(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 858 823**

(51) Int. CI.:

G01N 33/569 (2006.01)
C12Q 1/68 (2008.01)
C07H 21/04 (2006.01)
C12Q 1/689 (2008.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.10.2006 E 10016072 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.07.2020 EP 2325644**

(54) Título: **Secuencias para la detección e identificación de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) de tipo AEDM XII**

(30) Prioridad:

11.10.2005 US 248438

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.09.2021

(73) Titular/es:

BECTON DICKINSON INFUSION THERAPY SYSTEMS INC. (100.0%)
1 Becton Drive
Franklin Lakes, NJ 07417-1880, US

(72) Inventor/es:

HULETSKY, ANN y
GIROUX, RICHARD

(74) Agente/Representante:

GARCÍA EGEA, Isidro José

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Secuencias para la detección e identificación de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) de tipo AEDM XII

Campo de la invención

La presente invención se relaciona con nuevas secuencias de vinculación de extremidad derecha de SCCmec para la detección de *Staphylococcus* aureus resistente a la meticilina, y usos de las mismas con fines diagnósticos y/o epidemiológicos.

Antecedentes de la invención

La especie *Staphylococcus aureus* grampositiva productora de coagulasa está bien documentada como un patógeno oportunista humano (Murray et al., Eds., 1999, Manual of Clinical Microbiology, Séptima Edición, ASM Press, Washington, D.C.). Las infecciones hospitalarias causadas por *S. aureus* son una fuente principal de morbilidad y mortalidad. Algunas de las infecciones más comunes provocadas por *S. aureus* afectan a la piel, e incluyen forúnculos o diviesos, celulitis, impétigo, e infecciones post operatorias de heridas en diversas zonas. Algunas de las infecciones más serias producidas por *S. aureus* son bacteriemia, neumonía, osteomielitis, endocarditis aguda, miocarditis, pericarditis, cerebritis, meningitis, síndrome de la piel escaldada, y abscesos variados. El envenenamiento de la comida producido por enterotoxinas estafilocócicas es otro síndrome importante asociado con *S. aureus*. El síndrome de shock tóxico, una enfermedad comunitaria, ha sido también atribuido a infección o colonización con *S. aureus* toxigénico.

El *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) surgió en los años 80 como un grave problema clínico y epidemiológico en hospitales (Oliveira et al., 2002, Lancet Infect Dis., 2:180-9). El SARM es resistente a todos los β-lactamos incluyendo penicilinas, cefalosporinas, carbapenemos, y nonobactamos, que son los antibióticos más comunes usados para curar las infecciones de *S. aureus*. Las infecciones de SARM pueden ser tratadas solamente con antibióticos más tóxicos y más costosos, que se usan normalmente como un último recurso. En cuanto el SARM se puede extender fácilmente de paciente a paciente por vía del personal, hospitales de todo el mundo se enfrentan al problema de controlar el mismo. En consecuencia, hay necesidad de desarrollar tests de exploración o de diagnóstico rápidos y sencillos para la detección y/o identificación del SARM con objeto de reducir su diseminación y mejorar el diagnóstico y tratamiento de pacientes infectados.

La resistencia a la meticilina en el *S. aureus* es singular en el sentido en que se debe a la adquisición de ADN de otros estafilococos de coagulosa negativa (ECN), poniendo en cifra una proteína vinculante de penicilina (PVP) resistente al β-lactamo, supernumeraria, que asume las funciones biosintéticas de las PVP normales cuando la célula está expuesta a antibióticos β-lactamo. El *S. aureus* contiene normalmente 4 PVP, de los cuales las PVP 1, 2 y 3 son esenciales. La PVP de baja afinidad en el SARM, denominada PVP 2a (ó PVP 2'), está cifrada por el gen cromosómico mecA y funciona como una transpéptidasa resistente al β-lactamo. El gen mecA está ausente del *S. aureus* sensible a la meticilina pero está ampliamente diseminado entre otras especies de estafilococos y tiene un nivel alto de reserva (Ubukata et al., 1990, Antimicrob. Agents Chemother. 34:170-172).

La determinación de la secuencia nucleótida de la zona del ADN que rodea el gen mecA desde la cepa N315 del *S. aureus* (aislada en Japón en 1982), llevó al descubrimiento de que el gen mecA es transportado por un elemento genético novedoso, denominado cromosoma cassette de estafilococo mec (CCEmec), que se inserta en el cromosoma. El CCEmec es un elemento genético móvil caracterizado por la presencia de reiteraciones inversas terminales y directas, un juego de genes de recombinasa específicos del lugar (ccrA y ccrB), y el gen mecA complejo (Ito et al., 1999, Antimicrob. Agents Chemother. 43:1449-1458; Katayama et al., 2000, Antimicrob. Agents Chemother. 44:1549-1555). El CCEmec está sacado precisamente del cromosoma de la cepa N315 del *S. aureus* y se integra en un lugar cromosómico *S. aureus* específico en la misma orientación a través de la función de un juego único de genes de recombinasa que comprenden ccrA y ccrB. La clonación y el análisis de secuencia del ADN que rodea el gen mecA de las cepas de SARM NCTC 10442 (habiendo sido aislada la primera cepa de SARM en Inglaterra en 1961) y 85/2082 (una cepa de Nueva Zelanda aislada en 1985) llevaron al descubrimiento de dos elementos genéticos novedosos que compartían características estructurales similares del CCEmec. Los tres CCEmec han sido denominados tipo I (NCTC 10442), tipo II (N315) y tipo III (85/2082) basándose en el año de aislamiento de las cepas (Ito et al., 2001, Antimicrob.Agents Chemother., 45:1323-1336). Hiramatsu et al. han descubierto que los ADN del CCEmec están integrados en un lugar específico en el cromosoma de *S. aureus* sensible a la meticilina (SASM). Fue analizada la secuencia nucleótida de las zonas que rodean los límites izquierdo y derecho del ADN CCEmec (esto es, attL y attR, respectivamente), además de los de las zonas alrededor del lugar de integración del ADN CCEmec (esto es, attBssc que es el lugar de vinculación cromosómica bacteriana para ADN CCEmec). El análisis secuencial de los lugares attL, attR attBscc revelaron que el attBscc se ubica en el extremo 3' de una novedosa estructura de lectura abierta (ELA), elaX. ElaX cifra un supuesto polipéptido amino ácido 159 que exhibe una homología secuencial con algunos polipéptidos previamente identificados de función desconocida (Ito el al, 1999, Antimicrob.Agents Chemother., 43:1449-1458). Dos tipos nuevos de CCEmec, denominados tipo IV y tipo V fueron recientemente descritos (Ma et al., 2002, Antimicrob. Agents Chemoter., 46:1147-1152, Ito et al., 2004, Antimicrob Agents Chemother. 48:2637-2651, Oliveira et al. 2001, Microb. Drug Resist., 7:349-360). El análisis secuencial de la extremidad derecha de la nueva CCEmec del tipo IV de cepas de *S. aureus* CA05 y 8/6-3P reveló que las secuencias eran casi

idénticas sobre 2000 nucleótidos a los de la cepa N315 del tipo II CCEmec de *S. aureus* (Ma et al., 2002, Antimicrob. Agents Chemoter., 46:1147-1152, Ito et al., 2001, Antimicrob Agents Chemother. 45:1323-1336). A la fecha, no se dispone públicamente de los datos secuenciales de la extremidad derecha de las cepas HDE288 y PL72 del tipo IV CCEmec de *S. aureus* (Oliveira et al., 2001, Microb. Drug Resist., 7:349-360).

Se han descrito procedimientos para detectar e identificar SARM, basados en la detección del gen mecA y de secuencias cromosómicas específicas de *S. aureus* (Saito et al., 1995, J. Clin. Microbiol. 33:2498-2500; Ubukata et al., 1992, J. Clin. Microbiol. 30:1728-1733; Murakami et al., 1991, J. Clin. Microbiol. 29:2240-2244; Hiramatsu et al., 1992, Microbiol. Immunol. 36:445-453). Sin embargo, por estar ampliamente distribuido el gen mecA tanto en *S. aureus* como en los estafilococos de coagulasa negativa, estos procedimientos no siempre son aptos para discriminar SARM con relación a CNS resistente a la meticilina (Suzuki et al., 1992, Antimicrob. Agents. Chemother. 36:429-434). Para afrontar este problema, Hiramatsu et al. desarrollaron un ensayo basado en RCP (llamado también PCR, por su equivalente en siglas en inglés), específico para SARM, que utiliza cebadores que hibridan hasta las extremidades derechas de los tres tipos de ADNs CCEmec en combinación con cebadores específicos del cromosoma *S. aureus*, que se corresponden con la secuencia nucleótida en el lado derecho del lugar de integración CCEmec (patente estadounidense 6.156.507, en adelante la “patente 507”). Las secuencias nucleótidas que rodean el lugar de integración CCEmec en otras especies estafilocócicas (por ejemplo, S. epidermidis y S. haemolyticus) son diferentes de las que se encuentran en *S. aureus*. En consecuencia, este ensayo RCP es específico para la detección de SARM.

El ensayo RCP descrito en la “patente 507” llevó también al desarrollo de la “tipificación PEDM” (Polimorfismo de Extremidad Derecha Mec) de ADN CCEmec (Ito et al., 2001, Antimicrob. Agents Chemother. 45:1323-1336; Hiramatsu et al., 1996, J. Infect. Chemother. 2:117-129). El procedimiento de tipificación PEDM aprovecha el hecho de que las secuencias nucleótidas de los tres tipos de AEDM difieren en la extremidad derecha de los ADNs CCEmec adyacentes al lugar de integración entre los tres tipos de CCEmec. En comparación con el tipo I, el tipo III tiene una única secuencia nucleótida mientras que el tipo II tiene una inserción de 102 nucleótidos hasta el extremo derecho del CCEmec. El procedimiento de tipificación PEDM descrito por Hiramatsu et al. usa la siguiente nomenclatura: tipo I de CCEmec es tipo i PEDM, tipo II de CCEmec es tipo ii PEDM, y tipo III de CCEmec es tipo iii PEDM.

Debido a que los tipos II y IV de CCEmec tienen la misma secuencia nucleótida hasta la extremidad derecha, el procedimiento de tipificación PEDM descrito supra, no puede diferenciar el nuevo tipo IV de CCEmec descrito por Hiramasu el al. (Ma et al., 2002, Antimicrob. Agents Chemother. 46:1147-1152) del tipo II de CCEmec.

La expresión AEDM (también conocida como MREJ, su equivalente en siglas en inglés) se refiere a la articulación de la extremidad derecha de mec “Articulación Extremidad Derecha Mec” (en inglés, “Mec Right Extremity Junction”). Las AEDMs son de aproximadamente 1 kilobase (kb) de longitud e incluyen secuencias de la extremidad derecha de CCEmec además de ADM cromosómico bacteriano hasta la derecha del lugar de integración de CCEmec. Las cepas que fueron clasificadas como de tipos PEDM i-iii se corresponden con los tipos AEDM i-iii. Los tipos AEDM iv, v, vi, vii, viii, ix, y x han sido caracterizados previamente (Huletsky et al., 2004, J. Clin. Microbiol. 42:1875-1884; Solicitud de Patente Internacional PCT/CA02/00824).

Las realizaciones descritas aquí se refieren a la generación de datos secuenciales de la unión de la extremidad derecha de CCEmec que permite la detección de más cepas SARM con objeto de mejorar los ensayos NAT para la detección de SARM. Hay una necesidad de desarrollo de cebadores más omnipresentes y de sondas para la detección de más cepas SARM alrededor del mundo.

Descripción de la invención

En esta invención se ponen a disposición procedimientos y composiciones específicas, omnipresentes y sensitivas para la determinación de la presencia y/o cantidad de ácidos nucleicos de todas las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM). Se divulgan procedimientos, composiciones y herramientas que permiten la detección y cuantificación de AEDM tipos xi-xx novedoso.

Algunos aspectos se refieren a un procedimiento para la detección de la presencia de una bacteria SARM en una muestra que incluye ácidos nucleicos bacterianos. Las cepas SARM tienen añadido ácido nucleico CCEmec que comprende un gen mecA. El CCEmec añadido hace que la bacteria SARM sea resistente a la meticilina. El CCEmec se añade al ADN bacteriano en el extremo 3’ de la estructura de lectura abierta orfX, creando una articulación de extremidad derecha polimórfica (AEDM). Se proporciona al menos un cebador y/o sonda específica para cepas SARM, en el que el cebador o sonda se hibrida hasta hacerse un ácido nucleico AEDM polimórfico de AEDM tipos xi a xx. El/Los cebador/es y/o sonda/s son alineados con los ácidos nucleicos de la muestra. El cebador y/o sonda alineada indica la presencia de AEDM. Consecuentemente, en algunas realizaciones, el procedimiento puede incluir la fase de detección de la presencia y/o cantidad de sonda(s) alineada(s), o detectar la cantidad de un producto de amplificación producido por templado de los cebadores a los ácidos nucleicos de la muestra, como indicación de la presencia y/o cantidad de SARM.

En realizaciones preferidas, se proporciona más de un cebador y/o sonda. Los cebadores y/o sondas pueden alinearse con a los ácidos nucleicos AEDM bajo, sustancialmente, las mismas condiciones de templado. Los cebadores y/o sondas pueden ser al menos de 10 nucleótidos, 12 nucleótidos, 14 nucleótidos, 16 nucleótidos, 18 nucleótidos, 20 nucleótidos,

25 nucleótidos, ó 30 nucleótidos, de longitud. Las sondas e cebadores pueden ser usados conjuntamente en el mismo recinto físico o en distintos recintos físicos.

En algunas realizaciones, el procedimiento incluye la fase de proporcionar una pluralidad de cebadores y/o sondas que pueden alinearse con al menos un tipo de AEDM seleccionado de los tipos xi, xii, xiii, xiv, xv, xvi, xvii, xviii, xix y xx de AEDM. En algunas realizaciones, la pluralidad de cebadores y/o sondas pueden alinearse con al menos cuatro tipos de AEDM seleccionados del AEDM tipo xi, xii, xiii, xiv, xv, xvi, xvii, xviii, xix y xx. En algunas realizaciones, los cebadores y/o sondas se alinean con cualquiera de los ácidos nucleicos de los números de indicación de secuencia: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 y 56. En algunas realizaciones, los cebadores y/o sondas pueden alinearse, en conjunto, con cualquiera de los tipos de AEDM xi a xx, tales como aquellos con los números de indicación de secuencia: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 y 56. En algunas realizaciones, el al menos un cebador y/o sonda de entre la pluralidad de cebadores y/o sondas es apto para alinearse con cada uno de los números de indicación de secuencia: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 y 56. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los cebadores y/o sondas listados en la Tabla 4 se usan para detectar bacterias SARM que comprendan el siguiente ácido nucleico AEDM :

TABLA 4

Cebador/Sonda de Identificación Secuencial nº	Para identificar AEDM tipo
30, 31, 32, 33, 34, 44, 45, 76	xi
30, 31, 32, 33, 35, 44, 45, 62	xii
29, 30, 31, 32, 33, 44, 45, 76	xiii
29, 30, 31, 32, 33, 44, 45, 59	xiv
24, 30, 31, 32, 33, 4, 45, 62	xv
36, 44	xvi
4, 30, 31, 32, 33, 44, 45, 62	xvii
7, 30, 31, 32, 33, 44, 45, 59	xviii
9, 30, 31, 32, 33, 44, 45, 59	xix
8, 30, 31, 32, 33, 44, 45, 59	xx

En algunas realizaciones, los cebadores y/o las sondas están expuestos a la alineación bajo condiciones astringentes más que cualquier otra cepa de tipo AEDM. Por ejemplo, en realizaciones preferentes, los números de identificación de secuencia 31, 32, 33 están dispuestos para la detección de AEDM tipos xi a xv y xvii a xx.

En realizaciones ulteriores, los cebadores y/o las sondas están dispuestos en parejas para la detección de al menos un SARM que tenga ADEM de tipos xi a xx. Consecuentemente, en algunas realizaciones, al menos una pareja de oligonucleótidos seleccionados del grupo consistente de los números de identificación secuencial: 34/45, 34/30, 34/76 y 34/44 está dispuesta para la detección del AEDM tipo xi. En otras realizaciones, al menos una pareja de oligonucleótidos seleccionados del grupo consistente de números de identificación secuencial: 35/45, 35/30, 35/62, y 35/44 está dispuesta para la detección del AEDM tipo xii. En realizaciones ulteriores, al menos una pareja de oligonucléotidos seleccionados del grupo consistente de números de identificación secuencial: 29/45, 29/30, 29/76, y 29/44 está dispuesta para la detección del AEDM tipo xiii. En otras realizaciones ulteriores, al menos una pareja de oligonucleótidos seleccionados del grupo consistente de números de identificación secuencial: 29/45, 29/30, 29/59, y 29/44 está dispuesta para la detección del AEDM tipo xiv. En otras realizaciones ulteriores, al menos una pareja de oligonucleótidos seleccionados del grupo consistente de números de identificación secuencial: 24/45, 24/30, 24/62, y 24/44 está dispuesta para la detección del AEDM tipo xv. En otras realizaciones ulteriores, al menos una pareja de oligonucleótidos seleccionados del grupo consistente de números de identificación secuencial: 36 y 44 está dispuesta para la detección del AEDM tipo xvi. En otras realizaciones ulteriores, al menos una pareja de oligonucleótidos seleccionados del grupo consistente de números de identificación secuencial: 4/45, 4/30, 4/62, y 4/44 está dispuesta para la detección del AEDM tipo xvii. En otras realizaciones ulteriores, al menos una pareja de oligonucleótidos seleccionados del grupo consistente de números de identificación secuencial: 7/45, 7/30, 7/59, y 7/44 está dispuesta para la detección del AEDM tipo xviii. En otras realizaciones ulteriores, al menos una pareja de oligonucleótidos seleccionados del grupo consistente de los números de identificación secuencial: 9/45, 9/30, 9/59, y 9/44 está dispuesta para la detección del AEDM tipo xix. En otras realizaciones ulteriores, al menos una pareja de oligonucleótidos seleccionados del grupo consistente de números de identificación secuencial: 8/45, 8/30, 8/59, y 8/44 está dispuesta para la detección del AEDM tipo xx.

En algunas realizaciones, al menos dos parejas de cebadores están dispuestas para la detección de más de un tipo de AEDM.

En otras realizaciones preferidas, los cebadores y/o sondas listados en la Tabla 5 están dispuestos de forma conjunta para detectar bacterias SARM que comprendan el siguiente ácido nucleico AEDM:

TABLA 5

Primario/Sonda de Identificación Secuencial nº	Para identificar AEDM tipo
51, 30, 31, 32, 33	xi
52, 30, 31, 32, 33	xii
29, 30, 31, 32, 33	xiii
29, 30, 31, 32, 33	xiv
24, 30, 31, 32, 33	xv
36, 44	xvi
4, 30, 31, 32, 33	xvii
7, 30, 31, 32, 33	xviii
9, 30, 31, 32, 33	xix
8, 30, 31, 32, 33	xx

En realizaciones ulteriores, los procedimientos descritos supra comprenden además, el suministro de cebadores y/o sondas específicos para un tipo de AEDM determinado, y la detección de una sonda o cebador hibridado como indicación de la presencia de un determinado tipo de AEDM.

En aún otras realizaciones, se proporcionan cebadores y/o sondas específicos para los números de identificación secuencial listados en la Tabla 6 para detectar bacterias SARM que comprendan el siguiente ácido nucleico AEDM:

TABLA 6

Cebador/Sonda de Identificación Secuencial nº	Para identificar AEDM tipo
17, 18, 19	xi
20	xii
15, 25, 26	xiii
16	xiv
56	xv
21	xvi
55	xvii
39, 40	xviii
41	xix
42	xx

En algunas realizaciones, los cebadores se usan en una reacción de amplificación, tal como en reacción de cadena de polimerasa (RCP) y variantes del mismo, tan como la RCP anidada y la RCP múltiple, la reacción de cadena de ligasa (RCL), la amplificación basada en secuencia de ácido nucleico (ABSAN), replicación de secuencia auto – sostenida (RSAS), amplificación de desplazamiento de filamento (ADF), amplificación de fase sólida (AFS), amplificación de señal dependiente de nucleasa (ASDN), amplificación de círculo rodante (ACR), ampliación de desplazamiento de filamento anclado (ADFA), amplificación de círculo rodante (inmovilizado) de fase sólida, amplificación de replicasa de beta Q, y otras técnicas medicadas de polimerasa de ARN.

En realizaciones preferidas, se usa la RCP para amplificar los ácidos nucleicos en la muestra.

En otras realizaciones, también se proporcionan oligonucleótidos de al menos 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25 ó 30 nucleótidos de longitud que se hibridan bajo condiciones astringentes con alguno de los ácidos nucleicos de los números de identificación secuencial: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 y 56, y que se hibridan con uno o más AEDM de tipos seleccionados de xi a xx.

En otras realizaciones, son proporcionadas parejas de cebadores y/o sondas para la detección de SARM de todos los tipos xi a xx. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, son proporcionadas las parejas de cebadores (o sondas) listados en la Tabla 7:

TABLA 7

Primario/Sonda de Identificación Secuencial nº	Para identificar AEDM tipo
34/45, 34/30, 34/76, 34/44	xi
35/45, 35/30, 35/62, 35/44	xii
29/45, 29/30, 29/76, 29/44	xiii
29/45, 29/30, 29/59, 29/44	xiv
24/45, 24/30, 24/62, 24/44	xv
36/44	xvi
4/45, 4/30, 4/62, 4/44	xvii
7/45, 7/30, 7/59, 7/44	xviii
9/45, 9/30, 9/59, 9/44	xix
8/45, 8/30, 8/59, 8/44	xx

En realizaciones ulteriores del procedimiento descrito supra, se proporcionan sondas internas que tienen secuencias nucleótidas definidas en alguno de los números de identificación secuencial: 31, 32 y 33.

En aún otras realizaciones, se usan cebadores y/o sondas usados en la detección de AEDM tipos xi a xx es combinación con cebadores y/o sondas capaces de detectar SARM de tipos i a x de AEDM, tal como por ejemplo aquellos cebadores y/o sondas divulgados en la Solicitud de Patente Internacional PCT/CA02/00824.

Otros aspectos de la invención se refieren a secuencias nucleótidas que comprenden al menos uno de los ácidos nucleicos de los números de identificación secuencial: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 y 56 o el complemento de los mismos. Otras realizaciones ulteriores se refieren a fragmentos de los ácidos nucleicos de números de identificación secuencial 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 y 56, en los cuales los fragmentos comprenden al menos 30, 50, 100, 150, 200, 300 ó 500 nucleótidos consecutivos de los ácidos nucleicos de los números de identificación secuencial 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 y 56, o los complementos de los mismos. Aspectos ulteriores se refieren a vectores que comprenden las secuencias de ácidos nucleicos de números de identificación secuencial: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 y 56, además de células huésped, tales como células huésped de Escherichia Coli, comprendiendo vectores que comprenden las secuencias de ácidos nucleicos de números de identificación secuencial: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 y 56.

Aún otros aspectos se refieren a oligonucleótidos que son al menos de 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25 ó 30 nucléotidos de longitud que se alinean con cualquiera de los números de identificación secuencial: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 y 56. Por ejemplo, algunas realizaciones son oligonucleótidos que comprenden la secuencia de cualquiera de los números de identificación secuencial: 31, 32 ó 33. Aún otras realizaciones se refieren a oligonucleótidos que son al menos de 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25 ó 30 nucléotidos de longitud que dr alinean con cualquiera de los números de identificación secuencial: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 y 56.

Aún otros aspectos se refieren a conjuntos que comprenden cebadores y/o sondas. Los cebadores y/o sondas pueden ser de al menos 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25 ó 30 nucléotidos de longitud y se hibridizan con cualquiera de los ácidos nucleicos de AEDM tipo xi a xx. Realizaciones ulteriores se refieren a conjuntos que comprenden partidores y/o sondas que son de al menos 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25 ó 30 nucléotidos de longitud y se hibridizan con cualquiera de los ácidos nucleicos de números de identificación secuencial: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 y 56. Algunas realizaciones se refieren a conjuntos que comprenden parejas de partidores. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los conjuntos comprenden las siguientes parejas de partidores:

Partidor/Sonda de Identificación Secuencial nº	Para identificar AEDM tipo
34/45, 34/30, 34/76, 34/44	xi
35/45, 35/30, 35/62, 35/44	xii
29/45, 29/30, 29/76, 29/44	xiii
29/45, 29/30, 29/59, 29/44	xiv
24/45, 24/30, 24/62, 24/44	xv
36/44	xvi
4/45, 4/30, 4/62, 4/44	xvii
7/45, 7/30, 7/59, 7/44	xviii
9/45, 9/30, 9/59, 9/44	xix
8/45, 8/30, 8/59, 8/44	xx

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra las articulaciones de la extremidad derecha del CCEmec. Aparecen mostradas las posiciones y orientaciones de los partidores utilizados para secuenciar los tipos novedosos de AEM xi a xx. Los números de identificación secuencial: 4, 24, 27-30, 36, 43-45, 50-57, 78-86 fueron usados para secuenciar los tipos AEDM xi, xii, xiii, xiv, xv, xvi, xvii, xviii, xix y xx. Las flechas y los números infra indican las posiciones de los partidores y sus respectivos números de identificación secuencial. La andadura indica las posiciones donde los cebadores de ADN andante – ACP

(AA – ACP) del equipo DNA Walking SpeedUp (Seegene, Del Mar California) se han alineado sobre la secuencia CCEmec.

La Figura 2 muestra la articulación de la extremidad derecha del CCEmec y la posición de los cebadores (números de identificación secuencial: 4, 7-9, 24, 29-36, 44, 45, 59, 62, 73) desarrollados en la presente invención para la detección e identificación de tipos novedosos de AEDM xi, xii, xiii, xiv, xv, xvi, xvii, xviii, xix, y xx. Las medidas del amplicón están listadas en la Tabla 11. Los números entre paréntesis bajo los tipos de AEDM indican los números de identificación secuencial de AEDM. Las flechas indican las posiciones de los cebadores y los números infra indican sus respectivos números de identificación secuencial. Las barras oscuras y los números infra indican las posiciones de las sondas y sus números de identificación secuencial respectivos. La deleción en el tipo xvi de AEDM indica la posición de la deleción 269-bp en orfX.

La Figura 3 ilustra un alineamiento de múltiple secuencia de 19 tipos i a ix y xi a xx de AEDM representativo, que incluyen el orfX, la zona de integración, y los primeros 535 nucleóidos de la extremidad derecha del CCEmec. Las secuencias de los tipos i a ix de AEDM son de los números de identificación secuencial de la Solicitud de Patente Internacional pendiente PCT/CA02/00824: 1, 2, 232, 46, 50, 171, 166, 167 y 168, respectivamente. El número de identificación secuencial: 18 se corresponde con AEDM tipo xi, el número de identificación secuencial: 20 se corresponde con AEDM tipo xii, el número de identificación secuencial: 15 se corresponde con AEDM tipo xiii, el número de identificación secuencial: 16 se corresponde con AEDM tipo xiv, el número de identificación secuencial: 56 se corresponde con AEDM tipo xv, el número de identificación secuencial: 21 se corresponde con AEDM tipo xvi, el número de identificación secuencial: 55 se corresponde con AEDM tipo xvii, el número de identificación secuencial: 39 se corresponde con AEDM tipo xviii, el número de identificación secuencial: 41 se corresponde con AEDM tipo xix y el número de identificación secuencial: 42 se corresponde con AEDM tipo xx.

Realización preferente de la invención

El *Staphylococcus aureus* resistente a la Meticilina (SARM) supone una seria amenaza a la salud para las personas y resulta de evidencia cegadora la necesidad de procedimientos rápidos y sencillos para la detección, identificación y cuantificación del SARM.

Aquí se divulgan secuencias y disposiciones novedosas de ADN presentes en cepas de SARM que permite la detección de SARM que no eran detectables usando los procedimientos previamente disponibles. Las secuencias y disposiciones novedosas de ADN están presentes en la zona de CCEmec del ADN SARM. Las cepas de SARM comprenden una adición de CCEmec que, a su vez, comprende un gen mecA. El CCEmec es añadido en el ADN bacteriano al extremo 3' de la estructura de lectura abierta orfX. La adición del CCEmec en el ADN bacteriano crea una articulación de extremidad derecha polimórfica, llamada en lo sucesivo AEDM, correspondiente a "Articulación de Extremidad Derecha Mec". Las zonas AEDM incluyen secuencias de la extremidad derecha CCEmec, además de ADN cromosómico adyacente a la zona de integración del CCEmec derecho. Las realizaciones de la invención se refieren a las secuencias y disposiciones novedosas de AEDM descritas en adelante, que pueden ser usadas como secuencias paternales de las cuales se derivan los cebadores y/o sondas útiles para la detección e identificación del SARM descrito infra. Otros aspectos de la invención se refieren a novedosos cebadores y/o sondas derivados de las secuencias AEDM novedosas, además de conjuntos que comprenden cebadores y/o sondas que hibridizan a tipos AEDM xi a xx, para la detección del SARM.

También se divulgan procedimientos que posibilitan la detección de la presencia o ausencia de una cepa SARM en una muestra que incluye ácidos nucleicos. Se proporciona al menos un cebador y/o sonda específico para cepas SARM y que se alinea a un ácido nucleico AEDM de tipos xi a xx, divulgado aquí. El/los cebador(es) y/o sonda(s) pueden ser templados a los ácidos nucleicos de la muestra. La detección de los cebador(es) y/o sonda(s) alineado(s) indica la presencia de un SARM del tipo ADEM que hibridiza a el/los cebador(es) y/ sonda(s).

Cebadores y Sondas

Tal como se usan de aquí en adelante, los términos "partidor" y "sonda" no se limitan a oligonucleótidos o ácidos nucleicos, sino que además abarcan moléculas análogas a nucleótidos, además de nucléotidos. Los nucléotidos y polinucléotidos serán aquí genéricos a los polidesoxirribonucleótidos (que contienen 2-deoxi-D-ribosa), a los poliribonucleótidos (que contienen D-ribosa), a cualquier otro tipo de polinucleótido que es N- o C-glicósido de una base de purina o pirimidina, y a otros polímeros que contienen esencias no nucleotídicas, por ejemplo, poliamida (vgr., ácidos nucleicos péptidos [ANPs] y polimorfolino [disponible en el mercado de Anti-Virals, Inc., Corvallis, Oreg., como polímeros Neugene®) y otros polímeros de ácido nucleico de secuencia específica sintética, sìempre que los polímeros contengan nucleobases en una configuración que permita el emparejamiento básico y el apilamiento básico, tal como se halla en el ADN y en el ARN.

Los términos nucleótido y polinucleótido incluyen, por ejemplo, 3'-deoxi-2, 5'-ADN, oligodesoxirribonucleótido N3'-P5' fosforamidatas, ARN 2'-O-alcilosustituido, ADN de doble y de único filamento, además de ARN de doble y de único filamento, híbridos de ADN:ARN, e híbridos entre ANPs y ADN o ARN. Los términos incluyen también tipos conocidos de modificaciones, por ejemplo, marcas que son conocidas en la técnica, metilación, "casquetes", sustitución de uno o más de los nucleótidos que se dan de forma natural por un análogo, modificaciones internucleótidas tales como, por ejemplo, aquellas con vinculaciones sin cargar (por ejemplo, metil fosfonatos, fosfotriesteros, fosforamidatos, carbamatos, etc.), con vinculaciones con cargas negativas (vgr., fosforotioatos, fosforoditioatos, etc.), y con vinculaciones con cargas

positivas (vgr., aminoaclifoformidatos, aminoalcilfofotriesteros), aquellos que contienen porciones pendientes, tales como, por ejemplo, proteínas (incluyendo nucleadas, toxinas, anticuerpos, péptidos de señal, poli-L-lisina, etc.), aquellos con intercaladores (vgr., acridina, psoralen, etc.), aquellos que contienen quelantes (vgr., metales, metales radioactivos, boro, metales oxidativos, etc.) , aquellos que contienen alciladores, aquellos con vinculaciones modificadas (vgr., ácidos nucleicos alfa anoméricos, etc.), además de formas sin modificar de polinucleótidos u oligonucleótidos.

Se apreciará que los términos "nucleósido" y "nucleótido", usados aquí, incluirán aquellas porciones que contengan no sólo las bases conocidas de purina y pirimidina, sino también otras bases heterocíclicas que han sido modificadas. Tales modificaciones incluyen purinas o pirimidinas metilatadas, purinas o pirimidinas acilatadas, u otros heterociclos. Los nucleósidos o nucleótidos modificados incluirán también modificaciones sobre la porción de azúcar, vgr., en donde uno o más de los grupos hidróxilos son reemplazados con un halógeno, un grupo alifático, o están funcionarizados como éteres, aminas, o similares. Otras modificaciones a nucleótidos o polinucleótidos implican re – organización, adición, sustitución, o la alteración de otra forma de los grupos funcionales sobre la base de pruina o pirimidina que forma vínculos de hidrógeno con una pirimidina o purina complementaria respectiva. El nucleótido o polinucleótido modificado resultante puede formar una pareja básica con otras tales unidades nucleotídicas modificadas pero no con A, T, C, G ó U. Por ejemplo, la guanosina (2-amino-6-oxi-9-beta-D-ribofuranosil-purina) puede ser modificada para formar isoguanosina (2-oxi-6-amino-9-beta-D-ribofuranosil-purina). Tal modificación resulta en una base nucleósida que no formará ya una pareja básica normalizada con citosina. Sin embargo, la modificación de citosina (1-beta-D-ribofuranosil-2-oxi-4-amino-pirimidina) para formar isocitosina (1-beta-D-ribofuranosil-2-amino-4-oxi-pirimidina) resulta en un nucleótido modificado que no se parificará básicamente con guanosina pero formará una pareja básica con isoguanosina. Las isocitosina está disponible de Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo.); la isocitosina puede ser preparada por el procedimiento descrito por Switzer et al. (1993) Biochemistry 32:10489-10496 y las referencias citadas allí. La 2'-deoxi-5-metil-isocitidina puede ser preparada por el procedimiento de Tor et al. (1993) J. Am. Chem. Soc. 115:4461-4467 y referencias citadas allí; Y los nucleótidos de isoguanina pueden ser preparados usando el procedimiento descrito por Mantsch et al. (1975) Biochem. 14:5593-5601, o por el procedimiento descrito en la patente estadounidense nº 5.780.610 por Collins et al. Las parejas básicas no naturales referidas como κ y π, pueden ser sintetizadas por el procedimiento descrito en Piccirilli et al. (1990) Nature 343:33-37 para la síntesis de 2,6-diaminopirimidina y su complemento (1-metilpirazolo[4,3]-pirimidina-5,7-(4H,6H)-diono. Otras unidades nucleotídicas modificadas de tal manera que forman parejas básicas únicas han sido descritas en Leach et al. (1992) J. Am. Chem. Soc. 114:3675-3683, o serán evidentes a los expertos en la materia.

Los cebadores y/o sondas pueden ser suministrados en cualquier forma adecuada, incluso vinculados a un soporte sólido, líquido y liofilizado, por ejemplo.

El enlace o hibridación específica de los cebadores y/o sondas a secuencias de ácidos nucleicos se lleva a cabo por hibridación específica. Se apreciará por el experto en la materia que la hibridación específica se consigue por la selección de secuencias que son, al menos, sustancialmente complementarias a la secuencia del ácido nucleico de objeto o referencia. Esto incluye el emparejamiento básico de la secuencia de ácido nucleico de objeto oligonucleótido sobre la completa longitud de la secuencia oligonucleótida. Tales secuencias pueden ser referidas como "completamente complementarias" con respecto a cada una de las otras. Mientras que un oligonucleótido es referido aquí como "sustancialmente complementario" con respecto a una secuencia de ácido nucleico, las dos secuencias pueden ser completamente complementarias, o pueden formar malos emparejamientos en la hibridación, pero mantienen la capacidad de hibridar bajo las condiciones utilizadas para detectar la presencia de los ácidos nucleicos SARM.

Existe una correlación positiva entre la longitud de la sonda, por un lado, y, por otro, tanto la eficiencia y exactitud con la cual una sonda se hibridará a una secuencia objeto. En particular, las secuencias más largas tienen una temperatura de fusión más alta (Tm) que la de las más cortas, y es menos probable que se repitan dentro de una secuencia objeto dada, con lo que se minimiza la hibridación promiscua.

Los términos "Tm" y "temperatura de fusión", tal como se usan aquí, son términos intercambiables que se refieren a la temperatura a la que el 50 % de la población de moléculas polinucleótidas de doble hebra se disocia en hebras únicas. Las fórmulas para el cálculo del Tm de polinucleótidos son conocidas en el estado de la técnica. Por ejemplo, la Tm puede ser calculada por la siguiente ecuación: Tm=69.3+0.41 x.(G+C)%-6- 50/L, en donde L es la longitud de la sonda en los nucleótidos. La Tm de un polinucleótido híbrido puede ser también estimada usando una fórmula adoptada de los análisis de hibridación en 1 M de sal, y es comúnmente usada para calcular la Tm para cebadores RCP: [(número de A+T) x 2º C + (número de G+C) x 4º C]. Ver, por ejemplo, C. R. Newton et al., PCR, Segunda edición, Springer-Verlag (Nueva York: 1997), p. 24. Otros cálculos más sofisticados existen en la técnica, que toman en cuenta características estructurales además de secuenciales para el cálculo de Tm. Un Tm calculado es meramente una estimación; la temperatura óptima se determina, comúnmente, de forma experimental.

