G-H-029-J-G	f. amarillo	Positivo	Positivo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. aureus</i>	99,43%	
	Finca	G-H-03-V-J	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	99,71%	
		G-H-04-A-P	f. amarillo	Positivo	Positivo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. aureus</i>	99,28%	
		G-H-05-Z-M	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. caprae</i>	99,69%	
		G-H-08-E-T	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	99,71%	
		G-H-09- L-T	f. amarillo/ f. rojo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	No significant similiary found		
		G-H-012-L-C	f. rojo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	No significant similiary found		
		G-H-013-G-C	f. rojo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	99,28%	
		G-H-041- J-M	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	99,28%	
	Transporte	G-H-06-C-A	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	99,02%	
	Carnicería	G-H-019-J-Z	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	86,07%	

		G-H-020-L-A	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	99,29%
		G-H-026-A-P	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	98,87%
		G-H-027-L-C	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	99,10%
	ABG	G-H-030-P-C	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	99,57%
		G-H-043- V-L	f. amarillo	Positivo	Positivo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. aureus</i>	99,15%

Anexo 15. Tabla comparativa de los resultados de los aislados de canales confirmados como *Staphylococcus* spp. mediante pruebas bioquímicas vs secuenciación.

Origen	Toma de muestras	Código muestra	Resultado Pruebas Bioquímicas						Resultados		% de identidad
			Manitol salado	Catalasa	Coagulasa	Tinción	DNasa	Resultado	Secuenciación		
CANALES	Empresa Pública del Sistema Integral de Faenamiento de Santa Cruz	G-A-02-5498	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. cohnii</i>	97,32%	
		G-A-09-4239	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. saprophyticus</i>	99,43%	
		G-A-015-4264	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. xylosus</i>	96,10%	
		G-A-025-6156	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	No significant similary found		
		G-A-030-2874	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. cohnii</i>	99,57%	
		G-A-034-7859	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. chromogenes</i>	99,57%	
		G-A-041-7424	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. cohnii</i>	99,57%	
		G-A-046-3880	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. epidermidis</i>	99,43%	
		G-A-068-2768	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Positivo	Staph	<i>S. chromogenes</i>	96,91%	
		G-A-070-7923	f. rojo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. saprophyticus</i>	98,29%	
		G-A-094-7956	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	No significant similary found		
G-A-0102-4265	f. amarillo	Positivo	Negativo	Cocos morados	Negativo	Staph	<i>S. saprophyticus</i>	97,46%			