Las secuencias de cebador o sonda con alto contenido en G+C o que comprenden secuencias palindrómicas tienden a auto – hibridarse, como lo hacen sus pretendidas zonas objeto, en cuanto la cinética de la hibridación, unimolecular más que bimolecular, resulta, generalmente, favorecida estando en una solución. Sin embargo, también es importante diseñar una sonda que contenga suficientes números de emparejamientos de nucleótidos G:C en cuanto cada pareja G:C está vinculada por tres vínculos de hidrógenos, más que los dos que se encuentran cuando las parejas básicas A y T (o A y U) se emparejan para vincular la secuencia objeto, y, en consecuencia, forma un vínculo más ajustado y más fuerte. El contenido preferente de G+C es de alrededor del 50 %.

La temperatura de hibridación varía de forma inversa con la eficiencia de la sonda que se hibrida, como lo hace la concentración de solventes orgánicos, por ejemplo, formamida, que podría ser incluida en una mezcla de hibridación, mientras que los incrementos en la concentración de sal facilitan la vinculación. Bajo condiciones rigurosas de hibridación, sondas de hibridación más largas, o cebadores de síntesis, hibridan más eficientemente de que lo hacen las más cortas, que son suficientes en condiciones más flexibles. Preferentemente, la hibridación rigurosa se lleva a cabo en un amortiguador adecuado bajo condiciones que permiten que la secuencia de ácido nucleico de referencia u objeto hibride a las sondas. Las condiciones de hibridación rigurosas pueden variar, por ejemplo, desde concentraciones salinas de menos de alrededor de 1 M, más usualmente menos de alrededor de 500 mM y preferentemente menos que alrededor de 200 mM, y las temperaturas de hibridación pueden estar en el intervalo de, por ejemplo, desde tan bajas como 0º C a más de 22 ºC, más de alrededor de 30º C y, más frecuentemente, por encima de alrededor de 37º C, dependiendo de las longitudes y/o la composición de ácido nucleico de las sondas. Los fragmentos más largos pueden exigir unas temperaturas de hibridación más elevadas para la hibridación específica. Como diversos factores afectan a la rigurosidad de la hibridación, la combinación de parámetros es más importante que la medición absoluta de un factor único. “Las condiciones rigurosas de hibridación” se refieren a una o a ambas de las siguientes: a) 6 x SSC a alrededor de 45º C, seguidas de uno o más lavados en 0.2 x SSC, 0.1 % SDS a 65º C, y b) 400 mM NaCl, 40 mM PIPES pH 6.4, 1 mM EDTA, 50º C ó 70º C durante 12-16 horas, seguidas por lavado.

En los procedimientos descritos aquí, la detección de cebadores y/o sondas hibridados pueden ser directa o indirecta. Por ejemplo, las sondas pueden ser hibridadas a la muestra que está siendo analizada, y directamente detectada. Por otro lado, los cebadores pueden ser hibridados a la muestra que está siendo analizada, seguida por una etapa de amplificación. Los productos amplificados pueden ser detectados directamente, o a través de detección de sondas que hibridan a los productos de amplificación.

En algunas realizaciones, se proporciona más de un cebador y/o sonda. Por ejemplo, algunas realizaciones hacen referencia a procedimientos para detectar una pluralidad de cepas SARM que comprenden tipos AEDM xi a xx. Una pluralidad de cebadores y/o sondas pueden ser usados en las reacciones llevadas a cabo en recintos físicamente separados o en el mismo recinto físico. El análisis de reacciones para una variedad de tipos SARM puede ser llevado a cabo de forma sucesiva o simultánea. En realizaciones donde se proporciona una pluralidad de cebadores en el mismo recinto físico, puede ser llevada a cabo una reacción PCR múltiple, con una pluralidad de oligonucleótidos, más preferentemente aquellos aptos para su hibridación con una zona objeto bajo condiciones comunes.

En algunas realizaciones, se proporciona una pluralidad de cebadores y/o sondas específicos para diferentes tipos AEDM en una reacción RCP múltiple, con tal que el tipo del AEDM pueda ser determinado. Los cebadores y/o sondas usados para la detección pueden tener diferentes marcadores, para permitir distinguir un tipo de AEDM de otro tipo de AEDM. El término “marcador”, usado aquí se refiere a entidades aptas para proporcionar una señal detectable, bien directa o bien indirectamente. Los marcadores incluyen, por ejemplo, radioisótopos, moléculas fluorescentes, biotina y similares.

Aunque las secuencias de los genes orfX y algunos fragmentos de ADN CCEmec están disponibles en bases de datos públicas y se han usado para desarrollar análisis basados en ADN para la detección de SARM, los datos secuenciales novedosos divulgados aquí permiten la detección de SARM de tipos AEDM xi a xx, que, hasta entonces, no habían sido detectados usando los análisis conocidos en el estado de la técnica. Estas secuencias novedosas, listadas en la Tabla 8, podrían no haber sido predichas ni detectadas por análisis RPC desarrollado con base en las secuencias AEDM conocidas de SARM (patente estadounidense 6.156.507; Solicitud de Patente Internacional PCT/CA02/00824; Ito el al., 2001, Antimicrob. Agentes Chemother. 45:1323-1336; Huletsky et al., 2004, J. Clin. Microbiol. 42:1875-1884; Ma et al, 2002, Antimicrob. Agents Chemother. 46:1147-1152; Ito el al, Antimicrob Agents Chemother., 2004. 48:2637-2651; Oliveira et al, 2001, Microb. Drug Resist. 7:349-360). En consecuencia, las novedosas secuencias AEDM mejoran los ensayos NAT actuales para el diagnóstico de SARM en cuanto permiten al experto en la materia el diseño de cebadores y sondas para la detección y/o identificación de cepas de SARM con tipos AEDM xi a xx.

Diseño y síntesis de Cebadores y/o Sondas de Oligonucleótidos

Todos los oligonucleótidos, incluyendo las sondas para hibridación y los cebadores para amplificación de ADN, fueron evaluados en cuanto a su adecuación para hibridación o amplificación de RCP por análisis de ordenador utilizando software de ordenador comercialmente disponible, tal como los programas del paquete del Grupo de Genética por Ordenador GGO Wisconsin, y el software de análisis de cebador Oligo® 6 y MFOLD 3.0. La adecuación potencial de las parejas de cebadores RCP fue evaluada también con carácter previo a su síntesis por verificación de la ausencia de características indeseadas como largas extensiones de un nucleótido y una alta proporción de residuos G ó C en el extremo 3’ (Persing et al., 1993, Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications, American Society for Microbiology, Washington, D.C.). Los cebadores de amplificación de nucleótidos fueron sintetizados utilizando un sintetizador automatizado de ADN (Applied Biosystems).

La secuencia de oligonucleótidos de cebadores o sondas puede derivarse de cada hebra del ADN dúplice. Los cebadores o sondas pueden consistir de las bases A, G, C ó T o análogas y pueden degenerar en una o más posiciones dadas de nucleótidos, usando un nucleótido análogo que se empareja con alguno de los cuatro nucleótidos que se dan de forma natural (Nichols et al., 1994, Nature 369:492-493). Los cebadores y las sondas pueden contener también nucleótidos

análogos tales como Ácidos Nucleicos Bloqueados (ANB) (Koskin et al., 1998, Tetrahedron 54:3607-3630), y Ácidos Nucleicos Peptídicos (ANP) (Engholm et al., 1993, Nature 365:566-568). Los cebadores o las sondas pueden ser de cualquier longitud adecuada, y pueden ser seleccionados dondequiera que sea dentro de las secuencias de ADN de fragmentos propietarios, o de secuencias de bases de datos seleccionadas aptas para la detección de SARM con tipos de AEDM xi a xx. En realizaciones preferentes, los cebadores y/o sondas son de al menos 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25 o 30 nucleótidos de longitud.

Las variantes de un gen microbial objeto dado se dan de forma natural y son atribuibles a variaciones secuenciales dentro de dicho gen durante la evolución (Watson et al., 1987, Molecular Biology of the Gene, 4th ed., The Benjamin/Cummings Publishing Company, Menlo Park, CA; Lewin, 1989, Genes IV, John Wiley & Sons, New York, NY). Por ejemplo, diferentes cepas de la misma especie microbial pueden tener una sola o más variación/es nucleótida/s en la zona de hibridación oligonucleótida. El experto en la materia apreciará de inmediato la existencia de variantes de ácidos nucleicos y/o secuencias para un gen específico y que la frecuencia de las variaciones de secuencia depende de la presión selectiva durante la evolución sobre un producto genético dado. La detección de una variante de secuencia para una zona entre dos cebadores RCP puede ser conseguida mediante la secuenciación del producto de amplificación. Por otro lado, se exige, para detectar variaciones secuenciales que se superpongan a una zona de hibridación de cebadores, la amplificación y la subsiguiente secuenciación de un ADN objeto más grande con cebadores CRP fuera de dicha zona de hibridación. Puede ser usada una estrategia similar para detectar variaciones en la zona de hibridación de una sonda. Se contempla la posibilidad de otras variantes de secuencias AEDM, como lo son la variante de cebador y/o secuencias de sonda útiles para amplificación o hibridación de la variante de AEDM, siempre que la divergencia de los ácidos nucleicos y/o las secuencias determinadas o una parte de los mismos no afecte de forma significativa la sensitividad y/o especificidad y/o ubicuidad de los cebadores o sondas de amplificación.

Las secuencias de oligonucleótidos diferentes a las explícitamente descritas aquí y que son apropiadas para la detección y/o identificación de SARM pueden derivarse también de las secuencias novedosas de AEDM divulgadas aquí o de secuencias de bases de datos públicas seleccionadas. Por ejemplo, los cebadores o sondas de oligonucleótidos pueden ser más cortos, pero de una longitud de al menos 10 nucleótidos o más largo que las escogidas; pueden ser también seleccionadas de cualquier lugar entre las secuencias de AEDM divulgadas aquí o en las secuencias seleccionadas de bases de datos públicas. Además, pueden ser diseñadas variantes de los oligonucleótidos divulgados aquí. Si el ADN determinado o una variante del mismo se hibrida a un oligonucleótido dado, o si el ADN determinado o una variante del mismo pueden ser amplificada por una pareja cebadora RCP oligonucleótido dada, la inversa es también cierta; un ADN determinado dado puede hibridar a una variante de sonda oligonucleótida o ser amplificada por una variante de cebador RCP oligonucleótido. Alternativamente, los oligonucleótidos pueden ser diseñados a partir de secuencias AEDM para su uso en procedimientos de amplificación diferentes al RCP. Los cebadores y/o sondas divulgados aquí fueron diseñados mediante la determinación de secuencias genómicas de ADN que se usan como una fuente de sondas de oligonucleótidos y/o cebadores de amplificación, específicos y ubicuos, para AEDM de tipos xi a xx. Cuando un fragmento propietario o una secuencia de base de datos pública se seleccionan por su especificidad y ubicuidad, incrementa la probabilidad de que los subconjuntos de los mismos serán también específicos y ubicuos. Consecuentemente, aunque la selección y evaluación de los oligonucleótidos aptos para fines de diagnóstico exige mucho esfuerzo, es bastante posible para el experto en la materia derivar, de los fragmentos de ADN seleccionados, oligonucleótidos distintos a los listados en las Tablas 9, 10 y 11, que son aptos para fines de diagnóstico.

Los equipos de diagnóstico, cebadores y sondas divulgados aquí pueden ser usados para detectar y/o identificar SARM de AEDM tipos xi a xx, tanto en aplicaciones in vitro como in situ. Por ejemplo, se contempla que los equipos pueden ser usados en combinación con cebadores/sondas previamente descritos que detecten SARM de AEDM tipos i a x. Se contempla también que los equipos de diagnóstico, cebadores y sondas divulgados aquí puedan ser usados solos o en combinación con cualquier otro análisis apto para detectar y/o identificar microorganismos, incluyendo, pero no limitados a: cualquier análisis basado en la detección de ácidos nucleicos, cualquier inmunoanálisis, cualquier análisis enzimático, cualquier análisis bioquímico, cualquier análisis lisotípico, cualquier análisis serológico, cualquier medio de cultivo diferencial, cualquier medio de cultivo de enriquecimiento, cualquier medio de cultivo selectivo, cualquier medio de análisis específico, cualquier medio de cultivo de identificación, cualquier medio de cultivo de enumeración, cualquier mancha celular, cualquier cultivo sobre líneas celulares específicas, y cualquier análisis de infectación sobre animales.

Las muestras pueden incluir pero no se limitan a: cualquier muestra clínica, cualquier muestra medioambiental, cualquier cultivo microbiano, cualquier tejido, y cualquier línea celular.

Ampliación de ADN

En algunas realizaciones, una fase de amplificación y/o de detección sigue a la fase de hibridación. Cualquier tipo de tecnología de amplificación de ácido nucleico puede ser usada en los procedimientos descritos aquí. Ejemplos no exhaustivos de reacciones de amplificación que pueden ser usadas en los procedimientos descritos aquí incluyen, pero no se limitan a : reacción en cadena de la polimerasa (RCP), (vid. PCR PROTOCOLS, A GUIDE TO METHODS AND APPLICATIONS, ed. Innis, Academic Press, N. Y. (1990) y PCR STRATEGIES (1995), ed. Innis, Academic Press, Inc., N. Y. (Innis)), reacción de cadena de ligasa (RCL), (Vid. Wu (1989) Genomics 4:560; Landegren (1988) Science 241:1077; Barringer (1990) Gene 89:117), amplificación basada en secuencia de ácido nucleico (ABSAN), replicación de secuencia auto-sostenida (3SR) (Vid., Guatelli (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:1874), amplificación de desplazamiento de

hebra (ADH), amplificación de señal de ADN ramificado rADN, amplificación mediada por transcripción (AMT) (Vid., Kwoh (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173), tecnología de sonda de ciclos (TSC), RCP anidado, RCP múltiple, amplificación de fase sólida (AFS), amplificación de señal dependiente de nucleasa (ASDN), tecnología de amplificación de círculo rodante (ACR), amplificación de desplazamiento de hebra anclada, amplificación de círculo rodante en fase sólida (inmovilizado), amplificación de replicasa Q Beta y otras técnicas de mediadas de polimerasa de ARN (vgr., NASBA, Cangene, Mississauga, Ontario). Estas y otras técnicas están también descritas en Berger (1987) Methods Enzymol. 152:307-316; Sambrook, Ausubel, Mullis (1987) Patentes estadounidenses números 4.683.195 y 4.683.202; Amheim (1990) C&EN 36-47; Lomell J. Clin. Chem., 35:1826 (1989); Van Brunt, Biotechnology, 8:291-294 (1990); Wu (1989) Gene 4:560; Sooknanan (1995) Biotechnology 13:563-564.

En realizaciones preferidas, se usa el RCP para ampliar los ácidos nucleicos en la muestra. Durante la amplificación de ADN por RCP, se usan dos cebadores oligonucleótidos que se enlazan respectivamente a cada hebra del ADN determinado del genoma microbiano, desnaturalizado por el calor, para ampliar de forma exponencial in vitro el ADN determinado por sucesivos ciclos termales posibilitando la desnaturalización del ADN, hibridando los cebadores y síntesis de nuevas especificaciones en cada ciclo (Persing et al., 1993, Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications, American Society for Microbiology, Washington, D. C.).

Los protocolos de amplificación normalizados pueden ser modificados para mejorar la eficiencia de la amplificación del ácido nucleico, incluyendo modificaciones a la mezcla reactiva. (Chakrabarti y Schutt, 2002, Biotechniques, 32:866-874; Al-Soud y Radstrom, 2002, J. Clin. Microbiol., 38:4463-4470; Al-Soud y Radstrom, 1998, Appl. Environ. Microbiol. 64:3748-3753; Wilson, 1997, Appl. Environ. Microbiol., 63:3741-3751). Tales modificaciones de la mezcla reactiva de amplificación incluyen, pero no se limitan al uso de polimerasas variadas o la adición de facilitadores de amplificación del ácido nucleico tales como betaína, BSA, sulfoxidas, proteína gp32, detergentes, cationes, y cloruro de tetrametilamonio.

Detección de Acidos Nucleicos

La detección de ácidos nucleicos amplificados puede incluir cualesquiera tecnologías en tiempo real o post – ampliación conocidos por los expertos en la materia. Clásicamente, la detección de productos de ampliación RCP se lleva a cabo por electrofóresis normalizada de gel de agarosa coloreado con bromuro de etidio, sin embargo, el experto en la materia apreciará en seguida que pueden ser usados otros procedimientos para la detección de productos específicos de ampliación, que pueden ser más rápidos y más prácticos para el diagnóstico rutinario, tal como los descritos en la solicitud de patente pendiente WO 01/23604 A2. La detección de Amplicon puede ser llevada a cabo también por soporte sólido o hibridación líquida usando sondas de ADN interno de especie específica que se hibridan a un producto de ampliación. Tales sondas pueden ser generadas de cualquiera de las secuencias del repertorio de ácidos nucleicos AEDM divulgados aquí, y diseñadas para hibridar específicamente a la ampliación de ADN. Alternativamente, los amplicons pueden estar caracterizados por su secuenciación. Vid. la patente pendiente, solicitud WO 01/23604 A2 para ejemplos de procedimientos de detección y secuenciación.

Otros ejemplos no limitativos de tecnologías de detección de ácido nucleico que pueden ser usadas en las realizaciones divulgadas aquí incluyen, pero no se limitan, al uso de procedimientos basados en la transferencia de energía de resonancia de fluorescencia (TERF) tales como la hibridación adyacente de sondas (incluyendo los procedimientos sonda – sonda y sonda – cebador) (Vid., J. R. Lakowicz, “Principles of Fluorescence Spectroscopy”, Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, 1999), tecnología de sonda TaqMan (Vid., Patente Europea EP 0543942), tecnología de sonda de baliza molecular (Vid. , Tyagi et al., (1996) Nat. Biotech. 14:303-308.), tecnología de sonda Scorpion (Vid. Thewell (2000), Nucl.Acids Res. 28:3752), tecnología de sonda de nanopartícula (Vid., Elghanian et al., (1997) Science 277:1078-1081) y tecnología de sonda Amplifluor (Vid., Patentes Estadounidenses números 5.866.366; 6.090.592; 6.117.635; y 6.117.986).

En realizaciones preferidas, las balizas moleculares son utilizadas en la detección post – ampliación de los ácidos nucleicos determinados. Las balizas moleculares son oligonucleótidos de una sola hebra que, a menos que estén enlazados a su objetivo, existen con una configuración de horquilla. El extremo 5’ del oligonucleótido contiene un tinte fluorescente. Un tinte amortiguador está adosado al extremo 3’ del oligonucleótido. Cuando la baliza no está enlazada a su objetivo, la estructura de horquilla posiciona el fluoróforo y el amortiguador en una proximidad cercana, de tal manera que no puede ser observada ninguna fluorescencia. Una vez que la baliza se hibrida con su objetivo, sin embargo, la estructura de horquilla se rompe, separándose, en consecuencia, el fluoróforo y el amortiguador y permitiendo la detección de la fluorescencia (Vid., Kramer FR., 1996, Nat Biotechnol 3:303-8). Otros procedimientos de detección incluyen la detección de ácidos nucleicos genéticos específicos por medio de procedimientos inmunológicos, procedimientos de hibridación de fase sólida sobre filtros, microplaquetas o cualquier otro soporte sólido. En estos sistemas, la hibridación puede ser monitorizada por cualquier procedimiento apto conocido por los expertos en la materia, incluyendo fluorescencia, quimiluminiscencia, potentiometría, espectometría masiva, resonancia de plasmón, polarimetría, colorimetría, citometría de flujo o escanometría. La secuenciación nucleótida, incluyendo la secuenciación por terminación de dideóxido o secuenciación por hibridación (por ejemplo, secuenciación utilizando una microplaqueta de ADN) representa otro procedimiento para detectar y caracterizar los ácidos nucleicos de genes determinados.

Ácidos nucleicos AEDM

Los fragmentos de AEDM divulgados aquí fueron obtenidos como un repertorio de secuencias creado por la ampliación

de ácidos nucleicos SARM con cebadores novedosos. Los cebadores de ampliación y secuenciación, el repertorio de secuencias de AEDM, y las secuencias de oligonucleótidos derivadas de ahí, para propósitos de diagnóstico, divulgadas en las Tablas 8-11, son ulteriores objetos de esta invención.

Otros aspectos de la invención se relacionan con los ácidos nucleicos, en particular con las secuencias de ácidos nucleicos de fragmentos de ADN de articulación de extremidad derecha CCEmec (AEDM), incluyendo secuencias de extremidad derecha CCEmec y ADN cromosómico a la derecha de la zona de integración de CCEmec en los tipos SARM xi a xx. Algunas realizaciones se relacionan con las secuencias parentales de tipos AEDM xi a xx de los cuales se derivan cebadores y/o sondas específicos para la cepa AEDM tipo xi a xx. Así, algunas realizaciones se relacionan con la secuencia nucleótida de identificación secuencial números: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 ó 56 o su complemento. Otras realizaciones se relacionan con fragmentos y oligonucleótidos de ADN tales como cebadores y sondas. Por ejemplo, algunas realizaciones se refieren a ácidos nucleicos que comprenden al menos 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700 u 800 nucleótidos consecutivos de los ácidos nucleicos de la identificación secuencial número: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 39, 40, 41, 42, 55 ó 56.

El alcance de esta invención no se limita al uso de la ampliación por RCP, sino que también incluye el uso de cualquier procedimiento de ampliación de ácido nucleico o cualquier otro procedimiento que pueda ser usado para incrementar la sensitividad y/o la rapidez de análisis de diagnóstico basados en el ácido nucleico. El ámbito de la presente invención también incluye el uso de cualquier tecnología de detección y ampliación de ácidos nucleicos que incluya tecnologías de detección en tiempo real o post ampliación, cualquier tecnología de ampliación combinada con detección, cualesquiera microplaquetas ("chips") de hibridación de ácido nucleico o tecnologías de formación, cualesquiera microplaquetas ("chips") de ampliación o combinación de tecnologías de microplaquetas ("chips") de ampliación y de hibridación. La detección e identificación por cualquier procedimiento de secuenciación nucleótida está también bajo el alcance de la presente invención.

Ejemplo 1: Evaluación de Análisis de Ampliación de Diagnóstico de SARM previamente descrito

Inicialmente, la literatura enseñaba que, entre las cepas de SARM, se encontraban cinco tipos de secuencias de extremidad derecha CCE*mec* (CCE*mec* de tipos I-V), basadas en homología de secuencia de ADN (Vid., Ito et al., 1999, *Antimicrob. Agents Chemother*. 43:1449-1458; Katayama et al., 2000, *Antimicrob. Agents Chemother.* 44: 1549-1555; Ito et al., 2001, *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:1323-1336; Ma et al., 2002, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:1147-1152; Ito et al, 2004, *Antimicrob. Agents Chemother.* 48:2637-2651). Los ADNs CCE*mec* se integran en una zona específica del cromosoma de un *Staphylococcus aureus* sensible a la meticilina (SASM), llamado *orfX*. Generalmente, cada tipo de CCE*mec* tiene una única secuencia nucleótida en la extremidad derecha del cassette CCE*mec*. La excepción a esta regla se ve con los CCE*mec* tipos II y IV, que exhiben una secuencia prácticamente idéntica sobre 2000 nucleótidos. Sin embargo, el CCE*mec* tipo II tiene una inserción de 102 nucleótidos hasta el término derecho del CCE*mec* tipo I. Las cepas clasificadas como CCE*mec* tipos I – III se encuentran bajo la categoría de tipos de AEDM tipos i –iii.

Analizamos recientemente las zonas de AEDM de varias cepas SARM. Describimos siete secuencias nuevas en la articulación de la extremidad derecha del CCE*mec* de SARM a las que llamamos AEDM tipos iv, v, vi, vii, viii, ix y x (Huletsky et al., 2004, *J. Clin. Microbiol.* 42: 1875-1884; Solicitud de Patente Internacional PCT/CA02/00824).

Diseñamos un análisis RCP múltiple, específico para SARM, en tiempo real, con cebadores que se dirigen a la parte del CCE*mec* de AEDM tipos i, ii, iii iv, v, vi y vii, con una primer direccionamiento al *S. aureus orfX*. Fueron usadas tres sondas de baliza molecular (SBMs) específicas para la secuencia *orfX* para la detección de todos los polimorfismos secuenciales identificados en esta zona de la secuencia *orfX* (Huletsky et al., 2004, *J. Clin. Microbiol.* 42:1875-1884). Fueron usados en la reacción RCP el oligonucleótido del número de identificación secuencial: 30, que hibrida al *S. aureus orfX* y los oligonucleótidos de los números de identificación secuencial: 36, 70, 71, 72 y 74, que hibridan a la parte del CCE*mec* de AEDM tipos i, ii, iii iv, v, vi y vii. Fueron usados como sondas oligonucleótidos de números de identificación secuencial: 31, 32 y 33, que hibridan al *S. aureus orfX*. La especificidad y ubicuidad (esto es, la aptitud para detectar todas o la mayor parte de las cepas SARM) del análisis RCP fue verificada usando un panel de 569 cepas de referencia y clínicas de *S. aureus* sensible a la meticilina (SASM) y 1657 cepas diferentes de SARM de 32 países diferentes y que incluyen renombrados clones epidémicos.

En la Tabla 1 se presenta una lista de las cepas analizadas y utilizadas para construir los repertorios de ácidos nucleicos AEDM y oligonucleótidos derivados de los mismos divulgados aquí. Los aislados clínicos de *S. aureus* usados en esta invención son parte de la colección del programa SENTRY y las colecciones de diversos suministradores. Estas cepas de referencia o aislados clínicos de *S. aureus* tienen su origen en 32 países: países africanos (=15), Albania (=2), Argentina (n=50), Australia (n=71), Austria (n=2), Bélgica (n=10), Brasil (n=78), Canadá (n=607), Chile (n=42), China (n=70), Dinamarca (n=33), Egipto (n=1), Finlandia (n=12), Francia (n=50), Alemania (n=47), Grecia (n=7), Irlanda (n=5), Israel (n=19), Italia (n=61), Japón (n=62), México (n=1), Países Bajos (n=179), Polonia (n=33), Portugal (n=24), Singapur (n=20), Eslovenia (n=12), España (n=31), Suecia (n=10), Suiza (n=13), Turquía (n=28), Reino Unido (n=22) y Estados Unidos (n=528). La confirmación de la identificación de las cepas estafilocócicas fue llevada a cabo por medio del uso del sistema del Combo 13 *Breakpoint* tipo positivo del Panel *MicroScan WalkAway*® cuando se necesitó (Dade Behring Canada, Inc., Mississauga, Ontario, Canada). Cuando se necesitó, la identidad fue reconfirmada por análisis RCP usando cebadores

específicos de *S. aureus* e cebadores específicos de *mecA* (números de identificación secuencial: 50, 60, 61, 63) (Martineau et al., 2000, *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:231-238). Los datos del análisis se presentan en la Tabla 2.

Entre las 569 cepas SASM analizadas, 26 cepas fueron erróneamente identificadas como SARM, basándose en el análisis RCP. De las 1657 cepas SARM analizadas, 1640 fueron específicamente detectadas con el análisis RCP, mientras que 23 de estas cepas SARM, representando una amplia variedad de orígenes, no fueron detectadas por el análisis. Así, fue verificada la especificidad y ubicuidad (esto es, la aptitud para detectar todas las cepas SARM o la mayoría de las mismas) de este análisis RCP. Se ha demostrado previamente que cuatro de estas 23 cepas SARM, CCRI-9208, CCRI-9770, CCRI-9681, y CCRI-9860, que no fueron detectadas en el análisis *supra*, albergan AEDM de los tipos vi, viii, ix, y x, respectivamente (Solicitud de Patente Internacional PCT/CA02/00824).

Las 19 cepas SARM restantes que no fueron detectadas en el análisis fueron analizadas posteriormente. Fue llevada a cabo la RCP sobre el ADN genómico de cada cepa, usando un cebador orientado a la secuencia en la extremidad derecha CCE*mec* del AEDM de los tipos vi, viii ó ix en combinación con un cebador orientado al *S. aureus orfX*. Específicamente, cada reacción RCP contenía el oligonucleótido del número de identificación secuencial:65, que hibrida al AEDM tipo vi, el oligonucleótido del número de identificación secuencial:75, que hibrida al AEDM tipo viii, el oligonucleótido del número de identificación secuencial:29, que hibrida al AEDM tipo ix, en combinación con el oligonucleótido del número de identificación secuencial:30, que es un cebador específico de *S. aureus*. El AEDM tipo x había mostrado previamente tener una supresión de *orfX* completo y una parte de la extremidad derecha del CCE*mec* tipo II (Solicitud de Patente Internacional PCT/CA02/00824). En consecuencia, el oligonucleótido del número de identificación secuencial:77, que hibrida a *ofr22* en el cromosoma *S. aureus*, y el oligonucleótido del número de identificación secuencial:73, que hibrida al *ofr27* ubicado en el CCE*mec* tipo II fueron usados en una reacción RCP para detectar AEDM tipo x. Dos de las 19 cepas, CCRI-11879 y CCRI-12036 mostraron alojar AEDM tipo ix con estos cebadores RCP. Sin embargo, 17 cepas SARM no fueron detectadas con cebadores orientados a AEDM tipos vi, viii, ix, y x, sugiriendo que estas cepas alojan nuevos tipos AEDM (tablas 2 y 3).

Ejemplo 2: Secuenciación de Tipos Novedosos de AEDM de SARM

Para caracterizar ulteriormente la zona de AEDM de las 17 cepas SARM de las que el ADN no fue amplificado con cebadores que permiten la detección de AEDM tipos i a x, fue determinada la secuencia nucleótida de AEDM para 15 de estas 17 cepas SARM. En primer lugar, fueron usados conjuntamente un cebador que hibrida a *mecA* (número de identificación secuencial: 50) y un cebador que hibrida el extremo 5' de *orfX* (número de identificación secuencial: 44) en una reacción RCP para amplificar fragmentos AEDM de SARM. La estrategia usada para seleccionar estos cebadores se ilustra en la Figura 1. Fueron llevadas a cabo cuatro reacciones RCP idénticas, cada una de ellas conteniendo 100 ng de ADN genómico purificado. Cada reacción RCP contenía amortiguador de polimerasa de ADN IX HERCULASA® (Stratagene, La Jolla, CA), 0.8 µM de cada uno de los oligonucleótidos de números de identificación secuencial: 44 y 50, 0.56 mM de cada uno de los cuatro dNTPs y 5 unidades de polimerasa de ADN HERCULASA® (Stratagene, La Jolla, CA) con 1 mM $MgCl_2$ en un volumen final de 50 µl. Las reacciones de RCP fueron sometidas a ciclaje usando un ciclador térmico normalizado (PTC-200 de MJ Research Inc.), tal como sigue: 2 minutos a 92º C seguidos de 35 ó 40 ciclos de 10 segundos a 92º C para la fase de desnaturalización, 30 segundos a 55º C para la fase de hibridación y 15 minutos a 68º C para la fase de extensión.

Las cuatro reacciones RCP fueron utilizadas de forma conjunta. 10 µL de la reacción RCP fueron redisueltos por electrofóresis en un gel de agarosa al 0.7 % que contenía 0.25 µg/mL de bromuro de etidio. Los amplicones fueron visualizados entonces con un dispositivo Alpha-Imager (Alpha Innotech Corporation, San Leandro, CA) mediante la exposición a radiación ultravioleta a 254 nm. La mezcla amplificada por RCP restante (150-200 µl, en total) fue redisuelta también por electrofóresis en un gel de agarosa 0.7 % y visualizada por tintura con azul de metileno (Flores et al., 1992, *Biotechniques*, 13:203-205).

De las 15 cepas analizadas, las ocho siguientes produjeron resultados de amplificación en el intervalo de 12-20 kb de longitud con números de identificación secuencial: 44 y 50 como cebadores: CCRI-11976, CCRI-11999, CCRI-12157, CCRI-12198, CCRI-12199, CCRI-12719, CCRI-9887, CCRI-9772. Los productos de amplificación fueron extraídos del gel de agarosa y purificados usando el equipo de extracción de gel QIAquick® (QIAGEN Inc., Valencia, CA). Los fragmentos de ADN purificados de gel fueron usados directamente en reacciones de secuenciación. Ambas cepas de los productos de amplificación AEDM fueron secuenciados por el procedimiento de secuenciación de terminación de la cadena de dideoxinucleótido usando un secuenciador de ADN automatizado de la empresa Applied Biosytems (modelo 377 ó 3730xl) con su equipo de reacción preparado para secuenciación de ciclo terminador Big Dye® (Applied Biosystems, Foster City, CA). Fueron usados 425-495 ng de los amplicones purificados de gel en reacciones de secuenciación con número de identificación secuencial: 44, que fue usado para la reacción de amplificación. Basándose en la información secuencial generada de las reacciones con número de identificación secuencial: 44, los cebadores de secuenciación interna fueron diseñados y usados para obtener datos secuenciales de ambas cepas para una parte más grande de cada preparación de amplicón. Específicamente, los oligonucleótidos de números de identificación secuencial:43 y 45 fueron usados para secuenciar las cepas SARM CCRI-11976 y CCRI-11999; los números de identificación secuencial:43, 45 y 51 fueron usados para secuenciar cepas SARM CCRI-12157, CCRI-12198, y CCRI-12199; los números de identificación secuencial 43, 45 y 52 fueron usados para secuenciar cepa SARM CCRI-12719; el número de identificación secuencial:24 fue usado para secuenciar la cepa SARM CCRI-9887, y los números de identificación secuencial: 4, 45 y 57 fueron usados

para secuenciar la cepa SARM CCRI-9772 (Figura 1, Tablas 9 y 11). Las secuencias de las 8 cepas descritas en la Tabla 3 se presentan como números de identificación secuencial: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 55 y 56 (tabla 8).

Para asegurarse de que la secuencia determinada no contenía errores atribuibles a la secuenciación de artefactos de RCP, fueron secuenciadas, como se describe *supra*, dos preparaciones independientes de los productos de amplificación AEDM purificados de gel, originados de dos amplificaciones independientes RCP. Para fragmentos más específicos, las secuencias determinadas para ambas preparaciones de amplicón fueron idénticas. Adicionalmente, las secuencias de ambas cepas fueron complementarias al 100 %, confirmando en consecuencia la alta exactitud de la secuencia determinada. Las secuencias AEDM determinadas usando la estrategia *supra*, se describen en el Listado de Secuencias y en la Tabla 8.

Una serie diferente de cebadores oligonucleótidos (descritos en Oliviera et al.) fue usada para analizar ulteriormente las 17 cepas SARM que no produjeron productos de amplificación con cebadores para la detección de AEDM tipos i-vii (Oliveira y de Lencastre. 2002, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:2155-2161). Dos cepas (CCRI-12382 y CCRI-12383), alojaban CCE*mec* tipo III y contenían secuencias específicas del complejo Ψ*ccr*. Otra cepa, (CCRI-12845), aloja CCE*mec* tipo II.

Para determinar las secuencias AEDM de las cepas CCRI-12382 y CCRI-12383, se usó un cebador orientado a la secuencia compleja Ψ*ccr* ubicada en el CCE*mec* tipo III (número identificación secuencial: 27) en combinación con un cebador orientado al 5' extremo de *orfX* (número identificación secuencial: 44) para amplificar fragmentos AEDM de estas dos cepas SARM (Tabla 10 y Figura 1). Fueron llevadas a cabo cuatro reacciones RCP idénticas, cada una de ellas conteniendo 100 ng de ADN genómico purificado. Cada reacción RCP contenía amortiguador de polimerasa de ADN 1X HERCULASA® (Stratagene, La Jolla, CA), 0.8 µM de cada uno de los dos cebadores (números de identificación secuencial: 27 a 44), 0.56 mM de cada uno de los cuatro dNTPs y 5 unidades de polimerasa de ADN HERCULASA® (Stratagene, La Jolla, CA) con 1 mM $MgCl_2$ en un volumen final de 50 µl. Las reacciones RCP fueron cicladas utilizando un ciclador térmico normalizado (PTC-200, de MJ Research Inc., Watertown, MA), tal como sigue: 2 minutos a 92º C seguidos por 35 ciclos de 10 segundos a 92º C durante la etapa de desnaturalización, 30 segundos a 55º C durante la etapa de hibridación y 15 minutos a 68º C durante la etapa de extensión.

Las reacciones RCP fueron utilizadas de forma conjunta y 10 µl de la mezcla amplificada por RCP fueron re - disueltos por electrofóresis en un 0.7 % de gel de agarosa conteniendo 0.25 µg/ml de bromuro de etidio. Los amplicones fueron visualizados entonces con un dispositivo Alpha-Imager (Alpha Innotech Corporation, San Leandro, CA) mediante la exposición a radiación ultravioleta a 254 nm. La mezcla amplificada por RCP restante (150-200 µl, en total) fue re - disuelta también por electrofóresis en un gel de agarosa 0.7 % y visualizada por tintura con azul de metileno como se describió *supra*. Para estas dos cepas SARM, se obtuvo un producto de amplificación de 8 kb. Los productos de amplificación de RCP fueron extirpados del gel de agarosa y purificados como se describe *supra*. El RCP fue usado entonces directamente en el protocolo de secuenciación tal como se describió *supra*. El fragmento de ADN purificado de gel fue usado entonces en el protocolo de secuenciación descrito *supra*. Las reacciones de secuenciación fueron llevadas a cabo con el uso del número de identificación secuencial: 44 (también usado en la reacción de amplificación) y 425-495 mg de los amplicones purificados de gel para cada reacción. Subsiguientemente, fueron usados diferentes conjuntos de cebadores de secuenciación interna para obtener datos secuenciales de ambas cepas y para una parte mayor del amplicón (números de identificación secuencial: 28, 30 y 43) (Figura 1, Tablas 9 y 11). La secuencia de las cepas SARM CCRI-12382 y CCRI-12383 descritas en la Tabla 3 que fueron secuenciadas utilizando esta estrategia son designadas números de identificación secuencial: 25 y 26, respectivamente (Tabla 8).

Para secuenciar el fragmento AEDM de cepa CCRI-12845 (CCE*mec* tipo II) fue llevada a cabo amplificación RCP utilizando el oligonucleótido de número de identificación secuencial:44, que hibrida el extremo 5' de *orfX* en combinación con el oligonucleótido de número de identificación secuencial: 53, que hibrida la extremidad derecha CCE*mec* del AEDM tipo ii. Fue transferido 1 µl de una preparación de ADN genómico purificado directamente al interior de 4 tubos que contenían 39 µl de una mezcla reactiva RCP. Cada reacción RCP contenía 50 mM KC1, 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 0.1 % Triton X-100, 2.5 mM $MgCl_2$, 0,4 µM de cada uno de los nucleótidos de número de identificación secuencial: 44 y 53, 200 µM de cada uno de los cuatro dNTPs, 3.3 µg/ µl de BSA (Sigma-Aldrich Canada Ltd.) y 0.5 unidades de polimerasa de ADN *Taq* (Promega, Madison, WI) emparejada con anticuerpo *Taq*Start® (BD Biosciences, San Jose, CA). Las reacciones RCP fueron llevadas a cabo usando un termociclador normalizado (PTC-200, de MJ Research Inc., Watertown, MA), tal como sigue: 3 minutos a 94º C seguidos por 40 ciclos de 5 segundos a 95º C para la etapa de desnaturalización, 1 minuto a 58º C para la etapa de hibridación y 1 minuto a 72º C para la etapa de extensión. Un producto de amplificación de 4.5 kb se obtuvo con esta primera serie.

Los productos de amplificación fueron puestos de forma conjunta y10 µl de la mezcla fueron re-disueltos por electrofóresis en un gel de agarosa al 1.2 % que contenía 0.25 µg/ml de bromuro de etidio. Los amplicones fueron visualizados entonces con el dispositivo Alpha-Imager. El tamaño del amplicón fue estimado por comparación con un 1 kb de peso molecular de escala (Life Technologies, Bethesda, MD). La mezcla amplificada de RCP restante (150 µl, total) fue también re – disuelta por electrofóresis en 1.2 % de gel de agarosa y visualizada por tintura con azul de metileno tal y como se describió *supra*. La reacción RCP produjo 1.2 kb de producto de amplificación. La parte correspondiente a este producto específico de amplificación fue separada del gel de agarosa y purificada como se describió *supra*. El fragmento de ADN purificado de gel fue usado entonces directamente en el protocolo de secuenciación tal y como se describió *supra*. Las reacciones de

secuenciación fueron llevadas a cabo usando los oligonucleótidos de números de identificación secuencial: 44 y 53 además de un cebador interno (número identificación secuencial: 54) y 10 ng/100 bp por reacción de los amplicones purificados de gel (Figura 1, Tabla 10). La secuencia AEDM de la cepa CCRI-12845 es designada como número de identificación secuencial:21 (Tabla 8).

Para determinar las secuencias de AEDM de las cuatro últimas cepas SARM (CCRI-12524, CCRI-12535, CCRI-12810 y CCRI-12905), el oligonucleótido de número de identificación secuencial:44 fue usado en combinación con cada uno de los cuatro cebadores ACP de "ADN caminante" (ACP-AC) del equipo de secuenciación DNA WALKING SPEED UP® (Seegene, Del Mar, CA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante sobre un termociclador PTC-200. El sistema de cebador ACP-AC (Tecnología DW ACP-PCR®) le permite a uno obtener hasta 2 kb de producto genuino de orientación desconocida. Un primer producto de amplificación obtenido con un de los cebadores ACP-AC fue purificado usando el equipo de purificación RCP QIAQUIK® (QIAGEN Inc., Valencia, CA). El producto RCP purificado fue re – amplificado usando el cebador ACP-AC-N en combinación con el oligonucleótido de número de identificación secuencial:30 que hibrida al *orfX* bajo condiciones RCP recomendadas por el fabricante. Las mezclas de RCP amplificado de 4 diferentes reacciones de 50-µL RCP fueron puestas de forma conjunta y re – disueltas por electrofóresis en un gel de agarosa al 1.2 %. Los amplicones fueron visualizados entonces por tintura con azul de metileno como se describió *supra*. El tamaño del amplicón fue estimado por comparación con un 1 kb de peso molecular de escala. Se obtuvo un producto de amplificación de 1.5 a 3 kb. El producto de amplificación fue extraído del gel de agarosa y purificado como se describió *supra* y el ADN fue usado entonces directamente en el protocolo de secuenciación según se describió *supra*. En las reacciones de secuenciación usando los oligonucleótidos de número de identificación secuencial: 30 y ACP-AC-N fueron usados 10 ng de ADN purificado por cada 100 bp del amplicón. Las secuencias AEDM de cepas SARM CCRI-12524, CCRI-12535, CCRI-12810, y CCRI-12905 (descritas en la Tabla 3) son designadas con números de identificación secuencial: 39, 40, 41 y 42 (Tabla 8).

Las cepas CCRI-12376 y CCRI-12593 descritas en la Tabla 3 no fueron secuenciadas sino caracterizadas usando cebadores RCP y se mostró que contenían AEDM tipo xiii usando cebadores de amplificación específicos.

Ejemplo 3: Análisis Secuencial de Tipos Novedosos xi - xx de AEDM

Las secuencias obtenidas para 15 de las 17 cepas no amplificables por los cebadores específicos de SARM que detectan los tipos de AEDM i a x previamente descritos fueron comparadas con las secuencias disponibles de bases de datos públicas. En todos los casos, excepto en la cepa SARM CCRI-12845, la parte de *orfX* de la secuencia AEDM tenía una identidad cercana al 100 % a las secuencias disponibles públicamente del *orfX*. CCRI-12845 tiene una deleción en *orfX* (número de identificación secuencial: 21) (descrita *infra*). Mientras que la parte *orfX* de la mayoría de los fragmentos de AEDM (números de identificación secuencial: 15-20, 25-26, 39-42, 55-56) compartían casi el 100 % de identidad con las secuencias de *S. aureus orfX* públicamente disponibles, con la excepción de la cepa CCRI-12845, la secuencia de ADN en la extremidad derecha del propio CCE*mec* mostró ser diferente de los de los tipos de AEDM i, ii, iii, iv, v, vi, vii, viii, ix y x (Solicitud de Patente Internacional PCT/CA02/00824; patente estadounidense 6.156.507). La secuencia de ADN en la extremidad derecha del CCE*mec* de CCRI-12845 fue similar a la del tipo ii de AEDM (vid. *Infra*). Así, se informa aquí de diez tipos secuenciales novedosos de AEDM: tipos xi a xx de AEDM.

Las secuencias en la extremidad derecha de CCE*mec* obtenidas de las cepas CCRI-12157, CCRI-12198, y CCRI-12199 (números de identificación secuencial: 17, 18 y 19) fueron casi idénticas entre sí, y diferentes de aquellas de los tipos de AEDM i, ii, iii, iv, v, vi, vii, viii, ix y x (Ito el al., 2001, *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:1323-1336; Ma et al., 2002, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:1147-1152, Huletsky et al., 2004, *J. Clin. Microbiol.* 42:1875-1884, Solicitud de Patente Internacional PCT/CA02/00824, Patente estadounidense 6.156.507). Estas nuevas secuencias fueron designadas como AEDM tipo xi (números de identificación secuencial: 17-19). Una búsqueda BLAST® reveló que las primeras 86 bp de la parte CCE*mec* del tipo xi de AEDM exhibió un 87 % de identidad con una secuencia desconocida de *Staphylococcus epidermis* de cepa SR1 (número de accesión de *GenBank* AF270046). El resto de la secuencia de AEDM mostró ser única, sin exhibir una homología significativa con ninguna secuencia publicada.

La secuencia obtenida en la extremidad derecha del CCE*mec* de la cepa CCRI-12719 (número de identificación secuencial: 20) era diferente de los tipos i a x de AEDM, además del AEDM tipo xi. El nuevo tipo AEDM fue designado como AEDM tipo xii. Al compararla con las secuencias GenBank usando BLAST®, la secuencia en la extremidad derecha de CCE*mec* del tipo xii AEDM exhibió un 100 % de identidad con la secuencia encontrada en la extremidad derecha del CCE*mec* tipo V recientemente descrita (Ito et al., 2004, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 48:2637-2651; número de accesión de *GenBank* AB121219). La secuencia también exhibió un 85 % de identidad con una zona 212-nucleótida de la secuencia proteínica vinculante de GTP putativa RP62a de *Staphylococcus epidermis*.

Las secuencias en la extremidad derecha del CCE*mec* obtenido de las cepas CCRI-11976, CCRI-12382, y CCRI-12383 (números de identificación secuencial: 15, 25, y 26) fueron en un 100 % idénticas entre sí, diferentes de los tipos i a x de AEDM además de los tipos xi y xii de AEDM. Las nuevas secuencias AEDM fueron designadas como AEDM tipo xiii (números de identificación secuencial: 15, 25, y 26).

La secuencia dentro de la extremidad derecha del CCE*mec* obtenido de la cepa CCRI-11999 (número de identificación secuencial:16) fue algo diferente de los tipos i a x de ADEM al igual que de los tipos xi, xii y xiii de AEDM, y, en

consecuencia, fue designado como AEDM tipo xiv. Una búsqueda BLAST® de las secuencias tipos xiii y xiv de AEDM mostró que una parte del CCE*mec* de estos dos tipos de AEDM fue idéntico al del tipo ix AEDM. Ciertamente, las partes de CCE*mec* de los tipos ix y xiv de AEDM fueron precedidas por una y por dos inserciones de 102 bp consecutivas, respectivamente, cuando se las comparó con el tipo xiii de AEDM. El resto de las secuencias tipos ix, xiii, y xiv de AEDM fueron en un 99.9 % idénticas entre sí. Estas secuencias exhibieron identidades en el intervalo del 97 % al 100 % (para los resultados más elevados de BLAST) con las zonas no contiguas (en tamaños que varían de 1535 a 1880 nucleótidos) del cassete SCC sin un *mecA* que aloje los genes de recombinasa cromosómica de la cepa susceptible a la meticilina *S. epidermidis* ATCC 12228 (Accesión número BK001539 de *GenBank*). La secuencia de la inserción de 102-pb fue idéntica en 99-100 % a la encontrada en el tipo ii AEDM.

La secuencia obtenida dentro de la extremidad derecha del CCE*mec* de la cepa CCRI-9887 fue diferente de los tipos i a x de AEDM además de los tipos xi a xiv de AEDM y, en consecuencia, fue designada como AEDM tipo xv (número de identificación secuencial: 56). Una búsqueda BLAST de la secuencia obtenida dentro de la parte CCE*mec* del tipo xv de AEDM reveló que este fragmento de ADN exhibió identidades en el intervalo del 92 % al 96 % (para los resultados más altos del BLAST), con secuencias no contiguas (en tamaños que varían de 342 a 618 nucleótidos) del cassette SCC (que no contiene *mecA*) de la cepa *S. aureus* susceptible a meticilina M (Accesión número U10927 al *GenBank*). Aunque la secuencia del tipo xv de AEDM ha sido descrita, la localización de esta secuencia más debajo de *orfX* en una cepa SARM no ha sido descrita hasta este momento. La secuencia de AEDM CCRI-9887 también exhibió un 94 % de identidad con una zona 306-nucleótida de la cepa *Staphylococcus Haemolyticus* JCSC1435 ubicada cerca de la secuencia *orfX*.

La secuencia obtenida para AEDM de la cepa CCRI-12845 (número de identificación secuencial: 21) reveló que el fragmento AEDM de esta cepa tiene una deleción de nucleótidos 165 a 434 de *orfX* (fragmento 269-bp), mientras que la secuencia en la extremidad derecha de CCE*mec* (328 nucleótidos) tenía identidades en el intervalo de 99.8 al 100 % con las del tipo ii de AEDM disponible en bases de datos públicas. Aunque la secuencia AEDM obtenida de esta cepa exhibió un alto nivel de identidad con secuencias AEDM conocidas, la presencia de una deleción 269-bp en *orfX* nunca había sido descrita hasta la fecha. Como uno de los oligonucleótidos usados en el análisis de amplificación RCP inicial descrita *supra* cae dentro de esta deleción 269 bp, la deleción en *orfX* explica por qué esta cepa SARM no fue o no pudo haber sido detectada con cebadores y sondas previamente descritos para detectar SARM (Patente Estadounidense 6.156.507 y Solicitud de Patente Internacional PCT/CA02/00824). La secuencia novedosa AEDM de esta cepa fue designada como tipo xvi AEDM.

La secuencia obtenida en la extremidad derecha de CCE*mec* de la cepa CCRI-9772 era diferente de los tipos i a x de AEDM además de los tipos xi a xvi AEDM. El nuevo tipo AEDM fue designado como AEDM de tipo xvii (número de identificación secuencial:55). Una búsqueda BLAST® en la base de datos GeneBank reveló que la parte de CCE*mec* de la secuencia tipo xvii AEDM exhibió una identidad del 100 % con la secuencia a la izquierda de la articulación CCE*mec* de la cepa *S. aureus* CA05 (JCSC 1968) (número de accesión a GenBank AB063172) alojando CCE*mec* tipo IV (Ma et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:1147-1152). La organización genética del tipo xvii AEDM es similar a la de la zona hacia debajo de *orfx* en MSSA. Aunque la secuencia en sí misma ha sido descrita *supra*, la ubicación de esta secuencia más hacia debajo de *orfX* en una cepa SARM nunca había sido descrita hasta la fecha.

Las secuencias obtenidas de la extremidad derecha de CCE*mec* de las cepas CCRI-12524 y CCRI-12535 fueron casi idénticas entre sí pero fueron diferentes de los tipos i a x AEDM además de los tipos xi a xvii AEDM y fueron designadas, en consecuencia, como AEDM tipo xviii (números de identificación secuencial:39 y 40). Una búsqueda BLAST en las secuencias de GenBank reveló una identidad del 100 % con una zona 487-nucleótida del cassette CCE*mec* de *Staphylococcus haemolyticus* JCSC 1435. El resto de la secuencia mostró ser única, sin exhibir una homología significativa con ninguna otra secuencia publicada.

La secuencia obtenida de la cepa CCRI-12810 fue diferente de la de los tipos i a x AEDM además de los tipos xi a xviii y fue designada como AEDM tipo xix (número de identificación secuencial:41). Al ser comparada con secuencias GenBank usando BLAST, la parte CCE*mec* de la secuencia tipo xix AEDM exhibió un 100 % de identidad con una zona 597-nucleótida de función desconocida de cepa ATCC 25923 que se ubica a la izquierda de CCE*mec* (número de accesión a GenBank AB047239). Este resultado ha sido observado con cuatro otras cepas SARM para las que han sido publicadas secuencias CCE*mec*: SARM252, 85/3907, 85/2082, y MR108 (números de accesión a GenBank: BX571856, AB047088, AB037671 y AB096217, respectivamente). La organización genética del tipo xix AEDM es similar a la de la región hacia debajo de *orfx* en MSSA. Aunque la secuencia ha sido descrita en sí misma, la presencia de este fragmento de ADN por debajo de *orfx* nunca había sido descrita hasta la fecha.

La secuencia obtenida en la extremidad derecha del CCE*mec* de la cepa CCRI-12905 fue diferente de los tipos i a x al igual que de los tipos xi a xix de AEDM, y, en consecuencia, fue designado como AEDM tipo xx (número de identificación secuencial:42). Comparado con las secuencias de *GenBank*, usando BLAST, el CCE*mec* de la secuencia tipo xx de AEDM exhibió unas identidades de 100 % y 99 % con dos secuencias no contiguas (de longitud de 727 y 307 nucleótidos, respectivamente) por debajo del *orfx* de la cepa NCTC 8325 *S. aureus* sensible a la meticilina (accesión a *GenBank* número AB14440). La organización genética de AEDM tipo xx es similar a la zona por debajo de *orfx* en MSSA. La localización de esta secuencia por debajo de *orfx* en una cepa SARM nunca había sido descrita hasta la fecha. Se encontraron niveles de identidad en el intervalo de 98 % al 100 % con fragmentos no contiguos (en tamaños que varían de 91 a 727 nucleótidos) con 11 cepas SARM para las cuales se han publicado las secuencias CCE*mec* : N315, NCTC

10442, COL, USA300, Mu50, 2314, 85/2235, JCSC 1978, PL72, HDE 288, AB014427, AB063173, AF411936, AF411935, respectivamente). Estos fragmentos idénticos se ubican por debajo del gen *mecA* hacia (o, incluso, por debajo) del punto de inserción izquierdo de CCE*mec*.

Ejemplo 4: Comparación secuencial de nuevos tipos xi a xx AEDM

Las secuencias de la primera parte de 500 nucleótidos de la extremidad derecha CCE*mec* de todos los tipos nuevos de AEDM (xi a xx) fueron comparadas entre sí y con las de los tipos i a ix de AEDM descritos *supra*, utilizando los programas de *software* de la casa GCG llamados Pileup y Gap (GCG, Wisconsin). La Tabla 12 muestra las identidades en el nivel nucleótido entre las extremidades derechas CCE*mec* de los 10 tipos novedosos (xi a xx) con los de los tipos de AEDM previamente descritos (i a ix) usando el programa Gap, de la casa GCG. El tipo x de AEDM fue excluido de esta comparación en cuanto esta secuencia de AEDM está borrada del *orfx* completo y del lugar de integración CCE*mec* además de – 4 kb en la extremidad derecha del CCE*mec* comparado con la extremidad derecha del CCE*mec* tipo II. Laextremidad derecha del CCE*mec* de los tipos ix, xiii y xiv de AEDM difería solamente en una y dos inserciones 102-bp presentes en los tipos ix y xiv AEDM, respectivamente. Sin embargo, el resto de estas tres secuencias mostraron una identidad de casi el 100 % (Figura 3). Aunque la parte de CCE*mec* del tipo xiv AEDM es casi idéntica en un 100 % con la del AEDM tipo ii, la deleción de nucleótidos 165 a 434 de *orfx* en el tipo xvi AEDM nunca había sido descrita previamente. Las extremidades derechas CCE*mec* de todos los nuevos tipos de AEDM mostraron identidades en el intervalo de 38.2 a 59.5 % entre sí o con los tipos i a ix de AEDM. La variación sustancial entre las secuencias novedosas de AEDM y las secuencias descritas *supra*, en las cuales se basaban los análisis de detección previos, explica por qué las extremidades derechas de los tipos novedosos xi a xx de AEDM divulgados en la presente invención no podrían haber sido predichos ni detectados con cebadores de AEDM previamente descritos (patente estadounidense 6.156.507; Solicitud de Patente Internacional PCT/CA02/00824; Ito et al., 2001, *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:1323-1336; Huletsky et al., 2004, *J. Clin. Microbiol.* 42:1875-1884; Ma et al., 2002, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:1147-1152; Ito et al, *Antimicrob Agents Chemother.* 2004. 48:2637-2651; Oliveira et al, 2001, *Microb. Drug Resist.* 7:349-360).

Ejemplo 5: Selección de cebadores de Amplificación de las secuencias de CCE*mec*/*orfx* de SARM con tipos xi a xx AEDM

Al analizarse los datos secuenciales de los 10 nuevos tipos xi a xx de AEDM descritos *supra*, fueron designados los cebadores específicos a cada nueva secuencia de tipo AEDM (Figura 2, Tablas 9 y 11). Los cebadores específicos al tipo xi AEDM (número de identificación secuencial: 34), AEDM tipo xii (número de identificación secuencial: 35), AEDM tipos xiii y xiv (número de identificación secuencial: 29) (también se descubrió tipo ix de AEDM pero cada uno de los tipos xi, xiii, y xiv de AEDM tiene una longitud de amplicón diferente), AEDM tipo xv (número de identificación secuencial: 24), AEDM tipo xvii (número de identificación secuencial: 4), AEDM tipo xviii (número de identificación secuencial: 7), AEDM tipo xix (número de identificación secuencial: 9), AEDM tipo xx (número de identificación secuencial: 8), fueron cada uno de ellos utilizados en combinación con un cebador específico al *S. aureus orfX* (número de identificación secuencial: 30) y analizados contra su objeto AEDM específico. Para la detección del tipo xvi de AEDM, se usó un cebador cuyo objeto eran los tipos i, ii y xvi de AEDM (Tabla 10) en combinación con un cebador cuyo objeto era el *S. aureus orfX* (número de identificación secuencial: 44). Los tipos i, ii y xvi de AEDM puede ser distinguidos entre sí por su diferente longitud de amplicón.

Los cebadores oligonucleótidos de los que se descubrió que amplificaban específicamente el ADN de los tipos específicos objeto AEDM SARM fueron subsiguientemente analizados sobre su ubicuidad por amplificación RCP (esto es, los cebadores ubicuos amplificaron eficientemente la mayoría o todos los aislados de SARM del tipo AEDM objeto). La especificidad y ubicuidad de los análisis RCP fueron analizados o bien directamente con cultivos bacterianos o con ADN genómico bacteriano purificado. La especificidad de los cebadores que se orientan a los tipos xi a xx de AEDM fue verificada también por el análisis de ADN de las cepas SARM que contienen todos los otros tipos de AEDM.

Fue amplificado 1 µl de una suspensión bacteriana normalizada tratada o de una preparación de ADN genómico purificado de bacterias en 20 µl de una mezcla reactiva RCP. Cada reacción RCP contenía 50 mM KC1, 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 0.1 % de Tritón X-100, 2.5 mM $MgCl_2$, 0.4 µM de cada uno de los cebadores del tipo xi AEDM (número de identificación secuencial: 34), cebador del tipo xii AEDM (número de identificación secuencial: 35), cebador de tipos xiii y xiv AEDM (número de identificación secuencial: 29), cebador de tipo xv AEDM (número de identificación secuencial: 24), tipo xvi AEDM (número de identificación secuencial: 36), cebador de tipo xvii AEDM (número de identificación secuencial: 4), cebador de tipo xviii AEDM (número de identificación secuencial: 7), cebador de tipo xix AEDM (número de identificación secuencial: 9), o cebador de tipo xx AEDM (número de identificación secuencial: 8), cada uno de los cuales fueron usados en combinación con 0.4 µM de un cebador específico de *S. aureus* (número de identificación secuencial: 30 ó número de identificación secuencial: 44 para el tipo xvi de AEDM), 200 µM de cada uno de los cuatro dNTPs (Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ), 3.3 µg/µl de BSA (SIGMA, St. Louis, MO), y 0.5 U *Taq* de polimerasa (Promega, Madison, WI) emparejado con Anticuerpo *Taq*Start® (BD Biosciences, San José, CA).

Las reacciones RCP fueron sujetas entonces a ciclado térmico: 3 minutos a 94º C seguidos por 40 ciclos de 60 segundos a 95º C durante la etapa de desnaturalización, 60 segundos a 55º C durante la etapa de hibridación, y 60 segundos a 72º C durante la etapa de extensión, seguida entonces por una extensión final de de 7 minutos a 72º C usando un

termociclador normalizado (PTC-200 de MJ Research, Inc., Watertown, MA). La detección de los productos RCP fue realizada por electrofóresis en geles de azarosa (1.2 %) conteniendo 0.25 µg/ml de bromuro de etidio.

Cada una de las cepas SARM que contienen un objeto AEDM específico fue detectada, de forma específica, con sus cebadores AEDM específicos y no hubo detección cruzada con tipos AEDM que no constituían objetivo.

Esta invención ha sido descrita *supra*, y resulta evidente que pueden hacerse modificaciones a la misma sin salir del espíritu de esta invención. Estas modificaciones están bajo el ámbito de esta invención, como se define en las reivindicaciones que se adjuntan.

Tabla 1. Cepas *Staphylococcus aureus* **de referencia utilizadas en la presente invención [a]**

Número de cepa	Número de cepa	Número de cepa
Colecciones (designación de tipo)		
ATCC 6538[b]	BM10827 (C)	54511 (Turku 1 E6)
ATCC 13301[b]	3717 (SARME-GR1b)	54518 (Turku II E7)
ATCC 23235 [b]	97S97 (clon epidémico belga 1a)	61974 (Helsinki I E1)
ATCC 25923[b]	359/96 (SARME epidémico de Berlín IVc)	62176 (Kotka E10)
ATCC 27660[b]	792/96 (SARME epidémico de Berlín IVd)	62305 (mecA- Tampere I E12)
ATCC 29737[b]	844/96 (SARME epidémico de Berlín IVb)	62396 (Helsinki II E2)
ATCC 29213[b]	1966/97 (SARME de la zona de Hannover IIIc)	75541 (Tampere II E13)
ATCC 29247[b]	2594-2/97(SARME del Norte Alemán IIb)	75916 (Helsinki V E5)
ATCC 33591	131/98 (SARME del Sur Alemán II d2)	76167 (Kemi E17)
ATCC 33592	406/98 (SARME del Norte Alemán I c1)	98442 (Helsinki VI E19)
ATCC 33593	408/98 (SARME del Norte Alemán I c2)	98514 (Helsinki VII E20)
ATCC 43300	872/98 (SARME de la zona de Hannover IIIb)	98541 (Lohja E24)
ATCC BAA-38 (Arcaica)[c]	1155-1/98 (SARME del Sur Alemán II c)	M307 (SARME-3)
ATCC BAA-39 (Húngara)[o]	1163/98 (SARME del Sur Alemán II d1)	90/10685 (SARME-15)
ATCC BAA-40 (Portuguesa)[c]	1869/98 (SARME del Norte Alemán I d)	98/14719 (SARME-15/b4)
ATCC BAA-41 (Nueva York)[c]	HS 2 (I)	96/32010 (SARME–16)
ATCC BAA-42 (Pediátrico)[c]	AO 17934/97 (II)	99/579 (SARME-16/a3)
ATCC BAA-43 (Brasileña)[c]	98/10618 (SARME-15/b2)	5 (E1)
ATCC BAA-44 (Ibérica)[c]	98/26821 (SARME-15/b3)	3680(SARME-GR1)
CCUG 41787 (Sa 501 V)[c]	98/24344 (SARME-15/b7)	3713(SARME-GR1a)
CCUG 38266 (II)[c]	99/1139 (SARME-16/a2)	98S46 (clon epidémico belga 3b)
NCTC 8325[b]	99/159 (SARME-16/a4)	97S96 (clon epidémico belga 1a)
NCTC 11939 (SARME-1)[e]	6 (D)	97S98 (clon epidémico belga 1b)
	13 (A')	97S99 (clon epidémico belga 2a)
SARM epidémico canadiense (designación de tipo)[d]	14 (A')	97S100 (clon epidémico belga 2b)
SARMC-1	18 (A)	97S101 (clon epidémico belga 3a)
SARMC-2	25 (F')	134/93 (SARME del Norte Alemán I)
SARMC-3	30 (G)	1000/93 (SARME de la zona de Hannover III)
SARMC-4	33 (F)	1450/94 (SARME del Norte Alemán 1a)
SARMC-5	54 (B)	825/96 (SARME epidémico de Berlín IV)

SARMC-6	60 (A")	842/96 (SARME epidémico de Berlín IVa)
	80 (E)	2594-1/97 (SARME del Sur Alemán II a)
Colección HARMONY de designación de SARM epidémico europeo	98 (C)	1155-2/98 (SARME del Sur Alemán II)
96158 (B)	162 (A)	1442/98 (SARME de la zona de Hannover IIIa)
97117 (A)	920 (B)	N8-890/99 (Sa 543 VI)
97118 (A)	95035 (A)	N8-3756/90 (Sa544 I)
97120 (B)	97121 (B)	9805-01937 (V)
97151 (B)	BM10828 (C)	AK 541 (IV)
97392 (B)	BM10882 (C)	ON 408/99 (VII)
97393 (A)	37481 (Seinajoki E 14)	AO 9973/97 (III)

[a] Todas las cepas *S. aureus* son resistentes a la meticilina salvo que se indique lo contrario.

[b] Estas cepas *S. aureus* son sensibles a la oxacilina (SASM)

[c] Las informaciones sobre estas cepas y designación de tipo basados en electrofóresis en gel por campos pulsados son de (6)

[d] Las informaciones sobre estas cepas y designación de tipo basados en electrofóresis en gel por campos pulsados son de (47)

[e] Las informaciones sobre estas cepas y designación de tipo basados en electrofóresis en gel por campos pulsados están disponibles en http://www.phls.co.uk/inter/harmony/menu.htm.

Tabla 2. Evaluación de los cebadores específicos de SARM que tienen por objetos los tipos i a x AEDM usando ADN de una multitud de cepas *Staphylococcus aureus* sensibles y resistentes a la meticilina

cepas *Staphylococcus aureus*[a]	Resultados RCP	
(número)	Positivo (%)	Negativo (%)
SARM (1657)	1640(99)	17(1)
SASM (569)	26 (4.6)	543 (95.4)

[a] SARM = *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina; SASM, *Staphylococcus aureus* sensible a la metilicina. Las cepas usadas de *S. aureus* están listadas en la Tabla 1. El origen de los aislamientos clínicos del *S. aureus* se describe en el texto.

Tabla 3. Origen de las 17 cepas SARM no amplificables usando cebadores que tienen por objeto los tipos i a x AEDM

Designación de cepa de *Staphylococcus aureus*		
Original	CCII[a]	Origen
6-9637	CCII-12157	Tempe, Estados Unidos
15-3967	CCII-12198	Nueva York, Estados Unidos
15-3972	CCII-12199	Nueva York, Estados Unidos
91 2290	CCII-12719	Australia
SS1757	CCII-11976	Houston, Estados Unidos
255 D	CCII-12382	Brasil
1061	CCII-12383	Brasil
232 D	CCII-12376	Brasil
6881	CCII-12593	España
5109	CCII-11999	Wilmintong, Estados Unidos
BK793	CCII-9887	Cairo, Egipto
21 18424	CCII-12845	Japón
SE46-1	CCII-9772	Toronto, Canadá
1059	CCII-12524	Italia
1016	CCII-12535	Italia
816867	CCII-12905	Rennes, Francia
20 1 6060	CCII-12810	Taiwan, China

[a] CCRI significa "Colección del Centro de Investigación en Infectiología"

Tabla 8: Nuevas secuencias nucleótidas de la AEDM[a] de *Staphylococcus aureus*

Identificación secuencial	Designación de cepa de *S. aureus* del Original	CCII[c]	Secuencia[a,b]
15	SS1757	CCII-11976	AEDM tipo xiii
16	5109	CCII-11999	AEDM tipo xiv
17	6-9637	CCII-12157	AEDM tipo xi
18	15-3967	CCII-12198	AEDM tipo xi
19	15-3962	CCII-12199	AEDM tipo xi
20	91 2290	CCII-12719	AEDM tipo xii
21	21 1 8424	CCII-12845	AEDM tipo xvi
25	255 D	CCII-12382	AEDM tipo xiii
26	106 I	CCII-12383	AEDM tipo xiii
39	1059	CCII-12524	AEDM tipo xviii
40	1016	CCII-12535	AEDM tipo xviii
41	20 1 6060	CCII-12810	AEDM tipo xix
42	816867	CCII-12095	AEDM tipo xx
55	SE46-1	CCII-9772	AEDM tipo xvii
56	BK793	CCII-9887	AEDM tipo xv

[a] AEDM hace referencia a articulación de extremidad derecha *mec* e incluye secuencias de la extremidad derecha CCE*mec* y ADN cromosómico a la derecha de la zona de integración del CCE*mec*.

[b] "Secuencia" hace referencia al gen objeto

[c] CCII significa "Colección del Centro de Investigación en Infectiología"

Tabla 9. Nuevos cebadores de amplificación RCP desarrollados para detectar tipos xi – xx AEDM

Tipo de AEDM del ADN objeto originador	Número de Identificación Secuencial del ADN objeto originador	Oligo Posición [a]	Oligo Número de Identificación Secuencial
AEDM tipo xvii	55	954 [b]	4
AEDM tipo xviii	40	1080	7
AEDM tipo xx	42	987[b]	8
AEDM tipo xix	41	581[b]	9
AEDM tipo xv	38	624	23
AEDM tipo xv	56	566[b]	24
AEDM tipo ix, xiii, xiv	15	756[b]	28
AEDM tipo xi	17	615[b]	34
AEDM tipo xii	20	612[b]	35
AEDM tipo xv	56	457	48
AEDM tipo xv	56	564[b]	49
AEDM tipo xi	17	956[b]	51
AEDM tipo xii	20	1053[b]	52
AEDM tipo xvii	55	415	57
AEDM tipo xvii	55	558	58

[a] "Posición" hace referencia a la posición nucleótida del extremo 5' del cebador.

[b] El cebador es inversamente complementario de la secuencia objeto.

Tabla 10. Otros cebadores y sondas de amplificación y/o secuenciación encontrados en el listado de secuencias

Número de Identificación Secuencial	Fuente	Objeto	Posición[a]	Número de Identificación Secuencial de ADN originador
27	Oliveira y de Lencastre, 2002, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:2155-2161	CCE*mec*	-	-
29	Número de Identificación Secuencial:109[b]	AEDM tipos ix, xiii y xiv	652[c]	29
30	Número de Identificación Secuencial:64[b]	*orfX*	325	18
31	Número de Identificación Secuencial:84[b]	*orfX*	346[c]	18
32	Número de Identificación Secuencial:163[b]	*orfX*	346[c]	20
33	Número de Identificación Secuencial:164[b]	*orfX*	-	-
36	Número de Identificación Secuencial:66[b]	AEDM tipos i, ii, y xvi	574[c]	21

43	Número de Identificación Secuencial:159[b]	*orfX*	367[c]	18
44	Número de Identificación Secuencial:132[b]	*orfX*	98	38
45	Número de Identificación Secuencial:70[b]	*orfX*	401	18
50	Número de Identificación Secuencial:69[b]	*mecA*	6945[c]	22
53	Oliveira y de Lencastre, 2002, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:2155-2161	CCE*mec*	-	-
54	Número de Identificación Secuencial:56[b]	AEDM tipos i y ii	-	-
60	Número de Identificación Secuencial:152[d]	Proteína de membrana putativa		
61	Número de Identificación Secuencial:153[d]	Proteína de membrana putativa		
62	Esta patente	*orfX*	193	20
63	Número de Identificación Secuencial:81[b]	*mecA*	6798	22
65	Número de Identificación Secuencial:204[b]	AEDM tipo vi	642[c]	191[b]
66	Número de Identificación Secuencial:115[b]	AEDM tipos ii, viii, ix, xiii, xiv	514	167[b]
73	Esta patente	AEDM tipo x	1913[c]	69
74	Número de Identificación Secuencial:112[b]	AEDM tipo vii	503	189[b]
75	Número de Identificación Secuencial:116[b]	AEDM tipo viii	601	167[b]
76	Esta patente	*orfX*	193	17
77	Esta patente	*Orf22* (AEDM tipo x)	3257	69
78	Esta patente	CCE*mec*	22015	88
79	Esta patente	CCE*mec*	22100	88
80	Esta patente	CCE*mec*	21296	88
81	Esta patente	CCE*mec*	21401	88
82	Esta patente	CCE*mec*	22713	88
83	Esta patente	CCE*mec*	2062	87
84	Esta patente	CCE*mec*	1280	87
85	Esta patente	CCE*mec*	1364	87
86	Esta patente	CCE*mec*	718	87

[a] La posición hace referencia la posición nucleótida del extremo 5' del cebador (sobre la secuencia objeto).
[b] Números de identificación secuencial de la Solicitud de Patente Internacional PCT/CA02/00824.
[c] El cebador es el complemento inverso de la secuencia objeto.
[d] Números de identificación secuencial de la patente WO96/08582.

Tabla 11. Longitud de los amplicones obtenidos con parejas de cebadores para los tipos xi –xx AEDM

Oligo Pareja (número identificación secuencial)	ADN objeto	Longitud de amplicon[a]
24/30	AEDM tipo xv	265
24/44	AEDM tipo xv	603
24/45	AEDM tipo xv	189
24/62	AEDM tipo xv	397
28/30	AEDM tipo xiii, xiv	464 (tipo xiii); 668 (tipo xiv)
28/44	AEDM tipo xiii, xiv	802[b] (tipo xiii); 1006[b] (tipo xiv)
28/45	AEDM tipo xiii, xiv	388 (tipo xiii); 592 (tipo xiv)
28/76	AEDM tipo xiii	596 (tipo xiii)
29/30	AEDM tipo xiii, xiv	267 (tipo xiii); 471 (tipo xiv)

29/44	AEDM tipo xiii, xiv	605[b] (tipo xiii); 809[b] (tipo xiv)
29/45	AEDM tipo xiii, xiv	191 (tipo xiii); 395 (tipo xiv)
29/59	AEDM tipo xiv	605
29/76	AEDM tipo xiii	399
34/30	AEDM tipo xi	328
34/44	AEDM tipo xi	661[b]
34/45	AEDM tipo xi	247
34/76	AEDM tipo xi	455
35/30	AEDM tipo xii	311
35/44	AEDM tipo xii	649[b]
35/45	AEDM tipo xii	235
35/62	AEDM tipo xii	443
36/44	AEDM tipo xvi	348[b]
4/30	AEDM tipo xvii	690
4/44	AEDM tipo xvii	968[b]
4/45	AEDM tipo xvii	614
4/62	AEDM tipo xvii	822
7/30	AEDM tipo xviii	780[b]
7/44	AEDM tipo xviii	1119[b]
7/45	AEDM tipo xviii	704
7/59	AEDM tipo xviii	912[b]
8/30	AEDM tipo xx	1076[b]
8/44	AEDM tipo xx	1415[b]
8/45	AEDM tipo xx	1000
8/59	AEDM tipo xx	1208[b]
9/30	AEDM tipo xix	657[b]
9/44	AEDM tipo xix	996[b]
9/45	AEDM tipo xix	581
9/59	AEDM tipo xix	789[b]

[a] La longitud del amplicón se da en parejas básicas para tipos de AEDM amplificados por el conjunto de los cebadores
[b] La longitud del amplicón se basa en análisis por eletrofóresis de gel de agarosa

Tabla 12. Porcentaje de identidad secuencial para los primeros 500 nucleótidos de las extremidades derechas de CCE*mec* **entre 19 tipos de AEDM[a,b]**

	i	ii[d]	iii	iv	v	vi[c]	vii	viii	ix[f]	xi	xii	xiii	xiv[e]	xv	xvi	xvii	xviii	xix	xx
i	-	100	44,4	39,1	40,4	42,9	43,2	41,5	42,4	41,1	40,2	42,4	42,4	42,1	100	42,1	44,1	42,5	40,4
ii[d]	-	-	44,4	39,1	40,4	42,9	43,2	41,5	42,4	41,1	40,2	42,4	42,4	42,1	100	42,1	44,1	42,5	40,4
iii	-	-	-	40,1	45,8	45,0	44,4	42,3	49,9	45,7	44,9	49,9	49,9	48,8	44,2	43,1	46,7	43,5	45,3
iv	-	-	-	-	45,2	40,3	41,6	42,1	42,7	42,7	38,2	42,7	42,7	39,0	42,1	39,6	40,3	37,2	41,4
v	-	-	-	-	-	45,0	41,3	46,5	43,8	41,2	43,6	43,8	43,8	41,7	43,3	42,3	49,8	43,8	39,8
vi[c]	-	-	-	-	-	-	45,1	40,8	43,2	43,8	42,0	43,2	43,2	44,2	42,9	39,4	43,4	42,2	45,8
vii	-	-	-	-	-	-	-	42,8	44,8	42,7	42,0	44,8	44,8	46,7	42,5	43,2	44,7	41,1	41,9
viii	-	-	-	-	-	-	-	-	41,1	41,1	41,9	41,1	41,1	37,6	52,2	40,9	41,2	42,4	39,1
ix[f]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	46,0	42,5	100	100	43,4	44,1	40,9	45,0	40,6	42,9
xi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	48,0	46,0	46,0	45,9	43,2	40,5	47,1	41,8	43,6
xii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	42,5	42,5	47,6	39,2	43,3	43,7	44,7	45,6
xiii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	43,4	44,1	40,9	45,0	40,6	42,9
xiv[e]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	43,4	44,1	40,9	45,0	40,6	42,9
xv	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	43,6	41,5	47,5	42,5	43,8
xvi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	41,9	45,4	45,1	45,7
xvii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40,0	43,3	42,5
xviii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	43,4	45,7
xix	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	45,5
xx	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[a] Los “primeros 500 nucleótidos” hacen referencia a los 500 nucleótidos en el interior de la extremidad derecha CCE*mec*, empezando a partir de la zona de integración del CCE*mec* en el cromosoma del *Staphylococcus aureus* tal como se muestra en la Figura 3.

[b] Las secuencias fueron extraídas de la solicitud de patente Internacional PCT/CA02/00824 (números de identificación secuencial: 1, 2, 232, 46, 50, 171, 166, 167 y 168 para los tipos i a ix, respectivamente). El tipo x de AEDM fue excluido de la comparación secuencial porque sufre deleción del *orfX* completo, de la zona de integración y de parte de la extremidad derecha CCE*mec*. Las secuencias para los tipos xi a xx fueron extraídas de los números de identificación secuencial: 18, 20, 25, 16, 56, 21, 55, 39, 41 y 42, respectivamente.

[c] La secuencia de la extremidad derecha CCE*mec* se limita a 371 nucleótidos.

[d] los primeros 102 nucleótidos de la extremidad derecha CCE*mec* del tipo ii de AEDM fueron excluidos de la comparación secuencial.

[e] los primeros 206 nucleótidos de la extremidad derecha CCE*mec* del tipo xiv de AEDM fueron excluidos de la comparación secuencial.

[f] los primeros 102 nucleótidos de la extremidad derecha CCE*mec* del tipo ix de AEDM fueron excluidos de la comparación secuencial.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Huletsky, Ann
Giroux, Richard

<120> SECUENCIAS PARA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A LA METICILINA (SARM) DE TIPOS xi A xx AEDM.

<130> GENOM.057QPC
<150> 11/248,438
<151> 2005-11-11

<160>88

<170> Secuencia rápida para Windows versión 4.0

<210>1
<211>21
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 1
gcaggaacaa acagatgaag a 21

<210>2
<211>19
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 2
tcggctctac cctcaacaa 19

<210>3
<211>19
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 3
tcgcagggat ggtattgaa 19

<210>4
<211>19
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 4
caccctgcaa gatatgttt 19

<210>5
<211>25
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 5
ttcgttgaaa gaagagaaaa ttaaa 25

<210>6
<211>27
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 6
gctttttttt ctttattatc aagtatc 27

<210>7
<211>25
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 7
aatggaattt gttaatttca taaat 25

<210>8
<211>25
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 8
ttccgaagtc ataatcaatc aaatt 25

<210>9
<211>23
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 9
ttccgaagct aattctgtta ata 23

<210>10
<211>23
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 10
aggcgttaaa aatcctgata ctg 23

<210>11
<211>22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 11
aagccaattc aatttgtaat gc 22

<210>12
<211>22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 12
aacccctcct ctgtaattag tg 22

<210>13
<211>21
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 13
agcggtggag tgcaaataga t 21

<210>14
<211>23
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico preparada sintéticamente

<400> 14
ttgctggaca tcaacagtat cat 23

<210>15
<211>4149
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400> 15

accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60
gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
ctagccaaaa ttaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt 300
gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 360
gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgag 420
caagtgtata gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcat atcataagtg atgcggtttt 480
tattaattag ttgctaaaaa atgaagtatg caatattaat tattattaaa ttttgatata 540
tttaaagaaa gattaagttt agggtgaatg aatggcttat caaagtgaat atgcattaga 600
aaatgaagta cttcaacaac ttgaggaatt gaactatgaa agagtaaata tacataatat 660
taaattagaa attaatgaat atctcaaaga actaggagtg ttgaaaaatg aataagcaga 720
caaatactcc agaactaaga tttccagagt ttgatgagga atggaaaaaa aggaaattag 780
gtgaagtagt aaattataaa aatggtggtt catttgaaag tttagtgaaa aaccatggtg 840
tatataaact cataactctt aaatctgtta atacagaagg aaagttgtgt aattctggaa 900
aatatatcga tgataaatgt gttgaaacat tgtgtaatga tactttagta atgatactga 960
gcgagcaagc accaggacta gttggaatga ctgcaattat acctaataat aatgagtatg 1020
tactaaatca acgagtagca gcactagtgc ctaaacaatt tatagatagt caatttctat 1080
ctaagttaat taatagaaac cagaaatatt tcagtgtgag atctgctgga acaaaagtga 1140
aaaatatttc taaaggacat gtagaaaact ttaatttttt atctcctaat tacactgaac 1200
aacaaaaaat aggtaatttc ttcagcaaac tcgaccgcca gattgagtta gaagaagaga 1260
aacttgaact cttagagcaa caaaagcgtg gatatattca gaagattttt tctcaagatt 1320

```
taagatttaa agatgaaaat ggaaacagtt atcctgattg gtctattaaa aagattgaag 1380
atatttctaa agttaataaa gggtttactc caaatacaaa aaatgataaa tactgggatg 1440
aattaaatga aaattggtta tctatagcag gtatgacaca gaaatatttg tataaaggaa 1500
ataaaggaat tactgaaaaa ggtgcatcaa agcatgtaaa agtagataaa gatactctaa 1560
taatgagttt taaattgact ttaggtaagt tagctatagt aaaagagcct atctatacaa 1620
atgaagctat atgccatttc gtatggaaag aaagtaatgt taatactgag tatatgtact 1680
actatttaaa ttctataaat ataagtactt ttggtgcaca ggcagttaaa ggagtaacat 1740
taaataacga tgcaattaat agtattatag taaagttacc agtgatacaa gaacaaaata 1800
aaatagcata ctttttcaat aaattagata aattaattga aaaacaatct tctaaagtag 1860
aattattaaa acaacgcaaa caaggatttt tacagaaaat gtttgtttaa ttcttataaa 1920
gttctattat gtaaaatatt aaatagagat aacattatga aagcgagccc aagacataaa 1980
gtttttgaat aaataaaaaa gataatttct atcaaattaa tatagaaatt gtctttttta 2040
taaatttttt gattattttt agctgattga gctgttactt ttcttataat aagtgctatt 2100
agcacaaatc ctagttctct tttggctttg tttattcctc ttacggacat tcgagtgaaa 2160
cccattttaa ttttattaga agtaatttag gtttgaaccc acctaaataa atatatgagt 2220
tatttttta tgctacaaaa tatattcaga tttcaataat gacataaaat aggcatcttt 2280
atatttacct ttagtgtaga attgctcttt gagtaatcct tctgttttaa atccttgtga 2340
ctcgtatata tgcacagctt ttttgttatc tgtatcaaca tatagataaa ttttgtgcat 2400
gtttaatata tcgaatgcat aatttatcgc tttttcgaat gcgaattttg cataaccttt 2460
accactgaac tcaggtttaa taattatttg tatttcacaa ttacgatgga tgtaattaat 2520
ttctactaat tcaacaatac ctacgacttg attttcatct tcaacaataa aacgtctctc 2580
tgattcatct aataaatgct tatcaaataa atattgaagt tccgttaagg attcatatgg 2640
ttcttcaaac caataagaca taatagaata ttcattattt aattcatgaa caaaaagtaa 2700
atcactatac tctaatgctc ttagtttcat aattccactc ccaaaatttt ctcatatatt 2760
tgcattataa atataaataa cgaataagtc atcattcact gtgaatactc tattttaaca 2820
attcaccaca tactaattct cattttcttg ttattctcga tttattactc ttactatgaa 2880
acctataaaa ttctcacatt tgtttgtatt aagaataaat acgtcgatag taacaataaa 2940
aaaataaata ataaagcatc cctcaccgta aaagtgaagg atgctctagt tttattgaaa 3000
tatacatttc attttgttaa ataattatta ataatatttt gaaaatcatt attacgtgaa 3060
atcttcatag attttatcaa gtatttcttt gccttcaatt gctgtgaagt gatgtaccaa 3120
tctatttta caatcatatg taattttgtg acgctaggta attagtaatt gttcgtcagt 3180
ctgattgtat agtatcaagt ttcatagata atactctttg attttaatgt ccactttgac 3240
gtgctttaag attgagtata tacataatgt cattgtggaa tgttaaaaat cctacaaatg 3300
tttattcatc tgcaggattt ttaaatctcc aagaataaaa atcatcatag gacaactgga 3360
ttattgtttg gataaataac gtaaacaata attaggtact attatttatt tttgtttatt 3420
ctttttccta acaaaataaa gaaaagaata aacgcaattg ttaaaaatat gtgtcctaaa 3480
ccagcaatac cagcaatagc aggacttaca cttagatctt taatggtaga aataccgttc 3540
acgaattgca ttgccacagt aacaagcaca cctaaatggt atatataaaa gaaactgtta 3600
aacagctttg tatgagttgt taatttgaat tggccctcga taatcatgaa aattaagaac 3660
ataattgtac ctagtactaa taaatgtgta tgtgtaacat ttaattgaga aaaaccgcta 3720
aaatcttccg cttttgtcat ttctctataa aatagaccac ttaataaccc taatagtgta 3780
tagagcgctg aactatacat taatcttttc attttaattc cccctatttt taattacgag 3840
ataagtatag cggtagttta tgaactgagt atgaacttac aacaaaaaaa ttaatgaagt 3900
actttacaat aaactcaatt tattagatgg tggagggacg aaaaaggatt ttagaaaaat 3960
aaattaatat atttttattt tgataagtaa taattaataa tatcttggaa atcattgtta 4020
agtattgttg taatacaatc gtcattcata aaatcttcat agtttttatc aagaatttct 4080
tcatcttcga tagatgtgaa atgattagct aacccttta taatttaagt gtaatttgtg 4140
aatctaaac                                                       4149
```

<210> 16
<211> 4353
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400> 16

```
accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60
gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
ctagccaaaa ttaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt 300
gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 360
gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgag 420
caagtgtata gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcat atcataaatg atgcggtttt 480
ttcagccgct tcataaaggg attttgaatg tatcagaaca tatgaggttt atgtgaattg 540
ctgttatgtt tttaagaagc atatcataaa tgatgcggtt ttttcagccg cttcataaag 600
ggattttgaa tgtatcagaa catatgaggt ttatgtgaat tgctgttatg tttttaagaa 660
gcatatcata agtgatgcgg tttttattaa ttagttgcta aaaaatgaag tatgcaatat 720
```

```
taattattat taaattttga tatatttaaa gaaagattaa gtttagggtg aatgaatggc 780
ttatcaaagt gaatatgcat tagaaaatga agtacttcaa caacttgagg aattgaacta 840
tgaaagagta aatatacata atattaaatt agaaattaat gaatatctca aagaactagg 900
agtgttgaaa aatgaataag cagacaaata ctccagaact aagatttcca gagtttgatg 960
aggaatggaa aaaaaggaaa ttaggtgaag tagtaaatta taaaaatggt ggttcatttg 1020
aaagtttagt gaaaaaccat ggtgtatata aactcataac tcttaaatct gttaatacag 1080
aaggaaagtt gtgtaattct ggaaaatata tcgatgataa atgtgttgaa acattgtgta 1140
atgatacttt agtaatgata ctgagcgagc aagcaccagg actagttgga atgactgcaa 1200
ttatacctaa taataatgag tatgtactaa atcaacgagt agcagcacta gtgcctaaac 1260
aatttataga tagtcaattt ctatctaagt taattaatag aaaccagaaa tatttcagtg 1320
tgagatctgc tggaacaaaa gtgaaaaata tttctaaagg acatgtagaa aactttaatt 1380
ttttatctcc taattacact gaacaacaaa aaataggtaa tttcttcagc aaactcgacc 1440
gccagattga gttagaagaa gagaaacttg aactcttaga gcaacaaaag cgtggatata 1500
ttcagaagat tttttctcaa gatttaagat ttaaagatga aaatggaaac agttatcctg 1560
attggtctat taaaaagatt gaagatattt ctaaagttaa taaagggttt actccaaata 1620
caaaaaatga taaatactgg gatgaattaa atgaaaattg gttatctata gcaggtatga 1680
cacagaaata tttgtataaa ggaaataaag gaattactga aaaaggtgca tcaaagcatg 1740
taaaagtaga taaagatact ctaataatga gttttaaatt gactttaggt aagttagcta 1800
tagtaaaaga gcctatctat acaaatgaag ctatatgcca tttcgtatgg aaagaaagta 1860
atgttaatac tgagtatatg tactactatt taaattctat aaatataagt acttttggtg 1920
cacaggcagt taaaggagta acattaaata acgatgcaat taatagtatt atagtaaagt 1980
taccagtgat acaagaacaa aataaaatag catacttttt caataaatta gataaattaa 2040
ttgaaaaaca atcttctaaa gtagaattat taaaacaacg caaacaagga tttttacaga 2100
aaatgtttgt ttaattctta taaagttcta ttatgtaaaa tattaaatag agataacatt 2160
atgaaagcga gcccaagaca taaagttttt gaataaataa aaaagataat ttctatcaaa 2220
ttaatataga aattgtcttt tttataaatt ttttgattat ttttagctga ttgagctgtt 2280
acttttctta taataagtgc tattagcaca aatcctagtt ctcttttggc tttgtttatt 2340
cctcttacgg acattcgagt gaaacccatt ttaattttat tagaagtaat ttaggtttga 2400
acccacctaa ataaatatat gagttatttt tttatgctac aaaatatatt cagatttcaa 2460
taatgacata aaataggcat ctttatattt acctttagtg tagaattgct ctttgagtaa 2520
tccttctgtt ttaaatcctt gtgactcgta tatatgcaca gctttttgt tatctgtatc 2580
aacatataga taaatttttgt gcatgtttaa tatatcgaat gcataattta tcgcttttc 2640
gaatgcgaat tttgcataac ctttaccact gaactcaggt ttaataatta tttgtatttc 2700
acaattacga tggatgtaat taatttctac taattcaaca atacctacga cttgattttc 2760
atcttcaaca ataaaacgtc tctctgattc atctaataaa tgcttatcaa ataaatattg 2820
aagttccgtt aaggattcat atggttcttc aaaccaataa gacataatag aatattcatt 2880
atttaattca tgaacaaaaa gtaaatcact atactctaat gctcttagtt tcataattcc 2940
actcccaaaa ttttctcata tatttgcatt ataaatataa ataacgaata agtcatcatt 3000
cactgtgaat actctatttt aacaattcac cacatactaa ttctcatttt cttgttattc 3060
tcgatttatt actcttacta tgaaacctat aaaattctca catttgtttg tattaagaat 3120
aaatacgtcg atagtaacaa taaaaaaata aataataaag catccctcac cgtaaaagtg 3180
aaggatgctc tagttttatt gaaatatata tttcattttg ttaaataatt attaataata 3240
ttttgaaaat cattattacg tgaaatcttc atagatttta tcaagtattt ctttgccttc 3300
aattgctgtg aagtgatgta ccaatctatt tttacaatca tatgtaattt tgtgacgcta 3360
ggtaattagt aattgttcgt cagtctgatt gtatagtatc aagtttcata gataatactc 3420
tttgatttta atgtccactt tgacgtgctt taagattgag tatatacata atgtcattgt 3480
ggaatgttaa aaatcctaca aatgtttatt catctgcagg atttttaaat ctccaagaat 3540
aaaaatcatc ataggacaac tggattattg tttggataaa taacgtaaac aataattagg 3600
tactattatt tatttttgtt tattcttttt cctaacaaaa taaagaaaag aataaacgca 3660
attgttaaaa atatgtgtcc taaaccagca ataccagcaa tagcaggact tacacttaga 3720
tctttaatgg tagaaatacc gttcacgaat tgcattgcca cagtaacaag cacacctaaa 3780
tggtatatat aaaagaaact gttaaacagc tttgtatgag ttgttaattt gaattggccc 3840
tcgataatca tgaaaattaa gaacataatt gtacctagta ctaataaatg tgtatgtgta 3900
acatttaatt gagaaaaacc gctaaaatct tccgcttttg tcatttctct ataaaataga 3960
ccacttaata accctaatag tgtatagagc gctgaactat acattaatct tttcatttta 4020
attcccccta tttttaatta cgagataagt atagcggtag tttatgaact gagtatgaac 4080
ttacaacaaa aaaattaatg aagtacttta caataaactc aatttattag atggtggagg 4140
gacgaaaaag gattttagaa aaataaatta atatattttt attttgataa gtaataatta 4200
ataatatctt ggaaatcatt gttaagtatt gttgtaatac aatcgtcatt cataaaatct 4260
tcatagattt tatcaagaat ttcttcatct tcgatagatg tgaaatgatt agctaaccct 4320
tttataattt aagtgtaatt tgtgaatcta aac                              4353
```

<210>17
<211>1100
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400>17

accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60
gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
ctagccaaaa ttaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt 300
gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 360
gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgag 420
caagtgtata gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcgt atcacaaata aaactaaaaa 480
ataagttgta tataacttat tttgaaattg gttaagtata taatatctcc aataaaatgt 540
agttaactta cgataatgct gaactatagc tttgtaaact aaaatgtaaa taattacaat 600
caaattgcaa caatatagtt caagaatgct acaatttgag gacagattga tagcattaat 660
ccctttaaaa tgaagctagg agataactta cattatgatt agtaaacaaa taaaggattt 720
acgaaagcaa cataattata ctcaagaaga gctagctgaa aaattaaata cttcaagaca 780
aacaatttct aaatgggaac aaggtatttc agaaccagac ttaattatgc ttatgcaatt 840
gtcacaatta ttttctgtta gtacagacta tctcattaca ggaagtgaca atattattaa 900
aaaagataat aaaagctatt atgaaatgaa tttttgggca tttatgtctg aaaaatggtg 960
ggtaattatt attatagtaa tcataatttg tggaacaata ggacaaattt tttcaaacta 1020
atgtaagtat ctctcaaata ttttgggagg ttttattatg aaaatcaaaa aattattaaa 1080
gacattatta attattttat 1100

<210>18
<211>1109
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400>18

accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60
gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
ctagccaaaa tcaaaccaca atcaacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt 300
gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 360
gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa 420
caagtgtaca gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcgt atcacaaata aaactaaaaa 480
ataagttgta tataacttat tttgaaattg gttaagtata tagtatctcc aataaaatgt 540
agttaactta cgataatgct gaactatagc tttgtaaact aaaatgtaaa taattacaat 600
caaattgcaa caatatagtt caagaatgct acaatttgag gacagattga tagcattaat 660
ccctttaaaa tgaagctagg agataactta cattatgatt agtaaacaaa taaaggattt 720
acgaaagcaa cataattata ctcaagaaga gctagctgaa aaattaaata cttcaagaca 780
aacaatttct aaatgggaac aaggtatttc agaaccagac ttaattatgc ttatgcaatt 840
gtcacaatta ttttctgtta gtacagacta tctcattaca ggaagtgaca atattattaa 900
aaaagataat aaaagctatt atgaaatgaa tttttgggca tttatgtctg aaaaatggtg 960
ggtaattatt attatagtaa tcataatttg tggaacaata ggacaaattt tttcaaacta 1020
atgtaagtat ctctcaaata ttttgggagg ttttattatg aaaatcaaaa aattattaaa 1080
gacattatta attattttat tatgttttg 1109

<210>19
<211>1159
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400>19
accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60
gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
ctagccaaaa tcaaaccaca atcaacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt 300
gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 360
gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa 420
caagtgtaca gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcgt atcacaaata aaactaaaaa 480
ataagttgta tataacttat tttgaaattg gttaagtata tagtatctcc aataaaatgt 540
agttaactta cgataatgct gaactatagc tttgtaaact aaaatgtaaa taattacaat 600
caaattgcaa caatatagtt caagaatgct acaatttgag gacagattga tagcattaat 660
ccctttaaaa tgaagctagg agataactta cattatgatt agtaaacaaa taaaggattt 720
acgaaagcaa cataattata ctcaagaaga gctagctgaa aaattaaata cttcaagaca 780
aacaatttct aaatgggaac aaggtatttc agaaccagac ttaattatgc ttatgcaatt 840
gtcacaatta ttttctgtta gtacagacta tctcattaca ggaagtgaca atattattaa 900
aaaagataat aaaagctatt atgaaatgaa tttttgggca tttatgtctg aaaaatggtg 960
ggtaattatt attatagtaa tcataatttg tggaacaata ggacaaattt tttcaaacta 1020
atgtaagtat ctctcaaata ttttgggagg ttttattatg aaaatcaaaa aattattaaa 1080
gacattatta attattttat tatgttttgt attgtctgtt attgtgcaaa atatttcaat 1140
gctatggcat attgtgagc 1159

<210>20
<211>1125
<212> ADN

<213> Staphylococcus aureus
<400>20

```
accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60
gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
ctagccaaaa tcaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt 300
gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactat 360
gcactatcat ttagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa 420
caagtgtata gagcatttaa gattatgcgt ggagaggcgt atcataaata aaactaaaaa 480
acggattgtg tataatatat tttaaatata aaaaggattg attttatgtt aaataaatta 540
gaaaatgtta gttataaatc attcgataat tacactagtg aagatgattt gactaaagta 600
aatatatttt ttggaagaaa tgggagtgga aaaagctcat taagtgaatg gttaagaaga 660
ctagataatg aaaaaagtgt tatctttaat actggttact taaaaaataa tattgaagaa 720
gttgaagaaa tagatggtgt gaatttggtt attggagaag aatctataaa tcatagtgac 780
caaattaagc atttaaatag cgctataaat agtttagaaa attttattac tcggaaaaat 840
agtgaactta agcattcaaa agaaagaatt tacaataaaa tgaatatcag actaaatgaa 900
gctagagaaa gatttgaaat aggtagtaat gtggttaagc agaagaggaa tgctgacaaa 960
gatccagtta atgctttta tagttggaag aaaaatgcta acgatataat tcaagagatg 1020
actattgaat ctttagatga attagaagaa agaataacaa gaaaagaagt cttattaaat 1080
aatataaaaa caccaatttt agcttttgat tataatgatt ttagt                1125
```

<210>21
<211>818
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus
<400>21

```
aatattggaa gcaagccata gcagaatatg aaaaacgttt aggcccatac accaagatag 60
acatcataga agttccagac gaaaaagcac cagaaaatat gagcgacaaa gaaattgagc 120
aagtgtatag agcatttaag attatgcgtg gagaagcata tcataaatga tgcggttttt 180
tcagccgctt cataaaggga ttttgaatgt atcagaacat atgaggttta tgtgaattgc 240
tgttatgttt ttaagaagct tatcataagt aatgaggttc atgatttttg acatagttag 300
cctccgcagt ctttcatttc aagtaaataa tagcgaaata ttctttatac tgaatactta 360
tagtgaagca aagttctagc tttgagaaaa ttctttctgc aactaaatat agtaaattac 420
ggtaaaatat aaataagtac atattgaaga aaatgagaca taatatattt tataatagga 480
gggaatttca aatgatagac aactttatgc aggtccttaa attaattaaa gagaaacgta 540
ccaataatgt agttaaaaaa tctgattggg ataaaggtga tctatataaa actttagtcc 600
atgataagtt acccaagcag ttaaaagtgc atataaaaga agataaatat tcagttgtag 660
ggaaggttgc tactgggaac tatagtaaag ttccttggat ttcaatatat gatgagaata 720
taacaaaaga aacaaaggat ggatattatt tggtatatct ttttcatccg gaaggagaag 780
gcatatactt atcttgaatc aaggatggtc aaagataa                         818
```

<210>22
<211>27
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>22
aacaggtgaa ttattagcac ttgtaag 27

<210>23
<211>24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 23
gagcggattt atattaaaac tttg 24

<210>24
<211>24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>24
gttgccatag attcaatttc taag 24

<210>25
<211>1081
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400>25
accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60
gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
ctagccaaaa tcaaaccaca atcaacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt 300
gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 360
gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa 420
caagtgtaca gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcat atcataagtg atgcggtttt 480
tattaattag ttgctaaaaa atgaagtatg caatattaat tattattaaa ttttgatata 540
tttaaagaaa gattaagttt agggtgaatg aatggcttat caaagtgaat atgcattaga 600
aaatgaagta cttcaacaac ttgaggaatt gaactatgaa agagtaaata tacataatat 660
taaattagaa attaatgaat atctcaaaga actaggagtg ttgaaaaatg aataagcaga 720
caaatactcc agaactaaga tttccagagt ttgatgagga atggaaaaaa aggaaattag 780
gtgaagtagt aaattataaa aatggtggtt catttgaaag tttagtgaaa aaccatggtg 840
tatataaact cataactctt aaatctgtta atacagaagg aaagttgtgt aattctggaa 900
aatatatcga tgataaatgt gttgaaacat tgtgtaatga tactttagta atgatactga 960
gcgagcaagc accaggacta gttggaatga ctgcaattat acctaataat aatgagtatg 1020
tactaaatca acgagtagca gcactagtgc ctaaacaatt tatagatagt caatttctat 1080
c 1081

<210>26
<211>1054
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400>26
accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60
gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
ctagccaaaa tcaaaccaca atcaacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt 300
gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 360
gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa 420
caagtgtaca gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcat atcataagtg atgcggtttt 480
tattaattag ttgctaaaaa atgaagtatg caatattaat tattattaaa ttttgatata 540
tttaaagaaa gattaagttt agggtgaatg aatggcttat caaagtgaat atgcattaga 600
aaatgaagta cttcaacaac ttgaggaatt gaactatgaa agagtaaata tacataatat 660
taaattagaa attaatgaat atctcaaaga actaggagtg ttgaaaaatg aataagcaga 720
caaatactcc agaactaaga tttccagagt ttgatgagga atggaaaaaa aggaaattag 780
gtgaagtagt aaattataaa aatggtggtt catttgaaag tttagtgaaa aaccatggtg 840
tatataaact cataactctt aaatctgtta atacagaagg aaagttgtgt aattctggaa 900
aatatatcga tgataaatgt gttgaaacat tgtgtaatga tactttagta atgatactga 960
gcgagcaagc accaggacta gttggaatga ctgcaattat acctaataat aatgagtatg 1020
tactaaatca acgagtagca gcactagtgc ctaa 1054

<210>27
<211>22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>27
ttcttaagta cacgctgaat cg 22

<210>28
<211>24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>28
taatttcctt tttttccatt cctc 24

<210>29
<211>24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>29
tgataagcca ttcattcacc ctaa 24

<210>30
<211>19
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>30
ggatcaaacg gcctgcaca 19

<210>31
<211>37
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>31
cccgcgcgta gttactgcgt tgtaagacgt ccgcggg 37

<210>32
<211>37
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>32
cccgcgcata gttactgcgt tgtaagacgt ccgcggg 37

<210>33
<211>37
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>33
cccgcgcgta gttactacgt tgtaagacgt ccgcggg 37

<210>34
<211>24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>34
caaattgtag cattcttgaa ctat 24

<210>35
<211>24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>35
ctcccatttc ttccaaaaaa tata 24

<210>36
<211>29
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>36
gtcaaaaatc atgaacctca ttacttatg 29

<210>37
<211>1256
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400>37

```
gctgtaggga aactaaaaga gaaatattgg aagcaagcca tagcagaata tgaaaaacgt 60
ttaggcccat acaccaagat agacatcata gaagttccag acgaaaaagc accagaaaat 120
atgagcgaca aagaaattga gcaagtaaaa gaaaaagaag gccaacgaat actagccaaa 180
attaaaccac aatccacagt cattacatta gaaatacaag gaaagatgct atcttccgaa 240
ggattggccc aagaattgaa ccaacgcatg acccaagggc aaagcgactt tgtattcgtc 300
attggcggat caaacggcct gcacaaggac gtcttacaac gcagtaacta cgcactatca 360
ttcagcaaaa tgacattccc acatcaaatg atgcgggttg tgttaattga gcaagtgtat 420
agagcattta agattatgcg tggagaagca tatcataaat gatgcggttt tttcagccgc 480
ttcataaagg gattttgaat gtatcagaac atatgaggtt tatgtgaatt gctgttatgt 540
ttttaagaag catatcataa gtgatgcggt ttttattaat tagttgctaa aaaatgaagt 600
atgcaatatt aattattatt aaattttgat atatttaaag aaagattaag tttagggtga 660
atgaatggct tatcaaagtg aatatgcatt agaaaatgaa gtacttcaac aacttgagga 720
attgaactat gaaagagtaa atatacataa tattaaatta gaaattaatg aatatctcaa 780
agaactagga gtgttgaaaa atgaataagc agacaaatac tccagaacta agatttccag 840
agtttgatga ggaatggaaa aaaaggaaat taggtgaagt agtaaattat aaaaatggtg 900
gttcatttga aagtttagtg aaaaaccatg gtgtatataa actcataact cttaaatctg 960
ttaatacaga aggaaagttg tgtaattctg gaaaatatat cgatgataaa tgtgttgaaa 1020
cattgtgtaa tgatacttta gtaatgatac tgagcgagca agcaccagga ctagttggaa 1080
tgactgcaat tatacctaat aataatgagt atgtactaaa tcaacgagta gcagcactag 1140
tgcctaaaca atttatagat agtcaatttc tatctaagtt aattaataga aaccagaaat 1200
atttcagtgt gagatctgct ggaacaaaag tgaaaaatat ttctaaagga catgta 1256
```

<210>38
<211>23
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>38
gaggaccaaa cgacatgaaa atc 23

<210>39
<211>756
<212> ADN

<213> Staphylococcus aureus

<400>39

```
tgacattccc acatcaaatg atgcgggttg tgttaattga gcaagtgtat agagcattta 60
agattatgcg tggagaagcg tatcacaaat aaaactaaaa aataggttgc gcataatata 120
attagaaagg aattagacat aaattaggag tccttcacag aatagcgaag gactcccatt 180
aaatatatta tggtgtaaag aaatcacaaa tcaatatata tacttaatac catatattaa 240
cttgtactat tataaagtac gacatcagta ttaggtatca ctttgaacac atgaatttca 300
ttatcacttt tattattcac aaaaaatttt ccaattctca attactgaat tatgtgtata 360
catgttgtta aaaattaata aaggatattt atgtttgttt aaagcatatc acaagtgatg 420
cggtttttta taaagattta cttgttagtg attttgataa aaatgcttaa tactatttca 480
ataatatgta tttaaaaatt agattaatag tatttaactt caaatggcct cgtataaact 540
catagcaaat taacgtaaat caatgaaata aaatgaaaac aatttcaaga atacattata 600
aacataaagt atacaaaaaa taaatgagcg tatttgttta aacgtataca ctcatttta 660
ttaaattaat ttattatatt ttacgattgt tatttatgaa attaacaaat tccatttttg 720
atagtgaaat taaaagcttt atcacttatt attgat                          756
```

<210>40
<211>771
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400>40

```
tgacattccc acatcaaatg atgcgggttg tgttaattga gcaagtgtat agagcattta 60
agattatgcg tggagaagcg tatcacaaat aaaactaaaa aataggttgc gcataatata 120
attagaaagg aattagacat aaattaggag tccttcacag aatagcgaag gactcccatt 180
aaatatatta tggtgtaaag aaatcacaaa tcaatatata tacttaatac catatattaa 240
cttgtactat tataaagtac gacatcagta ttaggtatca ctttgaacac atgaatttca 300
ttatcacttt tattattcac aaaaaatttt ccaattctca attactgaat tatgtgtata 360
catgttgtta aaaattaata aaggatattt atgtttgttt aaagcatatc acaagtgatg 420
cggtttttta taaagattta cttgttagtg attttgataa aaatgcttaa tactatttca 480
ataatatgta tttaaaaatt agattaatag tatttaactt caaatggcct cgtataaact 540
catagcaaat taacgtaaat caatgaaata aaatgaaaac aatttcaaga atacattata 600
aacataaagt atacaaaaaa taaatgagcg tatttgttta aacgtataca ctcatttta 660
ttaaattaat ttattatatt ttacgattgt tatttatgaa attaacaaat tccatttttg 720
atagtgaaat taaaagcttt atcacttatt attgataatt ttgactgcat c          771
```

<210>41
<211>680
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400>41

```
ttcagcaaaa tgacattccc acatcaaatg atgcgggttg tgttaattga acaagtgtac 60
agagcattta agattatgcg tggagaagcg tatcataagt agcggaggag ttttttacct 120
tgtgacttat cataaagtac gatgtttatg taagtgatta tcattattta agcaggtttt 180
tcaaattaaa taataacaag aataaaatgc acttagcgac attgaaattt attaatctag 240
taaactaata gatttataga aaattttatt tgcaagggga taattttgaa aagtagtatt 300
ttctatcttt ccataataca ttgtaattac aacggagggg atattgtgat gaagtgtata 360
gataaaacgt gggttagcta ttataaagaa ttagctgata agttaacaga ttatcaaaat 420
aaacgttatg aattaattga aatagtgaag gaagtatata aaaaaacggg aataaaattc 480
cctactttag caagtgataa tgtattgatg gacatagatc cttttacaat atttgcatta 540
tttaataaaa attccatgag agaaactaat aaggtaaaaa tattaacaga attagcttcg 600
gaattgaata ttaagtccaa aattccgtca gtttttgaca gtattccaac agtcaataat 660
ctgaatgcta catattataa                                            680
```

<210>42
<211>1119
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400>42

gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgag caagtgtata gagcatttaa 60
gattatgcgt ggagaggcgt atcataagta aaactaaaaa attctgtatg aggagataat 120
aatttggagg gtgttaaatg gtggacatta aatccacgtt cattcaatat ataagatata 180
tcacgataat tgcgcatata acttaagtag tagctaacag ttgaaattag gccctatcaa 240
attggtttat atctaaaatg attaatatag aatgcttctt tttgtcctta ttaaattata 300
aaagtaactt tgcaatagaa acagttattt cataatcaac agtcattgac gtagctaagt 360
aatgataaat aatcataaat aaaattacag atattgacaa aaaatagtaa atataccaat 420
gaagtttcaa aagaacaatt ccaagaaatt gagaatgtaa ataataaggt caaagaattt 480
tattaagatt tgaaagagta tcaatcaaga aagatgtagt tttttaataa actatttgga 540
aaataattat cataatttaa aaactgacaa tttgcgagac tcataaaatg taataatgga 600
aatagatgta aaatataatt aaggggtgta atatgaagat taatatttat aaatctattt 660
ataattttca ggaaacaaat acaaattttt tagagaatct agaatcttta aatgatgaca 720
attatgaact gcttaatgat aaagaacttg ttagtgattc aaatgaatta aaattaatta 780
gtaaagttta tatacgtaaa aaagacaaaa aactattaga ttggcaatta ttaataaaga 840
atgtatacct agatactgaa gaagatgaca atttattttc agaatccggt catcattttg 900
atgcaatatt atttctcaaa gaagatacta cattacaaaa taatgtatat attatacctt 960
ttggacaagc atatcatgat ataaataatt tgattgatta tgacttcgga attgattttg 1020
cagaaagagc aatcaaaaat gaagacatag ttaataaaaa tgttaatttt tttcaacaaa 1080
acaggcttaa agagattgtt aattatagaa ggaatagtg 1119

<210>43
<211>24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>43
cattttgctg aatgatagtg cgta 24

<210>44
<211>23
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>44
gaggaccaaa cgacatgaaa atc 23

<210>45
<211>21
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>45
atcaaatgat gcgggttgtg t 21

<210>46
<211>26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>46
aaacgaaaat actggtgaag atatta 26

<210>47
<211>25
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 47
ttgcctttct caagtcttta caact 25

<210>48
<211>20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 48
cgaggagaag cgtatcacaa 20

<210>49
<211>27
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 49
agttgccata gattcaattt ctaaggt 27

<210>50
<211>27
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 50
aacaggtgaa ttattagcac ttgtaag 27

<210>51
<211>26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 51
ctattgttcc acaaattatg attact 26

<210>52
<211>26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 52
cttcttttct tgttattctt tcttct 26

<210>53
<211>20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 53
ctaaatcata gccatgaccg 20

<210>54
<211>20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 54
atgctctttg ttttgcagca 20

<210>55
<211>1073
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400> 55
tattggaagc aagccatagc agaatatgaa aaacgtttag gcccatacac caagatagac 60
atcatagaag ttccagacga aaaagcacca gaaaatatga gcgacaaaga aattgagcaa 120
gtaaaagaaa aagaaggcca acgaatacta gccaaaatca aaccacaatc cacagtcatt 180
acattagaaa tacaaggaaa gatgctatct tccgaaggat tggcccaaga attgaaccaa 240
cgcatgaccc aagggcaaag cgactttgta ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac 300
aaggacgtct tacaacgcag taactatgca ctatcattta gcaaaatgac attcccacat 360
caaatgatgc gggttgtgtt aattgaacaa gtgtatagag catttaagat tatgcgtgga 420
gaggcgtatc ataagtgatg cttgttagaa tgatttttaa caatatgaaa tagctgtgga 480
agcttaaaca atttgtttat ctaagtactt atttaataat tgattgaact gtgattggca 540
ccaggctgtc tggtaaattg agaagttggg ttttggagcg tataaatgat agaattaata 600
taaaattcaa tttgaggagt aggagattat gtcgaatata aaaacaacac tagagacgtc 660
cgtaggacta gaaaaagaca acgataagct atttgattat ataactgaat tagagattca 720
aaacacgcct gaaaaccggg aagcaaaagt tgttattgaa gaaaggttac ataaagaata 780
taaatatgaa ttagatcaaa tgacaccaga gtatggaata caaaaaggca gtgttagaat 840
aggtcatgca gatgttgtaa tatttcatga ttctaaagat aaatctcaag agaatattaa 900
aataatagta gagtgtaaaa gaaagaatcg cagggatggt attgaacaat taaaaacata 960
tcttgcaggg tgtgagtctg cagaatacgg cgtttggttt aatggagaag atatagtata 1020
tataaaacga ttgaaaaaag caccacattg gaaaacagta tttaatatac cga 1073

<210>56
<211>2031
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400> 56

```
accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60

gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
ccagaaaata tgagtgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
ctagccaaaa tcaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt 300
gttttcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 360
gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa 420
caagtgtaca gagcatttaa gattatgcga ggagaagcgt atcacaaata aaactaaaaa 480
atagattgtg tataatataa aaggagcgga tttatattaa aactttgaat tcaaaaatta 540
ttgaaaggga agctacctta gaaattgaat ctatggcaac taatacattg aaaataaacc 600
cggatattaa ttcaaacgat acaaaaatgt ctttcgatgg agaattggaa gtgtatgatt 660
ctgaaaattt gagtaaaaaa aatttcgttg gaaaaataca agttcaagtt aaaggaaagg 720
aagtagctaa aagaggaggt aaggttattc atcgaagtaa tgtcaaaatg aatgatttaa 780
aggcatacca acgagaaggt ggtgtgtatt actttgtcgt gtatttaatc gttgagaata 840
aaaaagttgt tgagaagcag gtttatggta aacaattaca tcaattagat ttacaatttt 900
tactgcaaaa aaagcagaaa agcgtcacta taaaaatgta tgaaattgaa aatgaaaaaa 960
ttttatataa taattgcgta aaatatataa atgaaaagag attacaaaat caagtaggtc 1020
aagttaaagt aaagaacata gaaaaagctt tatcatatat agctacacct gaaaatattg 1080
tgatggatca tagaggttta ccattaaatg atttttatgg ctatataaaa attaattcat 1140
ctgaattaga tgtaactata ccagatggag tattaagtat ggaaaaagta aaaagagtga 1200
acaaaaagca gataataaaa gaaggcaagt tattatttga aggtatggta ggtattgaaa 1260
cttcaaagga gtccatctct ataactatag atgatatttt caaaattcaa acatttgaaa 1320
gtgataacaa aagtatatat acaatgttac catttaaaaa attaaatata gccgaacaat 1380
cttttaatgt tataaacgaa ttgtcgaaag gcggcgaatt ctttttggat caaatccaat 1440
tagtaatcca acctttttgaa attaatatta ttgaaataaa agaaacaata aataagttga 1500
atattaaatt atcagagtat agtaacttgc tttcgtttga tgtgagtcta aaatctacag 1560
aatttgataa gcagatgaat gagataaaag gtttattaga attattggaa tataaaaatt 1620
ttaaagattt taaaatgcat aataatggat actataaaat gaagttttgt ggaaaattta 1680
tattattatt taaagacaat acatcattgt ataatgtcta ctctaatgac tttgtagata 1740
gatttgaggc tgttacaaaa gaaagagttg tacagatgcc aattgtttac acattaacaa 1800
gagatatgat tgtagatgta ctgaattttg atataaatgt tattaaagaa tgtattgaat 1860
cagataaaat tgctattcaa tctgacatta aatgggagaa attaaataac tttgcattag 1920
aattaatcgc agcctatgat gaaactcaaa gaaccgattt attagaatta gctgaatatg 1980
tattaaataa tttgctgaat tttgataatg ataaaatatt tatgaactta a          2031
```

<210>57
<211>22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 57
cgtggagagg cgtatcataa gt 22

<210>58
<211>22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 58
gctccaaaac ccaacttctc aa 22

<210>59
<211>23
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 59
gccaaaatta aaccacaatc cac 23

<210>60
<211>30

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>60
aatctttgtc ggtacacgat attcttcacg 30

<210>61
<211>30
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 61
cgtaatgaga tttcagtaga taatacaaca 30

<210>62
<211>23
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 62
gccaaaatca aaccacaatc cac 23

<210>63
<211>27
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 63
attgctgtta atatttttttg agttgaa 27

<210>64
<211>21
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 64
tattgcaggt ttcgatgttg a 21

<210>65
<211>22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 65
tcaccgtctt tcttttgacc tt 22

<210>66
<211>23

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 66
cagcaattcw cataaacctc ata 23

<210>67
<211>26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 67
caggcatagc tatatatgat aaagca 26

<210>68
<211>26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 68
atgcctttaa atcattcaca ttgaca 26

<210>69
<211>4340
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400> 69

cttcatatga cgtctatcca tttatgtatg gcatgagtaa cgaagaatat aataaattaa 60
ccgaagataa aaaagaacct ctgctcaaca agttccagat tacaacttca ccaggttcaa 120
ctcaaaaaat attaacagca atgattgggt taaataacaa aacattagac gataaaacaa 180
gttataaaat cgatggtaaa ggttggcaaa aagataaatc ttggggtggt tacaacgtta 240
caagatatga agtggtaaat ggtaatatcg acttaaaaca agcaatagaa tcatcagata 300
acattttctt tgctagagta gcactcgaat taggcagtaa gaaatttgaa aaaggcatga 360
aaaaactagg tgttggtgaa gatataccaa gtgattatcc attttataat gctcaaattt 420
caaacaaaaa tttagataat gaaatattat tagctgattc aggttacgga caaggtgaaa 480
tactgattaa cccagtacag atcctttcaa tctatagcgc attagaaaat aatggcaata 540
ttaacgcacc tcacttatta aaagacacga aaaacaaagt ttggaagaaa aatattattt 600
ccaaagaaaa tatcaatcta ttaactgatg gtatgcaaca agtcgtaaat aaaacacata 660
aagaagatat ttatagatct tatgcaaact taattggcaa atccggtact gcagaactca 720
aaatgaaaca aggagaaact ggcagacaaa ttgggtggtt tatatcatat gataaagata 780
atccaaacat gatgatggct attaatgtta aagatgtaca agataaagga atggctagct 840
acaatgccaa aatctcaggt aaagtgtatg atgagctata tgagaacggt aataaaaaat 900
acgatataga tgaataacaa aacagtgaag caatccgtaa cgatggttgc ttcactgttt 960
tattatgaat tattaataag tgctgttact tctcccttaa atacaatttc ttcattttca 1020
ttgtatgttg aaagtgacac tgtaacgagt ccattttctt tttttatgga tttcttattt 1080
gtaatttcag cgataacgta caatgtatta cctgggtata caggtttaat aaatttaacg 1140
ttattcattt gtgttcctgc tacaacttct tctccgtatt taccttcttc tacccataat 1200
ttaaatgata ttgaaagtgt atgcatgcca gatgcaatga taccttttaaa tctactttgt 1260
tctgcttttt ctttatctat atgcatatat tgaggatcaa aagttgttgc aaattggata 1320
atttcttctt ctgtaatatg aaggcttttt gttttgaatg tttctcctac tataaaatca 1380
tcgtatttca tatatgtctc tctttcttat tcaaattaat tttttagtat gtaacatgtt 1440
aaaggtaagt ctaccgtcac tgaaacgtaa gactcacctc taactttcta ttgagacaaa 1500
tgcaccattt tatctgcatt gtctgtaaag ataccatcaa ctccccaatt agcaagttgg 1560
tttgcacgtg ctggtttgtt tacagtccat acgttcaatt cataacccgc ttcttttacc 1620
atttttactt ttgctttagt aagtttggca tcttcagtgt ttactatttt agcattacag 1680
taatctaaaa gtgttctcca gtcttcacga aacgaagttg tatggaatat aactgctctg 1740

ttatattgtg gcatgatttc ttctgcaagt ttaacaagca caacattaaa gcttgaaatg 1800
agcacttctt gattctgatt taagtttgtt aattgttctt ccacttgctt aaccatactt 1860
ttagaaagtg ctagtccatt cggtccagta ataccttta attctacatt taaattcata 1920
ttatattcat ttgctatttt tactacatca tcgaaagttg gcaaatgttc atctttgaat 1980
ttttcaccaa accaagatcc tgcagaagca tctttaattt catcataatt caattcagtt 2040
atttccccgg acatatttgt agtccgttct aaataatcat catgaatgat aatcagttgt 2100
tcatcttttg taattgcaac atctaactcc aaccagttta taccttctac ttctgaagca 2160
gctttaaatg atgcaattgt attttccgga gctttactag gtaatcctct atgtccatat 2220
acagttagca tattacctct ccttgcattt ttatttttt aattaacgta actgtattat 2280
cacattaatc gcacttttat ttccattaaa aagagatgaa tatcataaat aaagaagtcg 2340
atagattcgt attgattatg gagttaatct acgtctcatc tcatttttaa aaaatcattt 2400
atgtcccaag ctccattttg taatcaagtc tagtttttcg gttctgttgc aaagttgaat 2460
ttatagtata attttaacaa aaaggagtct tctgtatgaa ctatttcaga tataaacaat 2520
ttaacaagga tgttatcact gtagccgttg gctactatct aagatataca ttgagttatc 2580
gtgatatatc tgaaatatta agggaacgtg gtgtaaacgt tcatcattca acggtctacc 2640
gttgggttca agaatatgcc ccaattttgt atcaaatttg gaagaaaaag cataaaaaag 2700
cttattacaa atggcgtatt gatgagacgt acatcaaaat aaaaggaaaa tggagctatt 2760
tatatcgtgc cattgatgca gagggacata cattagatat ttggttgcgt aagcaacgag 2820
ataatcattc agcatatgcg tttatcaaac gtctcattaa acaatttggt aaacctcaaa 2880
aggtaattac agatcaggca ccttcaacga aggtagcaat ggctaaagta attaaagctt 2940
ttaaacttaa acctgactgt cattgtacat cgaaatatct gaataacctc attgagcaag 3000
atcaccgtca tattaaagta agaaagacaa ggtatcaaag tatcaataca gcaaagaata 3060
ctttaaaagg tattgaatgt atttacgctc tatataaaaa gaaccgcagg tctcttcaga 3120
tctacggatt ttcgccatgc cacgaaatta gcatcatgct agcaagttaa gcgaacactg 3180
acatgataaa ttagtggtta gctatatttt tttactttgc aacagaacca tattttatgt 3240
gttgttgttt gtggtgcatt agcagcaaac attcgtggtg aaagtgatgc tgttttagca 3300
tttgataatt tgaatgttgc tgattgagtt ggtttttgtg ttgaggcttg ttgtgcatct 3360
acgtcgcgcg tttcgtttac tgttgttgaa actgctgtag atggtttgtt agatggtgcg 3420
ttggatgtta ctttgttgtt tgtatcatca gctgttccct gtactgatgc tgatacgttg 3480
gttgccgctt cttcaccaga ttgatgagcc gcttcctttg ttggcgttac ttgttgctta 3540
tctgttgttg ctgcttgtgc tttcattggt gtatgctgct cagccgcgtt cgagacatgc 3600
cataatccca tcacactaaa aagcaaaacg agccatacac ttgttttaag taataaagct 3660
ttcatttcgt tccctccatt aactgtcata caccaatata ttatcataat ccttatatta 3720
aaatgtttga ttttatgtaa attatttata aattacattt aatatcgaat tattttacac 3780
atttcaatca atccgattca actcaacaac agccatttcc caccaacaac ataaaaaagc 3840
acccgataaa gtcgtttcac agcagtgcgg aactttatcg gatgactctc atttatattg 3900
tatatattgg tgttggaata gctttatccg tatcacatag caatacttct ttttccgtat 3960
caatatcgtg ttcgttcaat acttggccaa cactcatacg cgccaaatct ttcatattat 4020
tatcttgtga taaatgcgat aagtaaatac gtttcgtgtt acctgtaatc acgtctgtca 4080
tcgcatgacc cgcatcctca ttagatacat gacccatatc gcctaaaatg cgttgtttcg 4140
tcttccatgg ataacgacac attctcaaca tatcgacgtc atgattactc tcaaaaataa 4200
atgcatcgct gccacgtatc ataccttca tacgatcaga cacgtaaccc gtatctgtta 4260
aaatcgtaaa cttcttatag ttattatgga aaatataaaa ttgcggatct atcgcatcat 4320
gtgacacgtt aaacgattca 4340

<210>70
<211>29
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 70
atttcatata tgtaattcct ccacatctc 29

<210>71
<211>29
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 71
caaatattat ctcgtaattt accttgttc 29

<210>72

<211>29
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 72
ctctgcttta tattataaaa ttacggctg 29

<210>73
<211>22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 73
caagctccat tttgtaatca ag 22

<210>74
<211>27
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 74
cacttttat tcttcaaaga tttgagc 27

<210>75
<211>27
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 75
acaaactttg aggggatttt tagtaaa 27

<210>76
<211>23
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 76
gccaaaatca aaccacaatc aac 23

<210>77
<211>23
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 77
accacgaatg tttgctgcta atg 23

<210>78

<211>25
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 78
acgcaattgt taaaaatatg tgtcc 25

<210>79
<211>20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 79
tggcaatgca attcgtgaac 20

<210>80
<211>22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 80
ttccactccc aaaattttct ca 22

<210>81
<211>25
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 81
aatcgagaat aacaagaaaa tgaga 25

<210>82
<211>20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 82
ttggcgaaca gttgctagtt 20

<210>83
<211>26
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400>83
tctctttata atttgagctt ggttga 26

<210>84

<211>24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 84
tggaaaaagt aaaaagagtg aaca 24

<210>85
<211>24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 85
tggttataga aatggactcc tttg 24

<210>86
<211>22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223>Secuencia de ácido nucleico sintéticamente preparado

<400> 86
acccggacat taattcaaac ga 22

<210>87
<211>46392
<212> ADN
<213> Staphylococcus aureus

<400> 87

```
aaaatatcaa aaactgcaaa aaatattggt ataataagag ggaacagtgt gaacaagtta 60
ataacttgtg gataactgga aagttgataa caatttggag gaccaaacga catgaaaatc 120
accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 180
gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacagcatag aagttccaga cgaaaaagca 240
ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 300
ctagccaaaa tcaaaccaca atcaacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcca 360
tcttccgaag gattggccca agagttgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt 420
gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 480
gcactatcat tcagcaaaat gacatttcca caccaaatga tgagggttgt gttaattgag 540
caagtgtaca gagcgtttaa gattatgcgt ggagaagcgt atcataaata aaactaaaaa 600
ataggttgtg tataatataa aaggagcgga tttatattaa aactttgaat tcaaaaatta 660
ttgaaaggga agctacctta gaaattgaat ctatggctac aaatacattg aaaataaacc 720
cggacattaa ttcaaacgat acaaaaatgt cttttgatgg agaattggaa gtgtataatt 780
ctgaaaattt gagtaaaaaa atttcgttgg aaaaatacaa gttcaagtta aaggaaaaga 840
agtacctaaa agaggaggta aggttattca tcgaagtaat gtcaatgtga atgatttaaa 900
ggcataccaa cgagaaggtg gtgtgtatta ctttgtcgtg tatttaattg ttgagaacca 960
agtttatggt aaacaattac atcaattaga tctacaactt ttactgcaaa aaaaatagaa 1020
aactgtcact ataaaaatgt gtgaaattta aaatgaaaaa aattatataa taactgttta 1080
aaatatataa atgaaaagcg attacaaaac caagtagatc aagttaaagt aaagaaaaaa 1140
gaaaatgctt tatcatatat agctatgcct gaaaatattg tgatggatca cagaggttta 1200
ccattaaatg atttttatgg ctatataaaa attgattcat ctgaattaga tgtaactata 1260
ccaaacgaag tattaagtat ggaaaaagta aaaagagtga acaaaaagca gataacaaaa 1320
gaaggtaaat tattatttga aagtatggta ggtattgaaa cttcaaagga gtccatttct 1380
ataaccatag atgatatttt caaaattcaa acatttgaaa gtgataataa aagtacatat 1440
acaatgttac catttaataa attaaatata gccgaacaat cttttaatgt tataaacgga 1500
ttgtcgaaag ttggctaatt ctttttgat gaaattcaat tagtaataga acttttgaaa 1560
ttaatattaa tgaaataaaa gaaacaataa ataaattaaa aattaagtta tcagagtata 1620
gtaacttgct ttcgtttaat gtgagcctaa aacctacaga atttgataag caaatgaatg 1680
aaataaaagg tttattagaa ttattggaat ataaaaaatt taaagataat acatcattat 1740
ataatgtata ttctaatgaa tttatggata gatttgaagc tattacaaaa gaagaatctg 1800
```

tacaaatgcc aattgtgtac acattaacaa gagatatgat tgtaaatgta ctaaattttg 1860
atataaatgt tattaaagaa tgtgttgaat cagataaaat cgctattcaa tctggcatta 1920
aatgggagaa actaaataat tttgcattag aattaatcgc agcctatgat gaaactcaaa 1980
gaatcgattt attagaatta gctgaatata tattaaataa tttgctgaat tatgataatg 2040
ataaaatgtt tatgaacttg atcaaccaag ctcaaattat aaagagaaga aaaagtatgg 2100
tagattaaaa attgttaagc gacttatttg aattgaaaga taaattagtt gatatttata 2160
aggttgatat gaagaaattt caaaaaaatt ctggggaaag tgaaagggca gcttatagtt 2220
tcaatggtat tgcttttgat atattatgtg tcttattaaa taatatgaca gatgataata 2280
taccaaaagc aattacggat gaagatgtaa ggctgagaaa agatgcgata aaaaatattg 2340
atattaccca atatgcgaat tttattaaaa atgttaagaa tgatatagat aaaattgaat 2400
ttaaaccatt aaagttacat atacatgcac aaaaagcata ccaagatgta aaaaggtgtt 2460
tgattcaggc agtaaaataa acgataagtt acaattagct tctgaagtaa tgagtcaatt 2520
acctatagat aaacaagtgg aattaagtga caaaattgca cttgctataa atgaagttgt 2580
ttactcaaca ttttcagaaa gtaaatataa tgaacgaatt gatgaacaca atcaaacgag 2640
tgaaaagtca agtcaatatg attttcgata taattatttt gtaaatcaat taatagataa 2700
tgtaataaca gaagatatag atgaagagaa agcatttata tatgatagaa atgaacaatt 2760
agattggtta ttagttaaga tactaaataa agttcaaaga gctgcggatg gatggggaat 2820
gagaaatgct aaacttcatc acagaacaca aacatttaga gatatggaac attatttcct 2880
cagagatata tcgaaaatga tagataaaga gcttaacaaa aaggaaaact taaataagca 2940
atctaaaaaa tatgacttcg ataataagat aaaggtcata aatgacaata ttgagttttt 3000
taatgaagat gaacaaatta gaaaacattt actagagtta cgcaagcgat tagactttca 3060
ttctgcagca gtattagata agaaaaatca ttcacacata gggaatgaaa tgttccaata 3120
ttttatggat gatatgcagc aagttgtaac attgatagac cgatacatta ataagactga 3180
acattataat gatatgaaaa atggctatat taatgaatat aaatcatttt ataatgctta 3240
taataatgaa attgaagtga ctaagacgca cgaaaataac atcccaatgg caatgttaat 3300
gaagcaattt aagaatcaac tgttaaaaag aaggaataac cgaaaaagct ctaattgaag 3360
ttaagtagaa atttaataaa taattggtaa gctcaatccc tcatataaag ggattgagct 3420
tatttgcttg gtgggaattt ttttgaattt ttttgccact tcatcaacga cctctattta 3480
gtattaagat tgtcttgtca aaacgttttg aacaaatttt aagttgaaag tgagcgcgcc 3540
actttcaacc ataaaggaga agatttacat ggagacaaga gacaaactga tgtcgttgac 3600
tcagagtaac aaaatacagc aatggttaat ggacaaatca tctaaccaag atgaggttca 3660
acaattgcag caaccaattc agtcagccag ctagatcaac aatataatgc acttttagct 3720
gatgaaaaag ctaagttaga ccaatacgtg gaagtacatc aaggattgga atcattaaag 3780
gaagagattg aatcagaacc tattacgatt aatatcgata aattacccga tatcaaagca 3840
acaatgcttg aaagagccaa gaatgatgaa cattctgata agatcgaaaa gctatttgaa 3900
aggttagaac aggcattaag tggtacgaat cgattatata cgcaattatc gttgattggt 3960
acacgaacac atagaattac aactaaaaat tttaatcttc aaggcttacc taaagcagtt 4020
caacatacga ttttaccttc aaaatttaag aaggtgtata caatcgattt caactcattt 4080
gaaccttcgg ttgttgcgta catgactcaa gattcaaaac tgattgactt tttaaatcag 4140
aaagacggac tgtatgacgc attgctaagt gaattaggct tatcagatga gctacgagta 4200
tttgttaaac gtgcatttat tggttcgttt ctatttggcg gcaacttcca tagccctaaa 4260
ttcaagttga aacattatgt aagtgaagtg caatggttgg atgcggtcag ccaatttaca 4320
aaagtcattg aacttaagaa acaaatcgaa gagcataaaa ccatgcctat gccttacggc 4380
attgaacatg atatgagcgc attttaaggt agcagtatta tggcatttta tgtacaaact 4440
gtagcgagtt atattttcaa acacattcta ttggaagttt ataaagcgca gtgtacacaa 4500
aagagctttc aaatcatttt gccaattcat gatgccatta tgattgagtg cgacgatgaa 4560
gaaacagccc aaagtgtagc ccaactaatg aaaagtaaag ctaataaatt gtttaatggt 4620
gagtttgcgc acgtgacagt ggaagcatta ggaggtgtaa gcaatgaata atgatagagg 4680
tcaaagttta caaattccaa aatgcacctc actaacagaa ggctatatat acgttgcttc 4740
attatattct gtaatccaaa cagatttcaa tggtgatgtt aaacaccagt ttacgtatga 4800
aataaagata gatcagaaag ttatttatgt gaatcgtagt atttcaaaag atgctaccga 4860
taagcagtta tcaattactg attggcttaa acgtcatagt aattatagtt ccactcatga 4920
gaattataac ccttacattg atagaaagca tttaatctat gtgggtgtca atataacgga 4980
aactattatg ttcaagatgt agcaccatta gatggatttg gaggggtatt gtaatgaatc 5040
atattttaga aatgttaata aaattattaa aagtgggtat ggaggcaatc gaccgtaaag 5100
gtctgattgc catcctaaca agtagtattg gaaatgatga aatggatgat tctgaacaag 5160
ctgtaatggt gtataacgag cttatcgata aactacagct taacattcct aaagatgtcg 5220
actatagacc taacatatac agttattttg gtattcaaaa aaagccaaat gacacaatat 5280
tagtggaaat gatgataagt atttttaata tcaagcgttt tgattcagag ttgtttgttt 5340
tcaaagataa aggttggcaa aaggtaaatg aagatgaatt gcaaggactg atatctaaaa 5400
tgatacaagt gttgctagtt gattataagc cctcgttaag tattctaaag aatgtagtgg 5460
ttggcttaca aaattcaata gatgtagaag aactagttga gaataaacag tccattgcat 5520
gcggtcataa catgtttaat ctagacgcat ttgaagtggt tgaaaattct ataaagattt 5580
tctccgcaac acggttgaat ttagagttgg ttaaaagtga tgtcataact gaaaaaacac 5640
ctccacattt taatcgatac atgttagagt ttgctaattt tgattctgat ttacagtact 5700
ttctttttca acatatagcg gtgcttctta cagctaacac aaagtatcgc agagccttac 5760
tattatatgg tggatctaag aatgggaaat ccgtagttat taatttagtt aggtcatttt 5820

tctacagcga agacattgtg tctaaagcac ttaacgagct ttaaggccgt tttgacaaag 5880
agagcttggt gggtaaaaaa cttatggcaa gtgacgaaat tggggaatca aggattcaag 5940
aaaagattgt aaatgactta aaaaagttag tatctgttga accagtacac gttgatcgta 6000
aaggtaaaac acaagttgaa actactttgg atttaaaact tgcttttggt acaaatgcaa 6060
gacttaattt tccatctgct catgcgaagg cactagagcg tcgaattgct gttattccat 6120
gtgaatatta tgttgaaaaa gctgaccctg acttaattga aaagttacag gatgaaaaga 6180
aagaaatctt tctttacttg atgtatgtgt ataagcaaat tgtaaaaaat gatatcgagt 6240
acctccaaaa tgatcgtgtt actgaaattt ctcatgattg gttaaatttt ggatatgaat 6300
ttgtttctag taaatcagca agtattgaaa atcagaaagc gtgtattaat ttactcagaa 6360
aacttataaa aatcaaacca ggatcacgaa tcaaagtatc cgagttaaat acaagttatt 6420
aatgaagaaa taaaggtgag ttctcaggtt attaaacagt taattcaagc aaactttgat 6480
actcaaacca aactatacaa tggctacgat tattggattg atttaggttg gaaagaagcc 6540
gataaaaaag agattcatga tatttcggaa aaagataata ttatttcatt agataaaaat 6600
gaaaatataa cagacgatga ggcattagat gaagagaatt tagactttga ttgggaggac 6660
tttgacgatg aataatgaac aaattgaagc atttgtagaa gtgtttgtgc ctatcataga 6720
agaacgtatc aataaaggta agtactcata tgattaagtg gtaaaagtga taaaaagaaa 6780
tgaaattata aatatatatt atccatatga tgttacaaga ccgatggtct gtagcaataa 6840
tctaataaaa ggagcggtac attatgagta agaaaattgc actgtactca cgtgtaagta 6900
catctgagca atctgaacgt ggttattcaa tccatgaaca agagcaagtg ctcatcaaag 6960
aagttgtgaa aaatttcccg ggttatgact atgagacata tactgactca ggcatttcag 7020
gtaaaaatat tgaaggtcgt ccggcaatga aacgtctatt acaagatgtt aaggataata 7080
aaattgaaat ggtattaagt tggaaattga atcgtatttc tcgctcaatg agagacgtgt 7140
ttaatattat tcatgaattc aaagagcttg acgtaagtta tcaatcgatt tctgagaata 7200
ttgatacatc caatgcttct ggagaagtac tcgttacaat gtttgggttg ataggatcaa 7260
tagaacgttc aacactgatc agtaatgtca aaatgtcgat gaatgctaaa gcacgtagtg 7320
gagaggctat tacagataga gtgctcggtt acaagttgaa actcaatcca cttacacaga 7380
aaaatgattt ggttatcgat gaaaatgaag ctaatatcgt acgtgaaatt ttcgatttat 7440
acttggatca taataaagga ctcaaagcca ttacatcagt actgaatcaa aaggggtatc 7500
gtactattaa ttaaaagcca ttttcagttt atggtgttaa atatattttg aataatccag 7560
tctataaagg ttatgtcaga ttcaataacc atcaaaattg ggctgtacag cgaagaagtg 7620
gcaaaagtga taaaaatgat gtgatattgg tcaaaggtaa acatgaagcc attataagtg 7680
aagaggtatt tgaccaagtt catgaaaaat tagcttctaa aagttttaaa ccgggcagac 7740
ctattggtgg agatttctac cttcgtgggc tcaataaatg tccagagtgt ggcaataata 7800
tggtatgtcg tcggacttat tataaaacga aaaagtcgaa agaacggaca atcaaacgct 7860
attacatttg ttctttattc aatcgttcag ggagttctgc ctgtcatagt aatacgatca 7920
atgctgaagt cgtcgaacgt gtaatcaatg ttcatctaaa tcgtattttg tctcaaccgg 7980
atgtgattaa aaagattgcg tcaaatgtga tagaaaaact gaaacaaaag catagtaaac 8040
aaacagaaat aaaatatgat attgatagtc tagaaaaaca aaaagcaaaa gttaaaacac 8100
aacaagaacg attattggaa ttgttcttag atgatgaaat ggacagtgaa attttaaaag 8160
ctaaacaaag tcaaatgaat caacagttag aagtattaga ccagcaaatt aaagaagcaa 8220
aacaagcata tcaatcacaa gctgaaatac ccaattttga taagttaaaa ggacgactca 8280
ttttaatgat aacacgattc agtgtgtatt ttagaaaagc cacacccgaa gctaaaaatc 8340
aacttatgaa aatgttaatt gattcgattg aaattacgac agataaacag gtgaaactag 8400
tacgatataa aattgatgaa agtcttatcc ctcaatcttt gaaaaaagat tgggggtctt 8460
ttttatgccc aaattccaat tcgaaatata tggtcaaaat gattatttca tcaaccaaat 8520
taccactttt accacttagt tattagtgaa aaaagtgaga gaaatgaaat aaaaatcaaa 8580
tatatatcat ctaaatgata tatcacatgt atacatcaac caaatacatt aggaggttat 8640
aacaatgaca ttagaactac aactcaaaca ctatataacc aatttattca acctaccaaa 8700
ggatgaaaag tgggaatgtg aatctatcga ggaaatcgct gatgatatcc tacctgacca 8760
atatgtaagg cttggggcac tcagtaataa aatacttcaa acctatacct actactctga 8820
tacacttcac gaaagtaata tctacccttt cattctctac tatcagaaac agctcatagc 8880
catcggctat atcgatgaaa atcacgatat ggatttctta tacctacaca acaccatcat 8940
gccacttttg gatcaacgat acttactaac aggaggacaa taatatgcat aaatatatca 9000
aaattacaca attagtaatc acaatactaa gtgaaatcat catttggatg aaagagtcag 9060
aacgaaagga agtctcttat gaatagatat atcacccgtg gtatcgccaa caacttacct 9120
actgcattac aacatcaatt atggcaattt gtagcacaac gtgaaaacga acagtccaag 9180
gaactagaag caatagatta ttttcatgta ttccagttca acatgcacaa taatcaatta 9240
tatgtaaaac acaaacaaga acgtcctgag tatgtcaaaa ttcataaagc gaattattcg 9300
aaagatctca atattaataa ggtctacatt atccgagaat atgatgtaga ctttttctta 9360
ctatgtcatg ttactacccg aagaatatta ataggaggca tcaatcatgc agaatataca 9420
atgtacatta gaaactgaag caatatttag tgacgataat caacatcgtt acttactcaa 9480
aaaacatggg acaatgataa aaagataatt tcagttataa cttgttatcc aaattttgaa 9540
ggaacgaaaa aattagattt aacgactcaa ctaattatga acaaagttgt agaaatggat 9600
gaatttggtt ccatcaattt tgtgaatcta tactctaata ttacaacacc gattaatttc 9660
aaacatttag aaaccctcta tgatgcctat gataagcata cagatattca aattatgaag 9720
gcagccaagg agtcagatga agtaatagaa atgttgaaac cacataagaa gaaagtgaaa 9780
caactcatta accccgaaag ctcgtcgcaa gtggatatat aaacaaaaca ctatttaaaa 9840

taattataca aaagcgaagg tatttaatgt attttaataa gaaaaagcaa gaaaaaattg 9900
actaatataa aaattacatt cgagaaatta tattaaacgg aaaacaagtg atttgttgca 9960
taaatttata aaagtagtga aattatgaga acgtatagct gtattgattg ctacatttat 10020
tttgatgaca atattataga tatcgttgtt gtatggagct atggcgataa gtatatttgg 10080
tggaaatgat gaaatgttaa ataaagaact taattcactg caagaagcga tatgaaagta 10140
tgttaaggga gtaaaatatg acattaccaa atttattaaa ttattattaa tgcaattttt 10200
atgtgtattt cttgtagtac aagtaggact tgtatctgga ggtagtgttc tacttgcagt 10260
agtatatctt gaaattttag ggtcttattt taaaaggatt tttacaatta aatggccact 10320
cggtaaagat gtagcaaaaa ttatagaaaa ttactttggt gaacctgtat aaatcagaga 10380
ataattatta aaaatagaac atttcctacc tttcatagta ggaaatgttc tatttaattt 10440
atatttttc taacgaaact agaatacacc tactttgata acttaattaa cataagtaga 10500
ggtatagtcg tattttgtca ctttccaata tttacaaact atcttcaaag tcaatgcttt 10560
atctgaaaaa aattttcaaa gattttctta aaatttacga aggaatgact tattgtgaaa 10620
aacttgtttt ttaacatata acttaaagga gataatatat tggattgtgt ataccgattg 10680
tacgaaagca gatcatggat aagtacaccc aaagtaatta agtatgatta taaatcgaaa 10740
gttataatat tgaacaagat aaaagttaaa atatgtattt tatgtatgat attttggctg 10800
atatttatta tattgctcca aaattaaacc gttactttta gcaatatctt aaattttaat 10860
cataaaacat catgcaaata aacgaagtaa gttgttaatg aattttgatc gctttgaaat 10920
taatgaaaat cgatcaacaa taacaatcgt atcaatcgtc acacgagcat taaatgaaaa 10980
atctaaatac aatcaaaaac ttttaaatct atattgattt aatttcaatg tttgattttc 11040
aattaattta acaattaatt tgggagatct atatcaaaga cattaataaa atgaaattaa 11100
agatacccaa taaatagaac cacagtataa attatatcag tatgcttata taatttttga 11160
aatctttaaa caaatgaagt aataattgag aaaagtgtag ttaaattatt tttcttgaaa 11220
ttatttgtta catagcattt cgatgtaaaa ttcacttttt ataagtaaat ttaaaaagag 11280
tttgcaaaat atacagggga ttatatataa tggaaaacaa gaaaggaaaa taggaggttt 11340
atatggaaag tacaattgat ttatctgaat tattaggaag agtaagaaaa aatatgaaat 11400
tattaataat attaccactt ttaggtctgc taattagtgc aataatttct tttttctttt 11460
tagatgtaaa gtaccaagct tctactcaaa tattagtgaa tcaaaaagga aatgactcac 11520
aaattatggc acaagaagtt caaagtaata ttcaactagt aaacacatat tcagagatag 11580
ttaaaagccc acgtattcta gataaggttt ctaaagaatt agatgataaa tattcacgta 11640
gtgagatatc aagtatgtta accgttacca accaagcaga gtctcaagta ttaaatattg 11700
atgttgaaag taaaagtggt agtaattcag aaaaaattgc taataaaata gcagaagtat 11760
ttagtgatga agtgcctgat attatgaatg ttgataatgt ttctgtttta tctacagcgg 11820
ataatacagg aaaacaagtt gcaccaaaac ctatggttaa tttagttgtt ggtttagtaa 11880
taggattggt tatcgcatta ttaataattt ttataaaaga agtgtttgat aaacgtatta 11940
aaacagaaga agaagttgaa aatgaattgg tgatacctgt actgggttca atccaaaaat 12000
ttgattaagg agggttttat ctatggcaaa aaagaaaagc actatatcac cactatatgt 12060
tcatgataaa cctaaatcga cgataagtga aaaatttaga ggtattcgat caaatatcat 12120
gttttctaat gctgaaaatg aaataaaaag cttgttgata acttctgaaa aatccgcatc 12180
tggtaagagc atactttcgg caaacattgc agtaacatat gcacaggcag gttacaaaac 12240
attaattata gatggagata tgagaaagcc tacacaacat tatatctttg atttgcctaa 12300
taatagtggg ctatctaatt taattattaa taaaactaca tatagcgatt caattaaaga 12360
aactagagta gagaatttaa acgttttaac agcaggacca acaccgccta atccttcaga 12420
attaattgct tctagcaaat ttgcaactat atttaatgaa cttttgaatc attatgactt 12480
cattgtgata gacacacctc cgattaatac agtaacggat gctcaagtat atgcgcgaat 12540
agtaaaaaat tgtgtgcttg tcatagatgc tgaaaaaaat aataagagtg aagttaagaa 12600
agcgaaaggt ttacttacta aagccggtgg gaaagtatta ggcgcagttt taaataaaat 12660
gccaattgat aaaaattcta gctactatta ctactatgga gaagattaag aatggttgat 12720
atacataatc atattttggt tgatgtagat gatggaccaa aaagcattaa tgaagcaatt 12780
gagttgctta aacaagccca aagtgaaaat gtaacagata tagttgcaac acctcaccat 12840
cttcataaga gatatagtaa tgatattgaa aaagtgaaaa taaaattaaa tgaattaaaa 12900
aataactcag aaataaaaaa attaggactt aatttatatg ttggacaaga gattcgtata 12960
acggatcaaa ttatagaagg tataaaaaat aaagagattg aaggaattaa tgaatctagg 13020
tatttgttaa tagaatttcc tagcaatgag attccttatt atacgaatca attattctat 13080
gagttacaaa caatgggata tattccaatc attgcgcatc cagaacggaa taaagcgata 13140
gttcaaaatt tagatttact atttgaatta ataaatggtg gtgcattaag tcagattaca 13200
gcttcttcat tattgggaga ttttgggaat aacataagaa aattatcatt aaaaatgata 13260
gatagtaatt tagcacattt tattgcatca gatgcacata gtataacaaa tcgacctttt 13320
atgctaaaac agttgtttaa tgatagaaag ttaaaagctt attatgagga attagaaagt 13380
tatttaaaaa acgggaagtt agttttaaca aatgaaagaa tttccaaaca gataccaact 13440
caagattata agcagaaaaa atggtttggt cttttataga aaaagtgagt gaggggatta 13500
aaagtgacaa gtatttctgc gaaattgcga tttttaatat taattattat agattcgttt 13560
attgttacat tttcagtatt tttaggatat gcaatattag aaccgtattt taaaggatat 13620
tcaatagatt tattagtatt atcatctgtt atattgttgg tatcacatca tatattcgca 13680
tatgtattta atttatatca tcgagcgtgg gagtatgcga gtgtaagtga attgatgtca 13740
gttttaaaag cggttacaag ttcaatagtg gtaacacttt tattagtttc attacttata 13800
agtgaaagtc catttctaag gttatatttt ataacgtgga tgatgcattt gctattgatt 13860

ggtggctcta gattgttttg gcgggtttat agaaggtatt ttattgataa cgctgtcgaa 13920
aaaaaagcca cattagtagt aggggctgga caaggcggat ctgttttaat tcgtgaaatg 13980
ttaagaagcc aagatatgcg tatgcaacca gttttagctg ttgatgacga taaaaacaaa 14040
caaaaaatga ctattactga acgtgttaaa gttcaaggtt atgttgaaga tataccggaa 14100
ctagtaaaaa aatttagaat aaaaaagatt attattgcta taccgacatt aagccaaaaa 14160
aggttaaatg aaattaataa aatatgtaat attgagggcg ttgaattatt taaaatgcct 14220
aatatagaag atgtgttatc tggagaatta gaagtcaata atttgaaaaa agtagaagta 14280
gaagatttac ttggaagaga tccagttgaa ctagacatgg cattaatttc aagagaatta 14340
acgaataaaa caatattggt aactggagct ggaggatcaa taggttcaga aatttgcaga 14400
caagtaagta aatttgatcc tcaaaaaatt attttgttag gacatggaga gaacagtatt 14460
tattcaattc atcaagaatt aagtaaaact tatggaaata gaattgaatt tgttcctgtt 14520
atagctgatg tacaaaataa aacacgtatt ttagaagtca tgaatgaatt taagccatat 14580
gctgtttatc atgctgcagc acataagcat gtaccattaa tggaatacaa ccctcatgaa 14640
gctattagaa ataatatttt aggtactaaa aatgtagctg agtctgcaaa agaaggagaa 14700
gtaagtaaat ttgtaatgat ttcaacagat aaagctgtaa atccatctaa tgtaatggga 14760
gcaacaaaac gcattgctga aatggtaata caaagtttaa atgaagataa ttctaagaca 14820
agttttgtag cagtaagatt tggaaatgtg cttggatcaa gaggatcggt catacctcta 14880
tttaaaaatc aaattgaatc aggtggtccg gttacagtaa ctcaccctga aatgacacga 14940
tatttcatga ctataccaga agcatcaaga cttgtattac aggccggggc attggcacaa 15000
ggtggcgaag tatttgtgct agacatgggt aaaccagtta aaatagttga tttagctaag 15060
aatttaatac ggttgagcgg taaaaaagaa gaagatattg gtattgaatt ttcagggatt 15120
agaccaggag aaaaattata tgaagaatta ttaaataaaa atgaaattca tccgcagcag 15180
gtatatgaaa aaatttatag aggcaaagtt gaccactata ttaaaacgga agttgatttg 15240
attgtggaag atttaataaa taatttctca aaagagaagc tcttaaagat agcaaataga 15300
taaatataaa atgtatattg gagttttaaa atgaaactaa agtacaaagt aattttaatt 15360
ataaattttg ttacagtatt atttagtata tttacattca tcggttattt aaataacttg 15420
ataggtttta gagttgttac aatatcatta tgtataacta tagctatgac cgtgtactta 15480
ctttacaaaa aaagaaaagg ttttttatta gtttatttaa tatatttatt tttaactaat 15540
tttggtgtat ttgtaacaaa tatattttta gccaatcctt tagtggagta tcacggtgat 15600
ttatcttggt attatataaa tacatctaat ttgtttagca ttgctacttt tgcgatatta 15660
acttttacaa ttttaagtaa ttttattagt gtgtttagca aaataaatcc aagtagaaag 15720
tttgatatta aaagtaaagg aaataattta ttctactaca caggaatatt atttatcatt 15780
ggatttacta tacaatttct tttttatatt ataactggtc gattagcaat taatacttat 15840
ggagattatg taagtagcat acaagaatta ccaatgtata cgtacggtat attctttttt 15900
tcaattggga ttgcatttgc attttctaat gtaaaaaaaa cacatattaa atatctagta 15960
attatattaa ctccccaagt gttatttttt ttaataaccg gaaatagggg agaagtattt 16020
tatccaattc tatctgcact tggagtgtta atagtaagga attataaaat taaatggtgg 16080
atgataatta caattgtttt tacattattt tttgtaatac catttattaa agtctttaga 16140
aatatggata gtagctcaat tgaaaaggtt gatataaatt ggttttcttc acttgttgaa 16200
ataggctaca cactgcgccc tttaggttat gtaactaggt ggattgacgg tggggaaagc 16260
atagtttatg gcaaaagtta cttagcacct attcaaaata tattttcata tattatacca 16320
gggttacaac ctgtaaacta tgaaatggtt ggttacggtt ttaggtatag actacctggt 16380
atgggtttta atgtaatagc agaagcgtat tacaatggtg caattgttgg agtattgatt 16440
gtaatggtgt tattagtgct tttactttgg aaatttacaa attttaaatc ttttgaaatg 16500
ctgtcaatgg gtactgcaat tgtaagtgta ttaatcaata atataagaaa cgcattttca 16560
ttcgtacctg catacatatt aattatcatt gtaatagtga ttatattgct gtttatagat 16620
agttatttaa aaaaagaaac gaaggccgat taaagtggtt aaaaatttta attatatgtt 16680
tgttgctaat atactgtctg cattgtgcaa atttttaatt ttactagtaa tagttagatt 16740
aggaacacct gaggatgtag gacgttataa ttatgcttta gttataactg ctccaatttt 16800
tttatttata tccctgaaaa taaggtctgt aattgtcacg aatgataaat atagtccaaa 16860
tgaatatata tcagcaattt tatcattaaa tattattact ttaatatttg ttgcaatttt 16920
tgtttatgta ttaggaaatg gtgatttaac tactatatta atagtatcgt taataaaatt 16980
atttgaaaat ataaaagaag taccttatgg aatatatcaa aaaaatgaga gtctcaaatt 17040
actcggaatc tcaatgggta tttataatat actaagttta attttgtttt atattatata 17100
ttctttttca cacaacttga atatggcact tttatttta gtaatatcct gtatattctc 17160
atttgctatt atcgatagat ggtatctaag taagtattat aatataaaac tacactataa 17220
taacaacatt gcaaagttta aggagatttt tattcttaca atacctcttg ctttttcaag 17280
tgcgttagga tcattaaata caggaattcc tagaatagta ttagaaaatc tatttggaaa 17340
atatacatta ggtatatttt ctacaattgc gtatgtactg gtaatcggtg ggttattcgc 17400
aaattcaatc agtcaagttt ttttacccaa attaagaaaa ttatataaag atgaaaaaaa 17460
aattgaattt gaaaagttaa ctagaaaaat ggtgtttatt ggaatttta ttggtatgtg 17520
ctcggtaata ttgagtttgt ttttaggtga ggccttgtta tcattgttat ttggtaaaga 17580
atatggtgaa aataatataa tattaatcat tctttctttt ggtttgcttt ttatactcag 17640
tggtattttt ttggggacaa ctataatagc cactggaaag tataatgtga attacaaaat 17700
ttctctaata ctattgtttt gtattttgat atttagtttc ttattaatac caaaatattc 17760
tttattaggt gctgctttaa ctattactat ttcacaattc gttgctttaa taagctatta 17820
ctatttttac aaaaggatat tttgaggtgg aaaatatgaa aaaattattt ttaaagttaa 17880

tgaaaaggaa tctatctgaa gataagataa ggaaattggg tgtacaagtt ggaaatgatt 17940
gtaggttttt aagtgttgat agatcaacat ttggatctga gccttacctg attcaaatag 18000
gaaatcatgt aacaataact agtggtgtaa aatttgctac ccatgatggt ggggtatgga 18060
tttttagaaa aaaatatcct gagatagata attttcatag aatatttatc ggtaataatg 18120
ttttcatagg gattaattca ataattttgc caggagtaac aataggaaat aatgttgtag 18180
taggtgctgg gagtgtggta acgaaagatg tacctgataa tgtaattatt ggtggtaatc 18240
ctgccaaaaa aattaaaagt atagaggcct atgaaactaa aatattagaa aatgcggatt 18300
acacaaaaaa acttaattat aatgaaaaga agatatattt attaaataaa ttcaaagaga 18360
ataggtataa ttaatgatta aagttatgca tatatttagc agaatgaatc gtggcggtgc 18420
agaattaaga actatggata caatgaaact attaaatagg gagtttgagt ttcatgtatg 18480
tgctacatca ggaaaaaggg gcgaattaga tgatgaatta gaatctatgg gtattacgat 18540
acattattta gatattaaaa aatttagttt tcctttcaag ttcataaagt tattgaaaaa 18600
gaaaaatata gatgttgtac atagtcacat acttttatg agtggattga ttcaattact 18660
ttctttttca gcaaatgtaa gaaatagaat aacacacttt agaacttcca aagatagtaa 18720
agaacaatat aataaaataa gaaaagctag aaataaagta ctgaaagcca ttatagaaat 18780
ctttagtacg aaaatcttat atgtaagtaa tatagcaaat aggaatttaa tctcaatgaa 18840
actttttccg aaaaaacata aaactattta caatggattt gaaataagta atataaacaa 18900
aaattttaaa aaagaggaaa atagttttat ttatgtcggt aggttcattc atactaagaa 18960
ccaattattt ttgttagatg taatagaaat tttaaaaaaa gaatttaata ctaacattga 19020
aattactttt gttggcaata ttcaaactga ttatggaaaa aaattcttga gtatagcaaa 19080
tgaaagaggt ttaaataaaa atattaaggt tattggagaa gtgaataacc cattagatta 19140
tttaaaaacg agtgaatatt ttttgtttcc tagtgaatta gagggattac cgggagcatt 19200
gatagaagcg catcatcaca attgtattgt tatatcttcg aatataaaag aaaattctga 19260
agtaaatcaa tattttaaag actcttcatt tgaattagaa ttaattccaa aaacttgggc 19320
ctcaactatc aaaaagctaa tttcaaggaa aaagcatata agttttaatg attctaatgt 19380
ttttgatatc aatatgacta cacaagaatt aaaagaaatt tatatgagta aaactttata 19440
gatgaaggga ttgattttca tgaaaatatt aatcacaggt acagcaggtt ttattgggtc 19500
acatcttgcg aaaaaactaa ttaaacaagg tcattacgtt ataggtgtag atagcataaa 19560
tgattattat tcagtttctt tgaaagagga tagattaaaa tcaataggga aagagaattt 19620
cacttttaat aaagtgaaat tagaaaatta tgacgattta tctaaagtat ttgtagatga 19680
acaaccagaa gtagtagtta atttagctgc tcaagcaggt gttagataca gtattgagaa 19740
tccaaggacg tatattgatt ctaatattgt cggttttatg aacattttag aatgcagtag 19800
gcattttaat attcaaaatt taatttatgc ttcatctagt tctgtttatg gtgcaaatac 19860
ttctaaacca tttagcactt cggataatat tgatcatccg ttaagtttat atgcagcaac 19920
taaaaaatca aatgagctaa tggcacatac gtatagtcat ttatacaatt tacctacaac 19980
aggattgaga tttttcacag tatatggtcc atgggggaga ccagatatgg cgctatttaa 20040
atttacaaaa gcaatcgtaa atgatcaagc tatagacgtc tataatcacg gaaatatgat 20100
gagagacttt acttacgtgg atgatattgt tgaagcaatt agtaggcttg ttaagaaacc 20160
agcgtcccct aataaagaat ggtcaggggc cgaccctgac cctggttcct catatgcacc 20220
atataaagtc tacaatattg ggaacaacag tccagttaga ttgatggaat ttgtagaggc 20280
tatagagaat aaattaggca aagaagctag gaaaaactac atggatttac aaccaggaga 20340
tgtacctgaa acttatgcaa atgtagatga cttgtttaga gatattgatt tcaaaccaga 20400
aactacaatt caagatggtg taaataaatt tgttgattgg tacttagaat attataaaaa 20460
atgaagaaaa agggtgtttt aatatgcaat tactctttgt acatgatttc ccagttgaaa 20520
aatataaaga taattattac tcaataggct tctctcacaa aatttggaat cgatatttaa 20580
ccatttttga taaaatgctc ataaattcaa gagtgaaaaa tgtagataat ggggaaatta 20640
ttaataaatc gaatggagaa aaagtgaatt tcaaaacaat agatagctat aaatcaccta 20700
aatctctaat ttttaaacat aaaaaaatat ttgaagccct tacaatttct atcaagaaaa 20760
gtgatggtgt tttaattagg gtaccaagtg ttttaggatt tattgcagct ctaatatgta 20820
aaaaaatcaa taaaccttat atggtggaag tagttggtgc agcatttgac gcatattggt 20880
ttcatggatc aatatttgga aaaatttttat cgttacctat ggaatattta caaaaaaatg 20940
cagtgaaaaa tgctagcata gcgatttatg taactaagaa atatttgagt aacaaatatc 21000
cttgtaacgg gaaagagttt aaaggcattt caaacgtaca atctgtagaa aaatttaata 21060
agaatttaga tattgggaat aaaattaaaa ttggacttat tggatctacg tttgttgatt 21120
ataaaggaca taacgtagct ataaaatcaa taagtaattt ggtgaatgaa ggttataaca 21180
ttgaattaga atttgtgggt gatgggccca gtaagaaatt tatggaaatg gctaaaaaat 21240
acaatgttga aaataatgtt atatttaaag gtaaaattta tgacaagaca gcgttaaata 21300
attggtttag aaatttagat ttgtatattc aaccaagttt aacagaggga cattgtcgag 21360
caattgtgga agcaatagga aatggagtgc ctacattagc gtctaatgct ggtggtaatt 21420
cggatagtgt taacaaagaa tatttgttta aaccaaaaga tgtagttaaa ttaacaaaac 21480
taattaatag atctatttttg tctaagcaat atcgagaaga aaatgtttta gaaaacaaaa 21540
aaaatatttc aggttacaac ctggaaaata ttcaaataga aagagaaaaa gcactactta 21600
attataaaaa aataataaat gatttttatt tagcgaaagg aataaataaa aatgcttaat 21660
tatatatata atcattcacc aataattttc caaaatttaa tggtttcaat aaagggtaaa 21720
atattcatga aacaaagata tactaaacat tattatgaag aaataaagag acttagagag 21780
tgtaatgatt tatttgaact tcaaaatcaa agatttgaag aattttataa ttatatcaaa 21840
aaaaatagtg aattttattc tgaaataatt aaaaaaaata atctaagcgg taaaaaaatc 21900

actgttgcaa atataaacca attgcctgaa attacgaaag atgatattag aaaaaatgtt 21960
gataaaatta ttactaaaaa gaaaaataaa cttataaaaa tgggcactgg cggttcgact 22020
ggtaaaagta tggtttttta tactaatgca tatgatatgt ctagaaaaat agcttacctt 22080
gattatttta aagaacaaca tggggtatat aaaggtatga aaagagttag tgtaggtggt 22140
agaaaaattg taccaattaa acaaaaaaag aaagtatttt ggcgatataa taaaccacta 22200
aatcaattaa tgatatctgc ttatcatgct gatggtgaaa atcttaaata ctacattaaa 22260
aaattaaata aatttcagcc tgaaactttg gatggctata ctacagttat tcataggatt 22320
gcgagatata ttttagataa caatatagaa ttaagtttta caccaattgc tatttttcct 22380
aatgcagaaa ctttaactga tttaatgagg gatgatattg aaaaagcttt taattgtcca 22440
gtgcgtaatc aatatgcttc ttctgaagga gcacctttta ttacagaaaa caaagaaggc 22500
gaactagaaa ttaatgtagc tactggagtg tttgagtgta aacaaattca tggtaatatc 22560
tatgaattaa tagtgacagg tttttatact actactacac cattattgag gtataaaatc 22620
ggagattcag tagaattaga aaatgagctt cccgtaaatt atcaacaaaa agatataaaa 22680
attaaaagaa ttatcggtcg taacaatgat tttttacagt ctagagaaaa aggaattgta 22740
actaatgtga atttgtcaac agcaataaga tttgttgaga atgatgttat tgaatcgcaa 22800
tttgtacaga atgatattga taacattatt gtgtatttag taattagtaa tgatgcggat 22860
aaaaataata ttataaagaa attaaaatat gagttgaaat tcaggtttgg tacaaatact 22920
aatttccatt ttgaatttgt taataagata ccatcaacac ctggtggaaa aaaaagattt 22980
gcaattaata acattaaata aggggataag aaaatgaata gaaatattgc agtagtaggt 23040
ttaggttatg taggtttacc agtagctgta acttttggga ataaacataa agtaatcgga 23100
tttgatatta atgaatcaag aattaaagaa ttaaaaaata attatgatag aacaaatgaa 23160
gtaacagaaa ataaattaaa aaacacgaat atagaatata cttcaaatgc agaagatttg 23220
aaaaaggctg attttattat tatagctgtg ccaacaccaa tcgataagca taataaacct 23280
gatttattac cattattaaa agccagtgaa actgttggga aggtaattac tccagacaca 23340
atcgttgtat atgaatctac agtttatcct ggcgcaacag aagaagaatg tgtacctgta 23400
ttggaaaaat attctggact cgtttgtggt aaagattttt ttgttggtta ctcacctgaa 23460
agaattaatc ctggggataa ggtacatact tttgaaacca ttactaaggt tgtatctggc 23520
caaacgcttg aagtattaga aatagttgca gacgtatata gttcagtagt cacagcagga 23580
gttcataaag catcttctat taaagtagca gaagcagcaa aagtcattga aaacacacaa 23640
cgtgatgtaa atattgccct aatgaatgaa ttggcaatta tttttgataa attagatata 23700
gatactaacg aggtattaaa agcttcagga acaaaatgga acttcttgaa ttttaaacca 23760
ggattagtag ggggacattg cattggtgtg gacccatatt atttaacaca taaagctcag 23820
gaagttgggc accatcctga agtgatttta gcaggtagaa gaataaatga taatatggct 23880
aaatatattg cttctaacgt tattaaagag ttattgaagc aaggattaga agtacaagga 23940
gcaacagtta atgtgctagg tcttacattt aaagagaatt gtccggattt aagaaataca 24000
aaggttattc atattattga agaactgaaa gagtatggat taaacgtaac agtgaatgat 24060
gttgaagcgg ataaaaatga agctaaaaag ttctttggtt tagatttgat agatacaaaa 24120
gaattaaaaa tggtggatgt agtgttattt gcagtgccac ataaagacta tatggaaaat 24180
aaaaaggatt atatcaattt agttaaagat tgtggcatag tgtttgacat taaaggcata 24240
atcaatagtg atgaacttaa tgtaagtcaa cgattatgga gattataagt gtaaaattac 24300
attgtgaggt tttgtatgaa aaatcaaaaa atatttcatt tagttactgt ttctaagagt 24360
attccactta tgagaggaca aatagaattt ttaagaaaaa aaaatatgga tgttcacatt 24420
gtttcgagtg atggtaagga attaaagcag tatgataatg aaatagctca tgttatacct 24480
atgaaaagag atatagcatt attcagtgat ttaaagtcat tattaaaaat gatattacta 24540
tttcacaaag aaaaaccatt tattgttaat tctggtactc caaaagcagg attaatagga 24600
acaatagctg cgtttattac ccaaagacct attagaatat atactgtgag aggtttaagg 24660
cttgaaacag ttaaaggatt caaatatttt gtattgtatt tgatggaaaa gatagcaatg 24720
ttttgtgcaa ctgatataat agcaatttct gaaagtttaa agcataaaat tattacatct 24780
aatttggcta aggaaaataa aattactgtt ttgggatttg gtagttctaa tggtatacaa 24840
tttgaaaaat tccaattaga taacaataaa ttagaagaaa aataccataa attattaaat 24900
gataattttg ttattggcta tgtaggaaga attgtaaaag ataaaggtat acatgaatta 24960
attcagtcat ttaaaattat tgtaagtaaa ggatataatg tcaaattgct tgttattggt 25020
agtttagaga cagaaaattc tattgatgaa tctgactatt tatttttaac tcaaaatcct 25080
aatgtagtac taatcaagca tgtttcagat ccaatttcat tttataataa tatgaatgta 25140
tttgtttttc caactcatag agaagggttt ggaaatgtta gtatagaggc tcaagcactt 25200
gaagtgccag taattactac taatgttaca ggcgctattg atactgtagt aaatggagaa 25260
actggattta ttgttgaaaa aggtgacttt aaagcaatcg ctgaaaaaat tgaaaaatta 25320
attaatgacg agagtttaag agaaactatt ggtcataatg gaagaaagag agtggaaaat 25380
aaattttcaa gccaaattat atgggaagaa ttggaaagta tgtacaatac ttttctaaaa 25440
gaaagtgagg gaaagtaatg aaaagaatat ttgatatatt tagttcatta tatgcaatta 25500
ttatattttt gccgctgctc tttctagtgt ctattgcaat taaaatagag tctaaaggtc 25560
cgattgtatt taaacaggac cgaccaggcg taaagaacaa attatttaaa atttataaat 25620
ttagatctat gagacaagat accccaaatg tagcaactga taggttagac cctgcagatt 25680
atattacaaa aactgggaag ttcattagaa aaacatcatt agatgaatta ccacagttat 25740
ttaatatttt aaaaggtgat atggcagtag ttgggcctag acctgcttta tataatcagt 25800
atgaacttat tgaaaaaaga actaatgtaa atgttcattt ggttaagcca ggattaactg 25860
gcttagcaca agttatgggc agagataaca atacggacga ccaaaaagtt caatatgata 25920

agttttatgt tgaaaaccaa tctttcaaat tagatatgta tattatttat aaaaccataa 25980
aaaacactat atcttctgaa ggggttagtc actaatgaaa aatatattaa tcacagggaa 26040
aaatggattt gtaggtaatc aatttcaatt attattaaat aatgataatt ataaagtcga 26100
tagagtcagt ttgaaaaata atgattggaa gttttgttca tttgaaaatt atgacgtaat 26160
cattcattta gcagcattgg ttcataataa tcaacccaat gctaaaataa ttgattatat 26220
gaatacgaat taccatttaa ctagagaact agctaaaaaa gctaaagatg acggtgtaag 26280
tcaatttata ttttttagta ctatgggtat ttttggcatg aatggtttaa ttaataaaaa 26340
atgtgaaatc actcaattaa ctccatataa acctaaaagt gcatacgact attctaaatt 26400
gttagcagaa agagatattc aaaaattaat tgatgacaaa tttgtggtaa atatcgttag 26460
accgccaatg atatatggta aaaagggacc gggtaatttc gctaaactta taaaagttgc 26520
aaatttatca agaatatttc ccaaatatca taatgaaaga agtgttatac atatagataa 26580
cttatataaa catattttac acttattgaa gaatgaaaaa tctgatatca cacatccaca 26640
gaatatggaa tatatgaaca ctaatactgc tttatcattg attagaaatc atttaggaaa 26700
atcgagtgaa cttatagaaa ttccagtgcc aaatttcatt aataaaatta ttgaaaaatc 26760
aaatattgcg aacaaaatat atggaaattt aacatactca aaaaatatag acgatagaga 26820
aataaataat atgcattttg acaattttaa tcaaactatt agtaaaactt taaaataaaa 26880
aattatatga taaaagattt gttatgataa ataaatcgtt aacgaaaaaa taggcttaac 26940
tgttataatt ataccaatat tattattatt tatagtaggt tttgttttta taaattaata 27000
gttttaaata gcttaattaa tgatctacta gaaaaggcag gttcccattt ctattgacta 27060
ttttcgatta atgtgaaagg tcaaaaaata gatgtgatca gtgctttacc tgagtacaca 27120
cactaaaatt gtcggtagag gtacataaga aaagattaat catgtgtatg tgtgttgtga 27180
atcgtacatg gcagtaaaat ctattgaaaa attaattaat gtgccaattg gcattcatta 27240
tgcaacgatt aatttagatg gtgatgaaca ttactttatg gagtgaatgg tgtcgatgtt 27300
gtgagtaaca gtgatttta tccccaatta tcccttctct aaaggtcaaa aaataccaca 27360
tggatggtaa agaatcttca gcgtttatac gtaatagaaa agaagcgggt gctggtagtg 27420
gaggaaatag acaagcgaga caacagcacg ttattgaagc agttactaaa aaactatgaa 27480
tccaacctct atcatgagaa ccaattcaat taataaaggg gcaaaacacg ttaggtgttg 27540
gtcgacttca ttacttctat cctggtgata atgaagatat tattcaagca tatcgagaca 27600
atttgaattt aaataaaatt ttagtaaaca tcaattgctc atttagcggt tggtgttttt 27660
tatagattaa aatatatgga aacacagatg taaataacct ttttattaaa gttatactta 27720
cagcatttga gttttggagg agttggtatt aaatgaaact acaggcagtt ttgatttatg 27780
atatctaatt gaattggcac atataattta ttattataat tcgagtataa aagttaggaa 27840
tgaagaaaag ctattttagc catttataca tagctatgtt gtaaatattt agcaaaataa 27900
ctaatatggg gaggcgtatc ataagtaggg gggatgttga taagcttccc cttgttagtt 27960
atttggctaa aaaagactag ctgttcatta tatttacatg gtatgtcaac atttttaga 28020
cagttttcat gtgtgtattt ttaaatgcca ctgacgtcaa atactttaat gaagaatgtg 28080
gtctagaatt gttgtaccaa tttacataat caaataattc tgtttctaac tgttctaagt 28140
tttcaaattg catttgtttt acaaattctg ttttcattgc tttcatcgtt gcttccgcaa 28200
ctgcgttatc ataaggacaa tctttggtac ttcatgaacg tttcatttta aatgtttcta 28260
gaacttcatc tatcaaatga ttattaaatt ctttgcctct atcggtgtga aatagtttga 28320
tttattctgc tgattgcttt tgatactata tttgcgtcct tatttttaac tgcactgtaa 28380
ccaacaattt ttctattaaa tagatctata aataaacata tgtagtgcca tgttcctgcg 28440
acttttacgt atgttaaatc acttactaat gcttccattg gttgctctct attaaaagct 28500
tcattcaaat gatttttaat ttgtcttgta ccaagacctt tctattagaa ttaaaaatat 28560
ttatgattgc acgttctacg tttgaatcat ctttagtgat tttattatct tttcttttta 28620
tagaatcata ataggtactt cttggtattt ttaggacttt acatattgct ggtactgaat 28680
attgatgtgc attcttttga atgacttcta ttttcgtctc ataatcagct ctgcttgctt 28740
taaaatatcg ttctccattt ttatatgttg aacttctttg cgtaatttaa tcagctcttt 28800
ttcttcatct gataaattat cttgatgatt gaacaaacct gtgtattgat gttgctttat 28860
ccattttcct aacacctagg aatgaaacct aaccatttgt aacttaaact ctgaactaaa 28920
cgattttctt tctcttgtca taataaaatc acctactttc ttaaattaac aatatctact 28980
ctcatagaat ttgtccaatt aagtgtagac gattcaaaat atcaaattta tatgtatagc 29040
acttcttgct ttttatgatt aacttagcaa aaaatacaaa tcaacaataa ataaaattta 29100
attacttaat atatatttat taccattaga gtctgtttac agcatccttt ttgatttgtt 29160
catcagattt ttctttccat gcatgaggtg aaaagttaaa tgtaatacta tggtcatcaa 29220
aaaactcata aagggcaggt cttaaccttt ttgctttttc atttcttctt tctgatcttt 29280
ttcgaccctc tgataaacgt gtaacacctg tacaataaat tttatccatt tctttgatat 29340
catctttata tagttccttt gataaagaaa tatttttttct ttacttgaat taacatttac 29400
ttcgttagga attgcttcat taagactctc ataaaaagga aatagccctt taccaaaact 29460
agatgattcg atgccaaaaa aattatatag catactgtaa tcatctacta ttaatccatt 29520
attatttgct tcaactacca aggaattttt catagttgac tctttataaa atgttaattg 29580
aactttcgcg aatttattta ttcttttaat aaattttcct ttaaatctgc ggataaagac 29640
taaataattt tcatttttat atttaaattt aaatgaatca ataatataat ccttatcacg 29700
catatcgtca aatattaatt gaattttaga caagtgtaaa ttgttcatag ttatctactc 29760
cctatatata agtggatttc tacataatta ttctcctagg aaccctaaaa tcggcattat 29820
atctttcaaa aatgtacctc ataaaaagaa taggttgata tcgactttaa tttactctct 29880
ttctttatta ctaaatacac tttaacacat ttgtaaaatc ataatcattc actctaacat 29940

agtaaaattc ataatttttt cttaagtata ttaattgtat attttcatat taaagtccaa 30000
tgaatatact ttattcattt attagtcgaa tttttcatat ttcattaacc aactacctac 30060
ttaaattatt taatcttatt cttactcatc atttcaaagt gttggatatg tctaagtttt 30120
tcaaagacta acttaaagac tcttttataa tttctcatac ttgctccatc aaaggtaata 30180
acaaaatcat cacttataaa atgtgatccg tcatttattc ctgaaataag tgatttacat 30240
aatattttgt ctataccgtc aaatttatta atacatcttt cataatccat gcccctataa 30300
tattaaaata atattatagt attctacgca ttgtattaaa tgatgttatt ggtgacattt 30360
cttcagaatt aagttctttc cacattaatt gatatgaaga ttttatagca ttattctcat 30420
aagtattaaa ataacttata ttatcctttt ttctaataat tccatacatt acttcattaa 30480
gcgaaaacct ttctctactt cctaaaaaag tgatttcttt atgaaagtaa atattgtgag 30540
taagattgaa tacttgttgt attctattct tattatttct acagtcattt atcaaatttt 30600
taactaaagt actaacaata aataatacat tactatctaa actagaaatt ggatcatcta 30660
taatagcgat tttatttgaa gttacacttg tactctcatg actaccataa ataaaattta 30720
ttttttagg ttttatttct acataatttc tataggtcgc aatgttttga agcgaaattt 30780
ttttaatcat tcataatacc ccaatccctt attttaatta gtaaagacac tatatttatc 30840
aactgctaac tgtgggcttt agatttattt ctgataatca aaattatgtc tgagatgtta 30900
ctaatgtatt taatattatt tttagtattt aatctccccc atacttatga tacgcctctg 30960
cttatcagtt aataatggct ctatgtcaaa ttggactgat aagttcaata ttggaagtta 31020
ggcaactaaa cattgcttaa cttccttttt acttttgga gcgtaaagtt ttgaacataa 31080
taatattcga ttgcgtaaat gattgtaact tccataacca aaagatatac gtttaattaa 31140
ttttattttg ttatttatac cttctaaagg accatttgat aaattgtaat aatcaaatgt 31200
atttttata aagtatgcat gtttgtttag tgtcttaatt gctcgttgga caaatgaatg 31260
cgcttgagat aatggcatat gttttaattc gtgaataaag ccttcataat cattatgttt 31320
aagtttgaat cgtaattgat tgatatattg gtaggcgtca ttcagtgagt catcttgatc 31380
taatatatac ttgacgatac ctttttgtgt cttccattcc ttaaataaag cgactttacg 31440
atattcaaat gcctctaaat cttcttcagg ttttaataat aatttcgcat atcttttaaa 31500
cttattatat aaaggttgat tcgtcgttct taattcattc ataacagcga tgtcaatagc 31560
ggtttaaaat actgttttat ggcggtttga aaatatcgtt ttttagcggg ttaagaatat 31620
cgtgctttta atgcgctttt acttttattt attctcatgt ttacgttctt catagcaatt 31680
tttagtttag ataaatctga aagagtagca gcttcaaaat ttgcatttat atctaaaaat 31740
aattttaaaa tagacatgtt taaacaatca aaagtgtgca ttgctaaatc atcattttca 31800
aaagtttatg gatagaacaa ttatatgtaa acatatttat ttaagtttta aaaaagtagg 31860
acttaattat cgcaatattt ggtctatata aatgaaatat gatttaagtg aagaaataat 31920
actttgatat ctacagaatt aataggagtg atcagtcgta taacagtaat tgcaatttgt 31980
gaaagttaat tttgtaattg tatcaacaat ttttaaataa gattattagg taagtcataa 32040
atagccctgt taagggataa atgatataat agtgctatat aggaggcgat atcgtgatta 32100
ctattgactc aaagattaac aaacaaatcg ctaaaacctt tcacttgaag gtatgtatgt 32160
tacaaaagaa caacaaatac aaattcttca tgcaattaat aataagaaat tacaaatgag 32220
cttattcgta aaatcgcttt taaataatga aatatgatgg aatacagcaa gacgaatatt 32280
tattaaattc taatatgctt ggtgtcaaaa cttctgatga attaaagcga cttggaaaag 32340
ttgctttttt aattgctgaa gcttccgttg aagaggaagg atataaattc tatttccctt 32400
atcgtttaaa gtgaatttca agataattat caaaaaagca tatatactat attaaaagtg 32460
gacgtaggga cagtcattaa aatataaaag gattattaaa gtgcaatttg ttgtaatata 32520
ataattaaat tttaaaaatt atagttacat taagtgaata tatgttataa aataacaacg 32580
gttgataagg gtcaactaaa ttaattatat attcaagagg agtaatatga gaaaagtatt 32640
tatactaatc actttgttat ttggttatag tagctattct ttgttggaag ctaaagcaga 32700
gacacaaaat gatccaaata taagtgaatt aaacaaatct agtcaatata cgggttcgtg 32760
gcataatata tggtatttat ataatagtga tccagttaat gctaaaaaaa taaagctaag 32820
tgacaaattt ttgagtcatg aattcattgt tccaataaat aaccctagtc attacgacta 32880
tgttaaaact gagttaaaag acagtacaat ggctagttca tttgatggga aagaagtcga 32940
tatttttggc gtcaattatt ttgatcaatg ctatttttta aatgaaaata tacagtgtga 33000
tagtaatcaa ggagctggaa gcaaaaaaac ttgtatgtat ggtggtataa cattaaatga 33060
gaacaatacc aataatagaa ttcagcctat tgttgtaaaa gtttacgaga atgacagtgt 33120
tactctttct tttgatatca atattgataa agagactgta actattcaag agttagatta 33180
taaagtgaga aataaattaa tttctaaaat caatttatac catttaggtg gcacttcata 33240
tgaaacggga tacattaaat ttatagaaaa tggtaatcga tattattggt atgatatgat 33300
gccagaccct ggctttactc agtctaaata tttgatgata tatcggggta atgaaacagt 33360
tgaatcagcc aaaacggaaa tagaagtgca cttaactaaa aagtagacat agagcaactt 33420
atcaataata atttatggct agattaaagt aaataaaaat attttgatga attaaagcga 33480
cttggaaaag ttgcttttct taattacttc tttaaaaagt aggtgcatta gtctttaata 33540
caaacaaaaa aggaggaaca ttacattcct cctcaacctt tattactcat actataattc 33600
aattttaacg tcttcgtcca tttgggcttc aaattcatct agaagtgctc ttgcttctgc 33660
aattgattgt gtgttcatca attgatggcg aagttcgcta gcacctctta tgccacgcac 33720
atagatttta aagaatctac gcaaactctt gaattgtcgt atttcatctt tttcatattt 33780
gttaaacaat gataatgcaa tctcaacaga tctaatagtt ccttgcttgt gtgttcacgt 33840
ggttcttttt caaaagcgaa tggattgtgg aaaatgcctc taccaatcat gacgccatca 33900
atgccatatt tttctgcaag ttcaagtcct gtttttctat cgggaatatc accgttaatt 33960

gttaacaatg tatttggtgc aatttcgtca cgtaaatttt taatagcttc gattaattcc 34020
caatgtgcat ctactttact catttcttta cgtgtacgaa gatgaataga taaatttgca 34080
atgtcttgtt caaagacatg ctttaaccaa tctttccatt catcgatttc atagtagccg 34140
aggcgtgttt taacacttac cggaagccca cctgctttag ttgcttgaat aattttggca 34200
gcgacatcag gtcttaagat taagccggaa cccttaccct ttttagcaac atttgctaca 34260
ggacatccca tatttaagtc aatacctta aagcccattt tagctaattg aatactcgtt 34320
tcacggaact gttctggctt atctccccat atgtgagcga ccatcggctg ttcatcttca 34380
ctaaaagtta agcgtccgcg cacactatgt atgccttcag ggtggcaaca gctttcagta 34440
tttgtaaatt cagtgaaaaa cacatccggt ctagctgctt cacttacaac gtgtcgaaag 34500
acgatatctg taacgtcttc cattggcgcc aaaataaaaa atggacgtgg taattcactc 34560
caaaaatttt ccttcataat atatttatac cctctttata attagtatct cgatttttta 34620
tgcatgatga tattaccaca aaagacgaac ttatacaaaa ggaattttag ctgatacaac 34680
catttgaaag ggaagtctac gagtagtcta aaatgaatat tgtggttagt tgatcagtat 34740
acaaatcaag gattatcgta ttagattgtt cattattaat gatacactac ttattaatat 34800
gattcagaat tttctttagc tacatataca ataccgtgat ttttacgtta tcttataaca 34860
aagacaaatt tataaaggtg atattatgga agatttaaaa cactctttaa aaggtttagg 34920
ttggtatgac ttatttttta cagtacctat gtttctacta ttcgtgtatc tgccgaatta 34980
taatttcata actatattta ttaacattgt tattattatt ttcttttcca taggtttgat 35040
tttaactact catataatta taggtaacat taagaacaac tctaaatgat ttattaatac 35100
aaatatggtt aaacataaaa ctgaaggagc gattacaatg gcgactgaga aagatgtaaa 35160
tgatttattt ttaaatcatg tgaattcaaa tgccgttaaa actagaaaga tgatgggaga 35220
atatattatt tattatgatg gtgtggttat aggtggtttg tatgataata gattattggt 35280
caaggcgact aaaagtgcac gtcatcaatt tcaagataat acattagtat cgacgtatcc 35340
tggtgccaag gaaatggttt taattccaca ctttgtcaaa gtaacaactc taaatgattt 35400
atttgagctc ataaaaaatg atttgcaaaa gtgaagtgcg aatagagaga gaaataaaag 35460
cggataatat gtccgtcttc gccaccctta aaatatatta ttgtaccttt tatgaggtaa 35520
gtagctaaag gttgttcgaa ctaagcacta gtacttcatt ttctatttca attctttctt 35580
aatttgatta ggagatttcc tctcctttaa aggtcgttgc ttttagtaaa tttctttttg 35640
ctttgtatgt tcgaggtata tcattattaa aaaatgccta caattaatga ggactatagc 35700
aaatgtagta ccgataatga ttagaatgtt tttttgatat gatatcaact ccgatattgg 35760
taaggacata ggagcaatta caatttccaa acaaggtaca cgagtgccat tgaatatttt 35820
attcagatca aaagtacacg cactaaaata agcatttatt tctatgtaac ttacatcttt 35880
gatactacag aagttcatgc atatgttcaa tcgtctcata atttttaaat acccctgatt 35940
cccatagtta aatacattat tcaaatcgta attaaaacat agaagtattt gaatcaccat 36000
attcaacttt taagtttgta ctactatgaa gtaatctaac taccacttta gtcaatacaa 36060
atataacgga aagataatca agtgagtgct cattcagggg tgctcttttt tcatgtattt 36120
attgaacaaa aataaagatg cttaaggccc atttaaaaag ctacggaagt catttgagaa 36180
ataatatagt tacagtaaaa agttatacat aatatcttca tcagtgaaag ccctttaaaa 36240
tatagaactt tgatttaagt aagaaaaatt taattcatgt gatatttatg aatgtttaga 36300
ttaaagatga tatatactat taataacagt attacttgaa aattaactac cttgtatatt 36360
tgaatataat aatatgatgt gactgttttt atacaatcta atttaaaact aaactgccaa 36420
tattgaatat tatggggtat agacaagtta tatgtagcca ctttttgaga gtactttatt 36480
ataatagtct tgtagtcaat ttgcagtgac aagagctaaa aaagaatttt atgtaattgg 36540
ggacatgcaa agaatacaga caaaaccatt ttatgaaacc atttttgaag aaagaaatgt 36600
agaataacat acaaaaaaag tatatagagg gagttatttt catgcaaaat agaaatgatt 36660
ttatagaaaa actattagac agagctcaaa ttgaagaagg tatgcgtgta ctggatatag 36720
gttgtgcgac tggtgaggtc actcaattaa ttgcaaaacg tgtgggggcg aatggtgaag 36780
tcgtcggtgt tgatgtgaat gaatcattac ttaaaattgc aaatgaaaac aatcaatata 36840
acaatgtatc atatcaatat tctgatatat atcacttgcc agacactatg gggcattttg 36900
atgcgattgt tggtagaaga gtattgatgt acttaccaga tgctgaaaag tgtttacaaa 36960
ttttgaatca attttaaaat ctgagggtat attatgtttt caagaaagtg atgctattaa 37020
tacaggcgtt ggtgcagatg cactaccttt acatcaatcg gcaattcaat ggatttggga 37080
aacagtgaag caagaaggtg gcaatattca tattggtcaa aatttatata atttgtttaa 37140
taataatgga atgtatgttg tagattactt tgcagaggca gtgattcaaa cgtcaatgga 37200
taatgattta gcatggcttg tagatgtaat gctaccaaga atgaaagcgc atggtgtcat 37260
taatgatgat ttttcactag atgagtttaa atcaaacctt gaacatgaag caataaacaa 37320
tcaatgtgca tttatacgtg aaatggcgtt tggtattatc ggaaaagcgt agtttaaaaa 37380
acgctgaaag tagcatatta ttatcaacaa tgttttaatt tgtgaagtta ttaatggaat 37440
ttgaaatgac agcatttcta taggctaatc aagtgatact taattaccga gcaatttata 37500
cattttaaaa ggagtaaaat tgaataatga agaaatttaa caactggata ttaaatgcaa 37560
taagtggatc tcaaacagac aagaatggaa caactgaaga attaaaaggg gcaaaattta 37620
tcattttata tgcatattca atgctcgttt tgcttgcgtt agtaatttct aacatattca 37680
ttcacatttt ggagcctaaa ttatcaatca ccactcaaat catcatcgtt ttgattttaa 37740
ttgaatcact aattggacta cgtttcttgc aaagggtacg atgttaggcg tggcaaagat 37800
aaagaaaata agaaaaatag taaggatttc gttaaactaa aatcaatttt agtagcaatt 37860
ttatttacat cattggtgct gacagcaggc actgtagctg atatatacgg tttcactgac 37920
ttaggaaata ctagaagtga ttaatcgttt ggagcatagg tggtattata tttggcctcg 37980

taagttacac aatggaagat aaaaaataac gataaggagt tggcgattat aaagctagct 38040
ccttttttaa cttatttatg taaagaacta tcccgcgggt gtttaatcat atgtcaataa 38100
ttcctataat acattgttaa aacatcaatt aaataagttt taaaatttta cccatatttt 38160
tatttgaaaa agatgtataa ttaatgtatt gaatatagaa agaatttgat attatgaaaa 38220
agtgtattaa gactttgttt ttaagtatca ttttagtagt gatgagtggt ttatatcatt 38280
cagcacatgc gtcagattcg ttgagtaaaa gtccggaaaa ttggatgagt aaacttgatg 38340
aaagcaaaca tttaactgag attaatatgc caggctcaca tgatagtggc tcattcactt 38400
taaaggatcc agtaaaatcg gtttgggcaa agactcaaga taaagattac cttacgcaaa 38460
tgaagtcagg agtcaggttt tttgatatta gaggtagagc aagtgctgat aatataattt 38520
cggttcatca cggcatggtt tatttgcatc atgaattagg aaaatttctc gatgatgcta 38580
aatattattt gagtgcctat ccaaatgaaa caattgtgat gtctatgaaa aaggactatg 38640
atagtgaccc taaagttatg aagacatttg aagaggtttt tagagaatat tattataata 38700
acccgcaata tcagaatctt ttttacacag gaagtaatgc gaaccctact ttaaaagaga 38760
cgaaaggtaa aattgttcta ttcaatagaa tgggggcac atacataaag agtggttatg 38820
gtgctgacac gtcaggtatt caatgggcag acaatgcgac atttgaaacg aaaattaata 38880
atggtaactt acatttacag gtacaagatg agtataaaga ttattacgat aagaaagtag 38940
aagctgttaa aaatttattg gctaaagcaa aaacggatag taacaaagac aatgtatatg 39000
tgaatttctt gagtgtggcg tctggaggca gcgcatttaa tagtacttat aactatgcat 39060
cacatataaa tcctgaaatt gcaaaaacga ttaaagcaaa tgggaaagct agaacgggtt 39120
ggctgattgt tgactatgca ggatatccgt ggcctggata tgatggtatc gtaagcaaaa 39180
ttatagatag taataaataa ggattaaata atgacattaa gacgagtatg aaaatagtta 39240
gattctaatt attttcacta ctcgtttta ttttgaaaat aagtaataat tcaacaatat 39300
tataaattga acagattttt tgtgaaattt ttgataatat taaagtgaaa aagtgttata 39360
aattgataaa tatatgtaat tcgaaaaagt gaatcatttt aaaaagaaga gagtgatgaa 39420
atgataaaac gtgtaaataa attagtgctt ggtattagtc ttctgttttt agtcattagt 39480
atcactgctg gttgtgatat gggtaaagaa gaggaaataa agaaaagttt tgaaaaaaca 39540
ttaagtatgt atccgattaa aaacctagag gatttataag ataaagaagg ttatcgtgat 39600
gatcaatttg ataaaaatga taaaggtaca tggattattg gttctgaaat ggcaactcaa 39660
aataagggtg aagctctgaa agttaaaggt atggtcttat atatgaatag aaatacaaga 39720
agtgcaaaag gattttacta tgttaatgca gtaaagaaag atgaagatgg tagacctcag 39780
gataataaaa tagaatatcc ggttaaaatg gtcgataata aaatcatccc tactaaagat 39840
attaaagatg gaaacataaa aaaagaaatc gaaaacttta agttcttcgc gcaatatggt 39900
acctttaaag atttgtcgaa gtacaaagat ggagatattt catataatcc agaggtaccg 39960
agttattcag ctaaatatca attaactaat gatgattata atgtaaaaca attacgaaaa 40020
agatatgata taccaacaaa taaagcgcca aagctgttgt tgaaaggttc gggagactta 40080
aaaggttcat cagttggata taaagacatt gaatttactt ttgtggagaa aaaaggggaa 40140
aatacttttt ttactgatag tctacatctt gaaccaagtg aggataaata atcatgacca 40200
ataaagagta tgaaatcgat cccggaaaaa gagagtgatg aaatgataaa acgtgtaaat 40260
aaattagtgc ttggtattag tcttctgttt ttagtcatca gtatcgctgc tggttgtggc 40320
attggtaaag aagcggaaat taagaaaagt tttgagaaga cattgagtat gtatccgatt 40380
aaaaatctag aagatttata cgataaagaa ggttatcgtg atgacgaatt tgataaaaat 40440
gataaaggaa cgtggactat tagttctgaa atggcaattc agaaaaaggg agaagcatta 40500
aatataaaag gtatggtttt gaagttaaat agaaatacaa ggagtgcaaa aggattttat 40560
tatgttaatg cgataaagaa ggatgaagat ggaagacctc aggataatca aatagaatat 40620
cctgttaaaa tggtcgataa taaaatcatt ccaacaaaag aaattaaaga tgacaacata 40680
aaaaaagaaa tcgaaaactt taagttttta gttcaatacg gtaactttaa agatttgtcg 40740
aagtacaaag atggcgatat atcatacaat ccagaggtgc cgagttattc agctaaatat 40800
caattaacca atgatgatta taatgtgaaa caattacgaa aaagatataa tataccaacg 40860
aataaagcac caaagttatt gttgaaaggt acaggtaatt taaaaggctc atcagttgga 40920
tataaagata ttgaatttac tttcgtggag aaaaaaggtg aaaatatata ctttagtgat 40980
agtttacatc ttaaaccgag tgaggataaa taacctcatt gtctcccaca cgattcaaca 41040
cgaatttcaa atatgttgct gtaaaataat gtaaaataaa cgtattcata ttactgaatt 41100
gagggatagt atgcaacgtg attatttaat tcgagtagaa actgagagta tgtcagattt 41160
caaaaggctc aatggtttaa tgattggttt tgttattaaa ggtgaggcac atatttatga 41220
tgaaaataat atgacgcaat gcaacagtgg cgacattttc atcattaacc accgcgactt 41280
gtatcgattt caacttcaac aagatggcat catatgttat atccaattcc aaatgaaata 41340
tttagcagac aagtttgatg atgcgcattg tctatatttt cacttaacag atgcgaccac 41400
aacaaagaat aaacatcaac tgagaaatat aatggcaaga ctggtttcaa cacatatccg 41460
acataatgag ttgtctaaat tgactgagca acaacttgtg attcagttgc ttatgcatat 41520
gattcattat gtcccgcgta catatcattc gaaccaaagt atcttaaatg atgataaagt 41580
gaatcaagta tgcgactata ttgagttaca ttttcatgaa gatttaagcc tttcggaatt 41640
aagcgaatat gttgggtggt cagagagcca tctgtctaaa aagtttgcag aatcactagg 41700
tgtaggattc cagcatttct taaatacgac gcgaattgag catgcgaaac tcgatttgac 41760
atatacagat gaaatgatta ctgatattgc attgcaaaat ggcttttcaa gtgcagcgag 41820
ctttgcgaga acatttaaac acattacgca tcaaacacct aaacagtatc gaggtgatcg 41880
tccagcagtc actgaaaacc agcaatcggc acaacatgat tatcacgacc gtgaattgat 41940
attacttta aatgactaca ttgaagaaat gaatcatttc attgaagata ttgaaatgat 42000

gaactataaa gagattacct ttcaaccaac caatcaacaa ctaaatcaat ttaatcatat 42060
cattcaagtg ggctatttga ggaatttgct caatacacag tatcaatcac agttgcttac 42120
atgtcatcat gattttcaag tcaatgaagt attagcatat gatgtgatgc catatatcat 42180
gaaaaagctc aatgcgccat tcacgtatga tgcagaaatt tcgaatatat tttatgatat 42240
tgatttgtgt ttagactttt tattagatca taattttagt ctgaccatgc atttggatta 42300
gtatgactca cgagattata tcgatgcatt caaagtattt atccatcacg ttgccctgca 42360
tgtcagtcat agaaaagatt tgaagttcaa cttgtatgtg acgacattgc acacgtcttt 42420
gattgaaatg attgattatt ttaaagcatt attccctaat ggtggcttgt acattcactt 42480
agatcaagct acggaaaggc agctaccatt gttgaaacga cttgagccac acatcgacca 42540
ttttgtattt gatgccaatt caaataatgc tgttgatttt aataaaatga atgatgatga 42600
atttaaaact gcaagtcaaa tgattattaa taaaacgaat taccttatcg atttaatgca 42660
tcgtcatcat ctaaagcgtc cactcatttt actcaattgg aatacattga cgggtgatac 42720
atttattaca aacggcgaat gttttagagg tggtatcatc attgagcaat tattaaaatt 42780
aagttctaaa gtagagggta tcgggtattg gttgaattat gacttgcacg tcagtcattg 42840
tagaaatgaa cgggattata tgaattctat tgaactgttt catcaatata atggaaaacg 42900
tccggtctat ttcacggcat tgctatttaa taaattaaca agcaatattt tatattctga 42960
tgatacatgt attgtcacgg gaactgattc aaattttcaa atattgttat atgatgcaaa 43020
gcattttaat ccgtacttag cgttggacaa tcaaatgaat atgcgtgcaa cggaaatgat 43080
ccatttgaac attaatgccc tggaagaagg tatgtataag attaaacatt ttaccttaga 43140
taaagaaaat ggtgcattat ttaatctttg gcgcaaacat catacgatac atggtatgga 43200
caaggactct atagattacg ttaatcgaat gagttttcca aaattagaag tgtacgatat 43260
agatatgacg gatacgctgg cattaaatat taaaatgatt acaaatggaa ttcacttaat 43320
tgaagtaaaa cgttacccaa gttcataaaa tgatcacaaa tcacaaattt tgatatacag 43380
aatttgtgat tttttatatt caaagttaaa attgcaaaaa attaatggtt aacatctctg 43440
ttgttggcaa tataaataat gattaatcat ttatgatgta actaaggaga tgaatgatat 43500
gaatcaacaa ttaattgaag ctttaaaatc aaaagaagac aaaatgattg agatcagacg 43560
ttatttacat cagcatccag aattatcttt tcatgaaggt gaaacggcga aatacatcgt 43620
tgaattttac aaagataaag atgtagaagt agaaacgaat gccggaccac gtggaattaa 43680
agtaacgatt gattcaggga gacctggtaa aacattagca atccgtgcag actttgatgc 43740
attacccatt actgaagata caggattgtc ttttgcatca caaaataaag gtgttatgca 43800
cgcatgtggt cacgatgcac atacagcata tatgcttgta ttagcagaga cgcttgctga 43860
aatgaaagat agttttacag gaaaggtcgt tgtgatacat caaccagctg aagaagtacc 43920
accaggtggt gctaaagcaa tgattgaaaa tggtgtatta gacggtgttg atcatgtatt 43980
aggcgtacac gtcatgagca caatgaaaac aggtaatgtg tattacagac ctggttatgt 44040
tcaaacagga cgcgcattct tcaaattgaa agttcaaggt aaaggtggtc atggttcatc 44100
accacatatg gccaatgatg ccattgttgc aggtagctac ttcgtcacag cgttacaaac 44160
agttgtatct agacgactaa gtccatttga aaccggcgtt gtcacaatcg gttcatttga 44220
cggtaaaggt caattcaatg tcattaaaga tgttgttgaa attgaaggtg atgtacgtgg 44280
attaacagat gctacaaaag caacaattga aaaagaaatt aaacgtttat caaaaggatt 44340
agaagcattg tatggtgtaa cttgcacatt agaatataac gatgattatc ctgcattata 44400
taatgatcca gagtttactg agtacgtggc taagacgcta aaagaagcag acctggaatt 44460
tggtgtcgaa atatgtgaac cacaaccacc ttcagaagac tttgcatatt atgctaagga 44520
acaaccaagt gcctttattt atacaggtgc agctgtggaa gatggtgaaa tttacccaca 44580
tcatcatcct aaatttacca tttcagaaaa atcattactt atttcggaag aagctgtagg 44640
gacagttgtt ttagattacc ttaaaggaga taactaacat gaatgaaacg tatcgcgggg 44700
gcaacaagtt aatcttaggt attgtattag gtgttattac attttggttg tttgcacaat 44760
cacttgtaaa tgttgtacca aatttacaac gaagttttgg tgcagatatt ggaacaatta 44820
gtattgcggt aagtctaacc gcactatttt caggcatgtt tgttgttgga acaggcggcc 44880
tagcagataa aattggacgc gtgaaaatga cgaatatcgg cttattatta agtattattg 44940
gttcagcatt aattattatt acaaatttac cagcattgct aattttaggt cgtattatac 45000
aaggcgtatc agcagcgtgt attatgcctt ccacattggc cattatgaaa acttattatg 45060
agggtgctga acgtcagcgt gccttaagct actggtctat cgtttcttgg ggtggaagtg 45120
gtatctgttc actcttcggt ggggcagttg cgacaactat gggttggaga tggattttca 45180
tcttctcaat tatcgttgcc gtactttcaa tgttactcat caaagggacg cctgaaacga 45240
aatcagaagt taccaataca cataaatttg acgttgcagg tctaattgtt ctagtagtta 45300
tgttgctaag tttaaacgtt gtcattacta aaggtgcagc acttggttat acatcattat 45360
ggttctttgg tttgattgca atcgtaattg tagcattctt tattttctta aatgttgaga 45420
aaaaataggt acatcatcgt taagaccaac aagtgcttca gaaacatttc gtgaatgata 45480
accgatacgt tcaagaacac caatcatatc gatatatagt aatccgcctt ttgttgtaca 45540
ttcaccacga ttaaggcgtt taatatgacc tttgcgtagt ttatgttcaa tattaaatga 45600
ttctctacta cgctctacaa tttcatcttt tttcgttttg tcataaacat ctaacatgtc 45660
gatggcttta tcaaatgact cagcaacatg gttgaataat ttatccatac cgcgttgtgc 45720
atcttctgta atgcgaatat cttcatcatg ttggcgtttt aattgagcga catactcttc 45780
tgttagctct gctactttta aaatagagcg attgacatca aacataactg ctaaacgctc 45840
aacgtctgcc ttcgtaatgg cttttgtaga aattctaact aaataatttc gaatactatc 45900
attgattgtt tcaacagctt ggtgcttttg ttcaagcttt ttgatcaatt ttttatcgtc 45960
ttttgtaatt tcgcgaatgt cttcaaacat tgataagaca atctgaccca cattttgtaa 46020
ttctttttga gtttcttgta atgcaacacc aggtgcgtga taaacaagat ctttgtttaa 46080
gtgctgaggt ttatagtcat cagcaatatc tttacctggg acaagctttg taactatcca 46140
tgctaaacct gctacaaatg gtaattgaat caaagtattt gttatgttga agataccatg 46200
tgatactgca atcgtcatcg ctggttttaa gtgccataca tcttgtaaca aactaatcaa 46260
atgaatcaca actggcaaga aaattgtgaa gataattacc ccgattaagt taaagatgac 46320
gtgtacaagc gccgcacgtt ttgcagcgat tgagccggct aaactagcta agatagctgt 46380
aatcgtggta cc 46392

<210>88
<211>57474

<212> ADN
<213> Staphylococcus epidermis

<400> 88

cgaagcatat cataaatgat gcggtttttt tagccgcttc atgaagaaaa ttagagttag 60
cacaatactt ttgttaaaat ataaagacaa atatttggaa atataaaaat aattaataat 120
taataaattc tcttattttt ccatttgaat ctctatataa atttttttgc aaaaggacat 180
cttcttcaga ttcaatatct acactatcta ccaatttttt atttctaaca tcagtaagtc 240
gtgtataaaa aaaatatata aaaggaatta ataaaaagaa tcttaatttt ttcatagaaa 300
ttaccttcct tattcaatag ctataaactt aaaataacat ttattttaat attagtaaat 360
atatttttga atattaaata acaatcgtta agaatgtata acacttataa atatattatt 420
aaaagtagat gtatataatg aaaaattatc aaaaagtagt aaaattaaaa tttacctttc 480
acagcacatt tgttaaaatt attcatgata tgtaaatttg atgtaaagat taaattataa 540
tatatgcata tgagaaaact atgctcttta gtattaggtg aacattttag ggaggaaaat 600
agtttgcgat attcaatagt tatgccttat aaagaaacag atacaaagat gtttaatgat 660
tgtttagata gtcttaataa tcaaactttt aaagattttg aggtattatt tatacatgat 720
ggagattcaa atttgcatga cgaaataaaa aatattaatt ttaatcataa agttttagaa 780
tctaatgttt catcaaatcc tcaatattat agaaatatag gtattaagga agctacgggt 840
gaatatatct tgtttatgga tagtgatgat tacttacacc ctaattcgtt aatttatgcc 900
aatgaaatca taaatgaaga acacgatttt gtggttaagc taggagtaaa aaaaactcac 960
tataccaaaa gtttaacttt caaggaaaac actcgaagtt tttataaacc tgaaatttcc 1020
gaaaaaataa gaaagctact taccgatata aataaagaaa atgtatctaa tccagagttt 1080
attaataaac tatatgagct tgaattagta aagcatagtt ataataatat taaacaaaat 1140
aaatttttag acaatattaa ttatcgttta aaatctaatg ggttaataat taatagacaa 1200
ttcataatag atcatgaact aggatttgat acaactaaca gtttatatgg agatattccg 1260
tttgttatca aattatataa tttagtagat agaataaaac agacaagagt aaaattatat 1320
tttaaattaa tacataacga tagtattagt tatccgtcac atacacaaaa atttaaagaa 1380
actaaaagct attataaatt attagcgtat gataaagcat tgaattattg tcctaattta 1440
aacttagcga gaaaattaaa aggttttgct acaagagaat atttatatta tgtatgtaaa 1500
ggtgaagatt ttcgaaactc atttaacaat gtaaaaccaa tatattcaat tttacgagat 1560
ttactaaata aaccttcaaa aagactcaaa atcaatttgc gtcataaatt ggaaattaat 1620
cctattaaga acggggaata cagaaaagcc tataataggt caagaagaag agttaagttg 1680
tataatgctt atgaattttt gaaacctaaa aatgaaagat atagaaaaaa agttatacaa 1740
aaaaattttt ttgcaaaatt gccaatacgt aaagatttga tcgtttatga aagtttttta 1800
gggaaaaatt actctgatag ccctaaatca atttttgaat atcttaaatc atctgagagc 1860
gataaattta aacatgtttg gattttgaat aataaagata ttttagaaga ttatccaata 1920
ttaaatgata aaaatgtgaa aattatcgat agatttagct gggaatattt ttattatgta 1980
actgtcgcaa agtattttat actaaatatg agacagccca aatggttagt taaaaagaaa 2040
gatcaaacta ttttatctac atggcatggc actcctttaa agagattagt atttgatatg 2100
gataatgtaa cttcagcaag taaaagttat aaacaagatt tttatcagca atcaagaaat 2160
tgggattacc taattgctgc taataaatat agtgagcaaa ttttcgagag agcattcaaa 2220
tatcctactt caaatatttt aacttatggt tatcctcgaa atgatatctt aagtaattat 2280
aatcaagaat ataaaattaa ggttaaacaa aaattaaata tacctacaga taaaaaagtc 2340
gttctttatg ctcctacttg gagagatgat gaatatcatg gagtaggtca atacaaattt 2400
tcattaaatt tagacttaga acaaatgaga caagaattgg gggaagaata tatcgtacta 2460
cttagaatgc attactttat atcagataga ttagatattt cagaatatga aggatttgcg 2520
tttgattttt ctaaatataa tgatgtaaat gacctttata ttgtaagcga catattgatc 2580
acagattatt cttcagtttt ctttgattat gctaatctga agagacctat tttattctat 2640
acttatgact tagataaata taaagatgaa ctgcgtggtt tctatataga tatggaaaaa 2700
gatttaccag gaccgctttt atttgattca tcggaagtta ttaataatat aaaaaatatt 2760
gaggttataa ataataatta taaagagaga tacgaattat tttataataa attctgttta 2820
ttagatgatg gaaaagcaac aaaaagagtc gttgaaaagg ttattaacta atatttttaa 2880
atgaaaaaat aaattaatag agcatcccct accgcaaagt gaaggatgct ctatttttgt 2940
tgaaattaat ataagcttca ttctgataga tagtcattaa taattgtttg caaatcgtta 3000
ttaagtaccg ttgttacagc gtcatcatcc ataaaatcct cgtagatttt atcaagaatt 3060

tattcctctt acagacattc gcgagaagtc cgttttaatt ttattagaag taattcaggt 3120
ttgaacctac ctaaatgaat atatgagtta tcttttatac tacaaaatat attcagattt 3180
caataatgac ataaaatagg catctttata tttaccttta gtgtagaatt gctctttgag 3240
taatccttct gttttaaatc cttgtgactc gtatatatga atagcttttt tgttatctgc 3300
atcaacatat agatagatct tgtgcatatt taaaatattg aatgcataaa ttatcgcttt 3360
ttcgaatgcg aattttgcat aacctttacc actgaactca ggtttaataa ttatttgtat 3420
ttcacaatta cgatggatgt aattaatttc tactaattca acaataccta cgacttgatt 3480
ttcatcttca acaataaaac gtctttccga ttcatctaat aaatgcttat caaataaatg 3540
ttgaagttcc gttaaggatt cataaggctc ttcaaaccaa taagacataa tagaatattc 3600
attatttaat tcatgaacaa aaagtaaatc actatattct aatgctctta gtttcataat 3660
tccactccca aaatcttcat atatatttgc attataaata taaataacga ataagtcatc 3720
atcactgtga acacttttct taacaattca tcacatatta attctcattt tcttattatt 3780
ctcgatttat tactcttact atgaaatcta taaaattctc atatttgttt atattaagaa 3840
taaatacgtc aatagtaaca ataaaaaata aataatagag catccctcac cgctaagtga 3900
aggatgctct agttttattg aaatatacat ttcattttgt taaataatta ttaataatat 3960
tttgaaaatc attattacgt gaaatcttca tagattttat caagtatttc tttgtcttca 4020
attgctgtga agtgatgtac caatcctttt ttacaatcat atgtaatttt gtgacgctag 4080
gtaattagta attgttcgtc agtctgattg tatagtatca agtttcatag ataatactct 4140
ttgattttaa tgtccacttt gacgtgcttt aagattgagt atatacataa tgtcattgtt 4200
gaatgttaaa aatcctataa atgtttattc atctgcagga ttttttaatc tccaagaata 4260
aaaatcatca taggacaact ggattattgt ttggataaat aacgtaaaca ataattaggt 4320
actattattt atttttgttt attctttttc ctaacaaaat aaagaaaaga ataaacgcaa 4380
ttgttaaaaa tatgtgtcct aaaccagcaa taccagcaat agcaggactt acacttagat 4440
ctttaatggt agaaatacgg ttcacgaatt gcattgccac agtaacaagc acacctacat 4500
ggtatatata aaagaaactg ttaaacagct ttgtatgagt tgttaatttg aattggccct 4560
cgataatcat gaaaattaag aacataattg tacctagtac taataaatgt gtatgtgtaa 4620
catttaattg agaaaaaccg ctaaaatctt ccgcttttgt catttctcta taaaatagac 4680
cacttaataa ccctaatagt gtatagagcg ctgaactata cattaatctt ttcattttaa 4740
ttccccctat ttttaattac gagataagta tagcggtagt ttatgaactg agtatgaact 4800
tacaacaaaa aaattaatga agtactttac aataaactca atttattaga tggtggaggg 4860
acgaaaaagg attttagaaa aataaattaa tatattttta ttttgataaa taataattaa 4920
taatatcttg gaaatcattg ttaagtattg ttgtaataca atcgtcattc ataaaatctt 4980
catagatttt atcaagtatt tcttcatttt caatcgctgc gaaatgatgt actaatcctt 5040
ttacaattga tacataactt tgcgatgcta aacaactagc aactgtatgc caatctgatt 5100
gtttagtttc atggttcata gataatcatc ctttatttca atgtccattt ttgacgtgct 5160
ttaggattaa gcggatgcat aatatcattt gttgctggat ttatcaactt tttcaccttc 5220
tttttatgag gttttaacat ttccattacc tgtgatacac gttcaacgac agttggccgc 5280
ttcgcataag ctccataggc tagaatcact gtgtcacttt cacttatcgc tttcatcaag 5340
tgaatatcag tgtgctcatc atatggattt ttgatgtgtt tgagattttc tggacttta 5400
atattagaga atagatttac aagatataca gcgccatatt gttcagaatt agctaattgg 5460
ttgaggataa gaacagttgt gagatcgagt gataatacac cgtctaaatg aggatacatc 5520
gttatcactg tgcatgcagc tttcttttca tcccatgttt tcttgagtaa atagcggtgc 5580
tgttcatcat cgctaaatat ggcttctgtg tgtatcgtac ttttgattgt attcatcatc 5640
gtcacttcct ttagtattct tctggtaaaa gcatcacata ataaaaagcg tccacgtcat 5700
cttcacgaat gacgtagact ttcttaggta atgcattttg attttttttca tagtttgtat 5760
agtgatattc caatttgtat gtgggttgtt cttgttcatg cgtaactgac aacatattat 5820
catcttcttg tagtttgaaa atgtgtaggt aatcggtatg agagtggtta tctctttctt 5880
ttaccatatt ccaaagtatg atttgaaggt ctagagatag ttgttcacta atgcctcttg 5940
tgatgtatcg attgattttc atactatttg cctccatttt gcttttcttt catgatgtca 6000
atcacttcgt taatgactgt aacagatatt tgtgccactt tgatccaatt attcatggtc 6060
ctgacctcct tgttttagta aatgacgttc atcaataatg atattttgag tatctgtaag 6120
gtacagaaag tccatatcaa aatgatccag ataaccaata ctgatgagtt ggttattggc 6180
atacattaga aatggataga tacttagctc atgtagctca tcattatagt aggtataagt 6240
ctcgagtgtg agttgtacca gtggagaatc attaataaaa cgttccggta gaatattttc 6300
tgctgcttcc tccagcgctt cacattccca agcttcgtta ttagatagtt ggaataagtg 6360
ggtcatatat tgtttgagtt cttgagtgat ggttttcata ttattgcctc ctagatagtg 6420
taatagtgat gtagttcata tacatcattg agataatata tatttgattt gtcatttatt 6480
acgaatcccg gtgggaataa gagaaaattc catatgaaaa accgcttcaa accttggtat 6540
gacaaggaaa tcccgaaatt ccgcctgttt tgacgaacaa tcaactcatt atttataagt 6600
attgatgata gtggcgggtc tttacttcct tatatatatt atttatttat aaagaataac 6660
gggattttgg gattgtgctt gcacaatcct tctgcttctt cgaatctgca aatcccattc 6720
ctttcccgat aaaaaatcat cgtgggatgt tctttagcaa tttcaatata agcttcgtgt 6780
agtagtagat agatactgtc aattcgctct ctcattagat aagtgttatt gaaattgata 6840
aagagaattc tcaaaaattt ttagaaaaag aaagaggaag tatgtagata taaaatagat 6900
ttattaaata gtaagatata atgtttgcgg taaaaataaa gacgaagtgc tggaatacac 6960
ttcgtcgata ataaggtaat tgaagtctcg attattttaa attgatcatt ttaagcctac 7020
aaattcctct aatgtttcac cagatttgta cacttttgtc gccttctttt ttcctaaata 7080

acgtaaatgc caaggttcat attgatatcc tgtgatgctt tctttgtttt taggatatct 7140
tataataaat ccataattat gggcattctt agctatccag cgtccttcct cagttttacc 7200
aaaactagca tatagatttt tatctgaatc gacgccacca acatcaaatg taagacctgt 7260
ttgatgttca gaatagcctg gacgcgcact atatttatct gctgcttttt taccatcacg 7320
cttcacataa ttattatata gcttaacttg tgtaggatag cttctatatc cacttatttt 7380
atataagtga atatcatctt tttgtgcacc atcaaataat tgttttaagg ctttttgtgc 7440
ttttggattt tcacccggat tataagagga gggtaaatca atatttttgt ttacaattaa 7500
aattccatct gcatacgtcc gaccattctt aacaactttt tgatgcttct tttggttgtt 7560
atcgttattt tgggcttgat ttgtatgtgc agttttactt tcatttttgt cattgtggct 7620
ttcagattga tgtgaacaag ctgaaagtaa taaagcgcta gtcatcaata ttacagataa 7680
ttttttcata ttaatactcc ttttgctaat acaaaaatat taaatgctaa atataacata 7740
acatatactt tgagctctat atataatatt taatatttta taatgattca attaatgcgt 7800
atataattta tattatgtta ccattaaata tacatgatac gagttgattt aaagtaagtc 7860
gttcatttt aatatcaaag tcacaaatat aaaatagaaa ttgaggaata tgaattgaaa 7920
aaaatatttt tgattatgtt gatatcttta ttttgttgta gttttttcac aaatactaca 7980
tatgctttga ctcctgttga aatcactaat aattcaaaag cacaacttga tgaaggattg 8040
aaccctagag gagcagtcgt gacaacaacg aatggacaaa tattatataa gtatcataag 8100
gataagaaag ttgatcctgc atcaacaaca aagttgatga caatgctagt tatatatgac 8160
gacattaatc atagtaaagt gagcttaaaa gacaaggtta aaatatctga gagatatcaa 8220
aaaatgtcac aattacctaa tttaactacc tttccattaa aaaaagggca aacatatacg 8280
attgaacagt tactaaaaca agctgcctta aattctagta atgcagcaac gctagtatta 8340
gcagaacata tagatggaga tatttcaaaa ttcactgata gaatgaaccg tgaagcgcaa 8400
ttattaggta tgaatcaaac gcactttact aatcccagtg gtgccaacaa taaaattata 8460
aaaccctatg aacccaaaaa atataaggat gaaactagct catatacgac agcaaatgat 8520
atggctattt taacaaatca cttattacgc aagtatccta atattttaaa aatgactcaa 8580
ttggaaacag atactcaata caatcaacaa ttacataaca cgaatttatc actgcctcat 8640
caatcactcg gcatgaaaaa tgtggatgga ttgaaaacgg ggacaagcaa agaaggatat 8700
aatttagcat taaccgctaa aaaagatcaa ttaagagtga atacaaattt atttaatatc 8760
cagccatatc ctagtgaaaa agctaaattt gcacgccaca aggttgctaa cgcactcacc 8820
caaaacgcat ttaaaaatta tacgtatcgc aaagtgatat cgaaaggtgc acatcaaatt 8880
gatggtaaaa cttacaacgt gaaagaagac ttatatgatg tagtacctaa ggataacagt 8940
aaatatgaat taaaaatatc ggaaaaaaac caactatcag ttaaatacaa tcgacaattt 9000
actaaagggg agcatattcc tagcgttaaa gtagaaccaa agtttaactt cttgtctgta 9060
ttatttcaaa tcactttagc aattgtcggt ataatattgg tttctgtcat tgttattata 9120
gcgatcaaag tgtacataaa aaaatatagt aaaaattaaa ttaatttctt tttaagaaat 9180
agaacatgtg taacaaatgt ataaattaaa gtagatgcaa ctttttgtgt taatattctc 9240
tatttttata taatttatat atttaaaata attatattat tcatatagta ctaaagatta 9300
aagtattata ttttgaataa aggcgaagtg ctacaaagca cttcgccata atatccagca 9360
tttttattaa ttaatacttg tgtatcaatg tagatgtgcg ctagtttctt caacttctcc 9420
tctagctgtt ttttcgtaca tttctagttg cttctcataa tatgatttat atcatattaa 9480
ggtgtgagac ctcagccagt ctgtgacatg acatttttct catattgggc ttcttttga 9540
ggggagtcaa attttccaac gtaatcgatt tcgtttttgg ttttgtgtat aacttctcca 9600
ctttcattcg ttcttatgtc atttattatt acgttattat ttgcattagg ttgagcaatt 9660
gtattatttt ttgaatttag attatcaccg ctgtcatttc attcaacagg ctcttctttt 9720
ttatctttat cattttgctt gttctttatt tttggtagtt ttatgagctt gagagtcttg 9780
tttttttatt gttcatatct ataacagtct tgtaactaaa tactaacgat acaataatta 9840
cacttattaa agcgactgta gataatatag gggaaaaata tttcttataa acctctctca 9900
atataattta atcctatatt gcattaattt aaaaaacata ccactgaaat tatattgtta 9960
aataaaaagg ttggggtaaa aataaagacg aagtgctaag gagcacttcg tcgagaggaa 10020
tatcattgaa aacctgttta attacttcat tatcaagttt gagtgttaca taaaactgtt 10080
ttttgtgatt gctgtctttt ctaatatcta tgcgatcaat cactgctaag tacagtgctt 10140
taagttgaga ttttttcatt ttctcaatat tatgaaagac gtatcgcaat attttaccaa 10200
ttttttttggc attatatgag ggtttatctt cattttgttg ttttttgagt tgattgattt 10260
gactcataat gtcattaagt tgcttatcat atttttgaat cgacggcctg attactgatg 10320
ttaagtccgg attatcctcg atggttttaa tcaagttatt tagtttgatt cttacttcat 10380
catattgttg ttgcttataa gcgatatcgt gatgaagtga cgcacaatca acttgatttt 10440
cttgattaac acgtgctaca acgcgttgaa tgactttatc acttttgact atttcgagta 10500
tttgcttcat cacataatct tcaatcacat cagctcttac actgtttgcc gaacatactt 10560
tggacccctt gttgcgaaaa ttactacatg aatagtaacg tatacgtttc ttggttccat 10620
ctttaagtgt attcgttgta ttgcttgctg ccataggtgc gccacattgg ggacagtgaa 10680
taatgcctgt aagcagattt gttcctttgc catggacttg gggtttttga ctgacttgtt 10740
ttttacgtat ttgtacttta ttccataaat cttgattaat aatgggggaa tgcttccctt 10800
cagctatcac tggtttatca ttaagccctt tacgacgttt ttcactccaa tctttgtatt 10860
tcgcaaattg aattttgccg atatagaatg ggttagctaa tatatatgtg atagaactaa 10920
tactaaaagg tttacccttt ttagtgacat agcctttgtg attcaatgca ttggctattt 10980
tacgatagcc atgtcctttg gcataggact cgaatatata ttttacaata ttagcttcat 11040
gttggttaat cattagctcg tgtttactat ctggtatttt gtcataacct agtggtaaat 11100

tgccttgata atagccttct tgggcacgtc tcgtttgccc cataaataca ttctcgacaa 11160
tgttattacg ttcgaattct gagaaactcg caagtatttg taacatgagt ttaccagaag 11220
aagtattgac ttccatacgc tctgataaac tgaaaaattc gacattttgt ttatgcaaat 11280
cttcgacgat tttcagaaga tccgatgtat tacgagctaa tcggtttgtt ttgtagatca 11340
taacacaatc tatattgcct tcttttgcat ctttcaacat acgttggagc tcaggtctgt 11400
tcataaattt acctgaaata ccacgatcag cgtatatatc tttgacctca aaatgatgga 11460
agtcacagta ttctttgatt tgattgattt gtccatcgat actataacct tctgtgcttt 11520
gcatttctgt tgaaacacgt acatagatac cgacacgttt tgttttaagt tgttgcatta 11580
tgttacatcc tttcttcatt tatgcaatcg atgattgcat ggcttgattg acgatattga 11640
gtggttcatt tttgaaatag attcctataa gatttttatc tttcgtaatg tgaatggttt 11700
caatataggg gtacaatatg tttaacgtga aacgtttttg aataatattt tgaatggtgt 11760
gttgtatttg atgcccattt atagatgtag tgcgttgcgg ttgttgacgt aatgattgcg 11820
tttgttctct gaacgtttct gcatcaatga tgccttgtgc caacttttct atcagttgtt 11880
cttgagtcaa tatgtgatgt ttttctatgt ttctttgtct tttgatgcgt ttgtcaatcg 11940
caccttttaat ttttgtgtag atgcgttgat tttgataaaa gtctcggcac acttctaata 12000
ctttatcttc aagtgtttgt gcattgatgc ctttaaaatc acagacaaag cgtgaagcat 12060
tcatgttttt aggacagacg tagtaacgta atgtatgatt ctttttttcta atggtcatat 12120
ttgtaagtgt tgcattacaa catgggcatt tgatttttg tttgagttga ttatccgaag 12180
atgtctgttt ggtttgtttt tgcgatcgaa gtctctgcgc ttgctcatat atacttgtgg 12240
aaacaataga aggaaacata ttgtcgaatt gaccatattg attgttgaca cgaccacaat 12300
aattaggatt gatgataatg ttacgaactt gatagggttg tcgattgata tacgtgttat 12360
cttcttctaa taactgtgca attttcttat aaccatgacc tttaatgtaa taattgaata 12420
cagcctttac cgttggtgac tcattttgat tgatgatgaa tgttccgttg tgataatcgt 12480
aaccaaaagg tgcatgtgtt gtaatcaatc gaccttgctt tgctttttct tgaagcccat 12540
ttctgacttg ttctccaatg ttatccgatt caagttcggc taaactgatg aagatattaa 12600
gcttgagtcg gtcgaaagct tgatccatat caaagtaacc atcatgtacg cttaagatat 12660
gaacatggta cgtttgacat aatttgatga gttttaatgc atttttcaga ttacgatgca 12720
acctattaag acgataacag cataatatgt cacattgtcc ttgttgaatt aattgtgtta 12780
cttgtcgata cccactacga ttatctttgc gtcctgattg tttgtcgcta taaaagttga 12840
tatgttgaat atgatgtttt tcggctattg cttcgatagc ttgtttctgt gctgcaagag 12900
attgttgttt catcgtactt tgacgtaaat agcctataac ttgtttcata tcggctcctc 12960
ctttcacagt gataatatat atttatagat gaattgatat ataagcccaa catcaatgag 13020
atgttgggcg tccatattag tcattcgttt gattgatttc ttcaattacc aaatcggcta 13080
atatctcgat aagttcatcc atgtttttca ctccgttatt tgttctatct tcaatacgtc 13140
gattattcag tttgatgctt cacggttgta tgataaagac aatcagaaat cttcgtgaac 13200
tcctgaaggg cctatcccct cattagcgga tttaaaaagt tctttcgcag ctttgttatc 13260
atttgccggt gtccaatttt gaattaacga cttatcttta gttaatccca ggatagatgc 13320
aaactctaca tctaatttta gatggtaaaa tacaagtgat tgtttttac cgctattatc 13380
tttgacactt cttttagttg tttggcgtcc acggtcagct aatatgaaac ctttatctct 13440
taaggcgttg acaacattat taacatcttg aaattgatga ttgtttagca tctgtttaaa 13500
aacgtttgca atcatttta cttcgatatg gtcatctttt aatgagatta atccatagtt 13560
ctcaaacata tttttcaaag caccttcatc tgaaaactta cctctgtttt gtgctacaaa 13620
ttgaatgatg acatcgatag ctttatcagc taatgagcgt tcagagattg tatgaccatg 13680
ataatcaata aagtagtctc ttattttagc gatatcaata tctgtagcta aaacacgacc 13740
taatattttt gcagatgttg taatgactgc ataacgctta aacatacgat tgcctgtgtt 13800
gcttttatca tctttcaatt tagcttcaaa ccaatctact tccttgtaaa accattgaat 13860
aacttcatct tcacgattta taagatattt agctactaac ggtaaaacat gaccatagtt 13920
tagtgctaca gctttttaa tattgtcagc attggtcgca tttgtagtga attgttcatt 13980
aatctcgatg gttcttacac gtaatccatc gttttgagct gaatcattaa aaatactgtg 14040
ttctgacgtt gaaatgacag aagtacccca attcttaggc gttttaactt ctccatgaac 14100
gtttgaacgt tgacgacctt gaccttcagt gatggagtac aataaccccg ttgtatctct 14160
aaaagttgct gatgagagtt catcaaatac aataggtata ccaaaattgt tactcaagta 14220
accttcaagt gcattacgtg tggcattcca atttctaaag agagtttcat tacctttggt 14280
agggttacca gcgactgata cagctaaaga agctgcagtt gacttaccgg ttgaggattg 14340
acctgtaaaa ctaaaaatga ttccggcaaa ttcggtttca tgtttgtgct tcaggaaact 14400
cgtcactaag gcagaaatac caaatacgac tgctaattct aaaagaagag aacctttaac 14460
ctcttttaga tacatgttaa accaattatc aaatgtacct ttaggagtta agtcataagc 14520
attatcacaa atggcgtcag atggagattt attatcaaat tctttagtag tatagatttc 14580
acttaacgat acaataggac caaacggtgt ttccagtata cctacccctt catataagta 14640
ggaaatgggt aattgattgc gcatttgttg caacgcataa cctaaatctt ttgtatattt 14700
ttcattaata ctaaatccat acttcattaa agatggcagt ttttgtgtcg ttaaaatatc 14760
actagattca acaatttctt tttgatcttc gtctgtgata attagttttt cagtattagt 14820
tttagggtca ataaacttat tttcgataac gataggacct gcgatttcaa cttcagtagg 14880
cattcctcct ttttcttttg ggggcgtgtc tttataccaa cctttttttg atttgtatcg 14940
tggtgaagga ttaaatgaaa ggttagtttg agccattagc aatcacctcc tttcgaaggg 15000
ttgctgttat ggtgtggatt aggacctgtt ttaagataaa ctaagtgacc gtgagtatcc 15060
ttaccgataa taataaatgg aacacgtggc gcatgtttta caaaatatgc gaaccaacgt 15120

ccaacatttt gttgtacagc ttttgaacat tgtacatttg cacgactgtt caagtcatga 15180
aatgtaaatt cttctccttc aggtaaattg aatgaaatac ctaatatttt ctttttaac 15240
tgctcgaatt tatctgattg attgaaatac atttaacttc ctcctactaa tgaactaaga 15300
taggaaaatt aaatatgcgc acaattaact ttcttaagtt cattttagcc aagaagttat 15360
catttgaaag cttgtaaaaa tatgttagaa attccgtact aaattaagat ggatttttgt 15420
tgacaaaata aaaaacgctg atttaacagc gctttaaata aaaattaatc tgaagttata 15480
taaaagtagt cagaaggagt ggtgttatta tcattataat aatctagtgc tttattgatt 15540
tcttttatta atttatcatg atgttctttt gttattttct ttggatattt gagttctttt 15600
tcttctaagt cttttggaga cactaggtca ctatttaaaa ttaatgataa cagcatattt 15660
ttaggtgccg aagctctggt gtctcgatga gtaatatatt ttgctaaatt actgtttata 15720
cttacttttt cattttctaa aaagtttgta ctatttttca catgagcatc agcaattttg 15780
gtacttattt cagtgtttaa atcgtctatt tcatctaaat aatattcaag aatctgaagt 15840
ttatctttag aagtgatacc tttttcagtg aaaatcttaa taatgataga tttgattcca 15900
atttctatat tactgtctac tagaaaatag agataataat tagtcagagc atgttcataa 15960
tctctttgat cagtaatttc atgattgatg aaataatata agttctcttt gatacgatta 16020
gaagaatcta tatctttgtc attgataccg tttttaaaaa agtgtagata aactgagttg 16080
tttgagagta tatcatataa tacaaataaa ctttttggtt taaatacata tgattttcct 16140
gatttaaagt ttgctatgtt tattcctaga gcgttgcaga atttattaaa attagttgta 16200
aaattatttt tttcttgaat aaacatgtcg ttgtcattta attctgaact atgattttta 16260
atcatattga tattttcttc aatcttgtca ctatttaaat tttccatgca aagtatacta 16320
tatcttacta tatcacttat atttatggaa aaatctttag gagaacgatt taaagtatcc 16380
tttttattat cttgatctac agccctacat gaatcatcaa aaacttcttt gacatttatt 16440
ttatcaatgt tcaaaattat gtctactaat gcattttgaa atttttcatt atatatgtct 16500
ctcttattca taatatcact acctttatca attataataa tatattatat cttaatattt 16560
gtagaagtac ttgatgagag gttagataaa acaccacatt tctctggtta gtaaaaacat 16620
aacttctaag actttttttc atatactaat aaattatatt ataaatattt ttgaaaataa 16680
aagtagtgta taaaaatgta tgcaaagaag gtgttttagt atagatttta aggcattcat 16740
ttttaatata aaatatttat aatattttat attaaaaatg attatccttt caaaattttt 16800
gcaacgagta attttacttt agttatatta taaagtagaa ttaatagtaa ttaaaggaac 16860
gtttgttcct gtttttatat gtaaatacga gaacgattga atagataaag aaggataaaa 16920
ttgacttcga aatagaatat ttaatttcaa gaaggagagt attggatgtt aaagcataaa 16980
ataataaatt taatacaaga aaagagagaa gggagttact gggattttaa agcagaatat 17040
cataaagata aagcagaatt attacatgat ataatttgtt tatcaaataa cttgttgaat 17100
caagaagctt atttaatttt aggagtcgca gataacggtc atattctggg ggttgcaggt 17160
gattcaaatc gaaaaaacca agaagaatta atatcattta ttactggaaa aaaatttgct 17220
gcgggtaggc accccaagat ttcattaatg acatttgaat atgaagaaaa ggaaatcgat 17280
gtcattataa taaatcctaa aggatatgta ccatactatc tggagagagc agaaaccgat 17340
caaaaaagta aaaaaaacaa aacagtcaat gcaggtagca tttatacaag agttgaagat 17400
aaaaataccc caatagattc tactgcaagt ccattagata cagaaatatt atggaaaatg 17460
cattttggtt tatatcctac tcctataaag aggttacaga attatttact aactcctgag 17520
aaatggatgc agaactcaac aggttatttt catagtgaat cgccagagta tatagtatac 17580
aaaaatgagg acattgaaga aaaagaaaat tattttaatt tagtaagtcc attttatgcg 17640
tataatcaaa tcaatagtaa cactttatac tcatattacg aatttaaata tcatagtaca 17700
gttttatatg gttgccggtg tatctcttta gattcaggta tctacacaac accagtacct 17760
gaactaggtg agataaattt taatatgcat agagatgata ctatttatta tcgttatttc 17820
attgaagaga cgatgcttta taatattcat ctttttatgt ataagggtga ttcgatggaa 17880
gagaaatttg caatggataa atttttagaa tgtgttttgg tttataaaag tgatgtagaa 17940
aaggaacttt ttgaaaatta tatattagat aattgggata aagttaatca gtcaattaat 18000
gaaaataata aacgtgtatt tggaactgaa catttgtcac aacttgaaaa agaagatatc 18060
actaaaaaag taaaaacagt taaagtttta aaagatgaac ttgagaactt tagaacttga 18120
gaaaaattat tggttaatag gagaaaatca tgaaaaaatc aacactcatt gataaatttt 18180
tagacttact ttcttcaaga agctcactca gagaaattca gaataatttt attgatgcaa 18240
acattatgag agatagttct ataaatcaaa aatataacgg acaacgtaaa tcgttagcgt 18300
gggaatatat tagtacttta aatttagaag atgaagctga attttctaaa ttacttaatg 18360
ttatagaaac gtatttgttt caatggaatc tgtatatcca tgaagttgat gaagacgaag 18420
aaattaatag attaataaaa ataattaatg tattaggtta tgaatataat aaagatacag 18480
gaaaaataac taaaaatgaa agagaagtta atttaagtac tattaaatct ttggcaataa 18540
aatttgatat tgaatatgta ttaaaagaat gtaatagaat tgaaaaagag gcactaacgg 18600
atccagagga cgcaattaca tctgcaaaat cgatggttga gagtactttg aagcatattt 18660
tagattctga aggagaaaaa tttaataata atgaaacctt gagaggttta tataaaaaag 18720
taagtaatat tatgaatctt tctcctggtg gacataatga aaatactttt aaaacaattt 18780
tgagtggaat gataaatgta attaacggtc tggacgaagt aaggaatgaa tatggtgacg 18840
cacatggtaa atcaaagaaa aattataggc ctgaaactag acatgctttt ctagcaatca 18900
acgcagcacg tacgataact gaatttcttt tagcttcata taaaaagtaa aagctatttg 18960
atgaatagca atcaaatata ttggttataa aaaaccgcat catcaactga taagcagaag 19020
catatcataa gtgatgcggt ttttattaat tagttgctaa aaaatgaagt atgcaatatt 19080
aattattatt aaattttgat atatttaaag aaagattaag tttagggtga atgaatggct 19140

tatcaaagtg aatatgcatt agaaaatgaa gtacttcaac aacttgagga attgaactat 19200
gaaagagtaa atatacataa tattaaatta gaaattaatg aatatctcaa agaactagga 19260
gtgttgaaaa atgaataagc agacaaatac tccagaacta agatttccag agtttgatga 19320
ggaatggaaa aaaaggaaat taggtgaagt agtaaattat aaaaatggtg gttcatttga 19380
aagtttagtg aaaaaccatg gtgtatataa actcataact cttaaatctg ttaatacaga 19440
aggaaagttg tgtaattctg gaaaatatat cgatgataaa tgtgttgaaa cattgtgtaa 19500
tgatacttta gtaatgatac tgagcgagca agcaccagga ctagttggaa tgactgcaat 19560
tatacctaat aataatgagt atgtactaaa tcaacgagta gcagcactag tgcctaaaca 19620
atttatagat agtcaatttc tatctaagtt aattaataga aaccagaaat atttcagtgt 19680
gagatctgct ggaacaaaag tgaaaaatat ttctaaagga catgtagaaa actttaattt 19740
tttatctcct aattacactg aacaacaaaa aataggtaat ttcttcagca aactcgaccg 19800
ccagattgag ttagaagaag agaaacttga actcttagag caacaaaagc gtggatatat 19860
tcagaagatt ttttctcaag atttaagatt taaagatgaa aatggaaaca gttatcctga 19920
ttggtctatt aaaaagattg aagatatttc taaagttaat aaagggttta ctccaaatac 19980
aaaaaatgat aaatactggg atgaattaaa tgaaaattgg ttatctatag caggtatgac 20040
acagaaatat ttgtataaag gaaataaagg aattactgaa aaaggtgcat caaagcatgt 20100
aaaagtagat aaagatactc taataatgag ttttaaattg actttaggta agttagctat 20160
agtaaaagag cctatctata caaatgaagc tatatgccat ttcgtatgga aagaaagtaa 20220
tgttaatact gagtatatgt actactattt aaattctata aatataagta cttttggtgc 20280
acaggcagtt aaaggagtaa cattaaataa cgatgcaatt aatagtatta tagtaaagtt 20340
accagtgata caagaacaaa ataaaatagc atacttttтc aataaattag ataaattaat 20400
tgaaaaacaa tcttctaaag tagaattatt aaaacaacgc aaacaaggat ttttacagaa 20460
aatgtttgtt taattcttat aaagttctat tatgtaaaat attaaataga gataacatta 20520
tgaaagcgag cccaagacat aaagtttttg aataaataaa aaagataatt tctatcaaat 20580
taatatagaa attgtctttt ttataaattt tttgattatt tttagctgat tgagctgtta 20640
cttttcttat aataagtgct attagcacaa atcctagttc tcttttggct ttgtttattc 20700
ctcttacgga cattcgagtg aaacccattt taattttatt agaagtaatt taggtttgaa 20760
cccacctaaa taaatatatg agttattttt ttatgctaca aaatatattc agatttcaat 20820
aatgacataa aataggcatc tttatattta cctttagtgt agaattgctc tttgagtaat 20880
ccttctgttt taaatccttg tgactcgtat atatgcacag ctttttgtt atctgtatca 20940
acatatagat aaattttgtg catgtttaat atatcgaatg cataatttat cgctttttcg 21000
aatgcgaatt ttgcataacc tttaccactg aactcaggtt taataattat ttgtatttca 21060
caattacgat ggatgtaatt aatttctact aattcaacaa tacctacgac ttgattttca 21120
tcttcaacaa taaaacgtct ctctgattca tctaataaat gcttatcaaa taaatattga 21180
agttccgtta aggattcata tggttcttca aaccaataag acataataga atattcatta 21240
tttaattcat gaacaaaaag taaatcacta tactctaatg ctcttagttt cataattcca 21300
ctcccaaaat tttctcatat atttgcatta taaatataaa taacgaataa gtcatcattc 21360
actgtgaata ctctatttta acaattcacc acatactaat tctcattttc ttgttattct 21420
cgatttatta ctcttactat gaaacctata aaattctcac atttgtttgt attaagaata 21480
aatacgtcga tagtaacaat aaaaaaataa ataataaagc atccctcacc gtaaaagtga 21540
aggatgctct agttttattg aaatatacat ttcattttgt taaataatta ttaataatat 21600
tttgaaaatc attattacgt gaaatcttca tagattttat caagtatttc tttgccttca 21660
attgctgtga agtgatgtac caatctattt ttacaatcat atgtaatttt gtgacgctag 21720
gtaattagta attgttcgtc agtctgattg tatagtatca agtttcatag ataatactct 21780
ttgattttaa tgtccacttt gacgtgcttt aagattgagt atatacataa tgtcattgtg 21840
gaatgttaaa aatcctacaa atgtttattc atctgcagga tttttaaatc tccaagaata 21900
aaaatcatca taggacaact ggattattgt ttggataaat aacgtaaaca ataattaggt 21960
actattattt atttttgttt attctttttc ctaacaaaat aaagaaaaga ataaacgcaa 22020
ttgttaaaaa tatgtgtcct aaaccagcaa taccagcaat agcaggactt acacttagat 22080
ctttaatggt agaaataccg ttcacgaatt gcattgccac agtaacaagc acacctaaat 22140
ggtatatata aaagaaactg ttaaacagct ttgtatgagt tgttaatttg aattggccct 22200
cgataatcat gaaaattaag aacataattg tacctagtac taataaatgt gtatgtgtaa 22260
catttaattg agaaaaaccg ctaaaatctt ccgcttttgt catttctcta taaaatagac 22320
cacttaataa ccctaatagt gtatagagcg ctgaactata cattaatctt ttcattttaa 22380
ttccccctat ttttaattac gagataagta tagcggtagt ttatgaactg agtatgaact 22440
tacaacaaaa aaattaatga agtactttac aataaactca atttattaga tggtggaggg 22500
acgaaaaagg attttagaaa aataaattaa tatattttta ttttgataag taataattaa 22560
taatatcttg gaaatcattg ttaagtattg ttgtaataca atcgtcattc ataaaatctt 22620
catagatttt atcaagaatt tcttcatctt cgatagatgt gaaatgatta gctaaccctt 22680
ttataattta agtgtaattt gtgaatctaa acaactagca actgttcgcc aatctgattg 22740
tgtagtgtca tggttcatag ataatcctcc ctttatttta atgtccattt ttgacgtgct 22800
ttagggttaa gtggatgcat aacttcgttc gttactggat taatgagttt tttgactttc 22860
tttttatgag gttttaacat ttccatcact tgctcaacac gttcgacgac aacaggccgc 22920
ttcgcataag ctccataggc tagaatcact gtgtcacttt cactaatcgc tttcattaag 22980
tgaatgtctg tgtgtttgtc ataaggctct ttcctacgat tagtcaagta cttataatta 23040
aaataagcat tacttaacta aaccgttcat tttaattttt ttgaataagg tgttaaacta 23100
tatttaattg tacgtttggc taatgtggtg acatttgata atcgtacaat ttatgattca 23160

ttacaagata atgaattgtt tttaataatc gatttataca agcaatgatg gcagtcttat 23220
gaggtttctc attaggctgc tttcttagtt tgtagtaata atcgacgaca tgattgtcat 23280
aatgatgctg ccctcttatt atattcataa tcacccaaaa taaaagtttt ctcgcttttt 23340
tattaccacg cttgttgatg gtatctctac agtgtgtatg acctgattga tatcgtttga 23400
tatcaatgcc aacaaaagca ttgagttgtt tatttgattt aaatcgctta atatcaccaa 23460
tctccccaat aatcatagct gtgcttagct taccaatacc aggtatcgaa tgaatatttt 23520
caaaataatc gagttgttgt gctaattgaa tcatggcatc atctaattgt ttgagatgat 23580
gaatagattg ttttaattgt tgaataagta agcgtaattt ttcgactaga aaggaatgtc 23640
tatcgacatt aggatagctt tcttgagcaa tcactcttaa ttgaagtgca tattttgtag 23700
ctttatccat tgacattccc ttatctgtag aattgaatat atgtgtaatc agtacatcct 23760
tgtcgatatc aagaaccatg tctggatgag taaagatttc tgcgatgttg agtgcaatga 23820
ttgaatatcg actactaaat aatctttcta aaccagggaa tgtttgatgg agtaattcaa 23880
ggatctgaaa tttaagtcga ttttgttcat tctcgatttc tagatgaaaa cggacgcgtt 23940
ctcttaattc aaagaatatt aactcatgta taggtaagct gtctgtttgt ttaagcgtcg 24000
gtcctaaaca agcaagctta tgagcatctg cctgatcagt tttccatgat cttagagcgc 24060
tcgttttaaa tttggcttct aacggattca tttgaatata gttaatttga tttacacaac 24120
aaaatcgttc catacctctt gaatagatac ctgtagattc aaaaatgagt tgtgggtggt 24180
ctaagtcatt caaatacttg agtaaataat tgtaaccatt tttattattc tggatgaaaa 24240
actctttttg gaattttcca tttttataat gtgcaactac actacttctt ttactaatat 24300
caacacctaa gtaatcgata aaaaaacctc ctttgaataa ttgagaagct aaaaacttta 24360
cttaaccttt ctcatttcat tttcctatac acggtttcaa gaacccaaca tactacaaac 24420
gaatttcaaa aggcgagagt aaagctgact tgtttttttat acggatttaa aatccaagag 24480
tctggacagt ctacttctct ctataactat aaaaaaatagc tatgaaaaaa tctatcgtca 24540
tagatttctt catagctaat cttagtatgt ttaatatgtt taaggttttc aggtgtttta 24600
atattagaga atagatttac tagatataca gcaccgtatt gttcagaatt agctaattgg 24660
ttgagaatga gaacagtggt aagatcgagt gataatacgc catctaaatg tggatacatc 24720
gttatcactg tacaagaggg tttcttttca tcccatattt tcttgagtaa gtagcggtgt 24780
tgttcatcgt cgctaaatat agcttctgtg tgtatcgtac ttttgattgt attcatatat 24840
cgttacccct tttaatattc ttctggtaaa agcatcacat aataaaaagc gtctacgcca 24900
tcttcacgaa tgacgtagac tttcttaggt aatgcatttt gatttttac atagtttgta 24960
tagtgatatt ccaatttgta tgcaggttgt tcttgttcat gtgtgattga gagtatattc 25020
tcatcttctt gcagtttaaa aatgtgtagg taatctgtat gaggttgatt gtcccgttct 25080
tttaccatgt tccaaagtaa gatttgaagg tctagagata ggtgttcact aatgcctctt 25140
gtgatatatc gattgatgtt catactattt tcctccattt tgcttttctt tcataatgtc 25200
aatcacttcg ttaatgactg taacagatat ttgtgccact ttgatccaat tattcatggt 25260
gattccctcc ttgttttagt aaatgacgtt catcgataag cgtgttttta gtgtctgtga 25320
ggtagagaaa gtccatatca aaatgatcca aataaccaat gctgatgagt tggtcattgg 25380
cgtacataag aaatggatag atacttagct catgtagctc atcattgtag taggtataag 25440
tgttgagtgt gagatgcgca agtagagaat tattaataaa acgttccggt agaatatttt 25500
ctgctgcttc ctcaagtgct tcacattccc atgtttcgtt gttagatagt tggaagagac 25560
gagttatata ttgtttgagt tcttgagtgg ttgttttcat atcattgcct cctagatagt 25620
gtgatagtga tgtagttgat atacatcatt gggataatat atatttgatt tattatttat 25680
tacgaatccc ggtgggaata agagaaaatt ccatataaaa acccgtgata aatgttggtg 25740
taacaaggaa atcccggaat cccactcatt ttgacgaaca atcaactcat tatttataag 25800
tattgatgat agggttgtgt ctctgcttcc ttatatatat tatttattta taaaaaataa 25860
cgggattttg ggattgtgct tgcacaatcc ttctgcttct tcgaatctgc aaatcccatt 25920
cctttcccgg taaaaaatca ttgtgggatg ttctttagca atttcaatat aagcattgtg 25980
tagtcatgaa aaaaatgacg gcaatgactg tttcattaga taagtgttat tgaaattgat 26040
aaagagaatt ctaaaaatgg ttagataaaa taagtgaaag aatagcagtg tagttattgt 26100
ttattcaata gttatatata aagtttgtgg caaaaataaa gacgaagtgc tagggagcac 26160
ttcgtcgagt ggatggttat taaatagttg tttgattata tcattattta acttgagcgt 26220
aacataaaat tgcttcttat gatgctcatc ttttcttatg tcaatgcgat cgatgattgt 26280
tagatatagt gatttcaact gagatttctc taatttgtct atatctttga atattgcttg 26340
tagtacattc gcaatcatat cagcatcata atgtggagct tctgcttgtt tatcttgttc 26400
tagttgatag atttgattat ttatttgatt caattcatct tggtagctaa gtattgttgg 26460
ttttaatacg ctatctaagt caggtgagtc ttcaatagtt ttcgttaatg tatgcatttt 26520
tgcttttatt tcttcacatt gtgactgttt ataggcaata tcatggttca aagaagagac 26580
gtctatttga ctttttttcat ttacctttttc aaccaattgc ttcaatacct ttttgctttt 26640
gataatttcc aatatctgat ccataacata tttttctagt acatctgctc taacgctatt 26700
ggcagaacaa acttttgaac ctttatttct aaaattgcta catgagtaat atctgattct 26760
tttcttagtg ccatctttta atgtattagt tgtattactt gcctccattg ctgcaccaca 26820
tttcggacat tttacaatcc cagtcagtag gtttgttcct ttgccgtgaa cttgtggttt 26880
cttgcgactc tcttgacgtt taaactgtac tttatcccat aggtttctat caataatagg 26940
cgcatgttta ccatcagcga taatcggttc ctcattgagt ccttttcgtc ttttatcgct 27000
ccagtgtcta tacttcgcaa actgtatctt tccaatgtaa aaagggtttg agatgatgta 27060
ggtaatggac gaaatactaa aaggtttccc tttcttagtc acataacctt tatgattcaa 27120
tgcgttcgca atcttacgat aaccatgacc tttagcgtat gaatcaaaaa tatatttaac 27180

aatattcgct tcatgttgat tgatcatgag ctctttttta ctgtcaggta ctttatcgta 27240
gcctagaggt aaattacctt gataataacc ttcaatagca cgttgtcttt ggccattgta 27300
gacattctct acaatcgtat tacgttcaaa ttctgcgaag ctggctaaaa tttggagcat 27360
caatttacct gttgaactgg caatttctat tttttcagtt agactaaaaa attcgacatt 27420
aatcttatac aattcctcga caatatttaa caaatctgag gtatttctag ctaaacgatt 27480
tgttttgtag accataatac aatctaattt accttcgttg gcatctttta acatacgttg 27540
taattctgga cgttgcattg ttttacctga tataccacga tcggtgtatt cattgacgac 27600
ttcatagcct tgaaattgac aatactctgt aagttgattc aattgacctt gaatactgta 27660
accatccgtt tgcatttcag tcgatacacg tgcatataat ccaatacgtt tctttttgag 27720
ttgtttcata ttacttcatt cctttcagga gttattaaat gtgattgttc aacgatattg 27780
agtggactgt ttttaaagta gattccttgt aattgtttag tttgagttat tttgatgcaa 27840
tcgataaaag gtgctatatc ctgtaaagtt attttatttt ttatgacata ttttaatttg 27900
tcatcgattt ggtaggttga ataagtagag taattctctt cacttttaca actagcagat 27960
aaacgtttga acgtttttac atcaatacga ttttgagcta gcttttcgat aagttgttct 28020
tgtgttagat gggtttcttt atgcttcatt tgttgctgtt ttaggacttt gagtattgtg 28080
ttattcaatc gtttatgaaa cgattgttct tcaaaatact ttttacaagt gtcgagcact 28140
tcactttcaa gttctggtgc attgatactt ttaaatgggc atgtacgata agcgtcattc 28200
atatttttag gacaaacata gtaacgtaga gaatagttct ctttttttat cgttaagttt 28260
gttaatgttg attgacagta aggacatttg attcgtcgct ttagcttatt tctagaattg 28320
gatcgattga gttgtttatg aatacgacgc tcttgtgctt cttcaaatgt atcaatatca 28380
ataataggtg gaacgatatc attaaacgtg ccatatttat tgatgacacg accgcaatag 28440
ttagggttca agagaatatt tctaacttga tagggcttac gaggaataag gttaggatta 28500
ctatccaaat gttgggaaat ctttttgtag cctagacctt gtaagtacca gcgataaacc 28560
gatttaactg tatacgcttc ttcttcttgt acaacaaaac aacctttttct ataacgatag 28620
ccaaacggag catgagttgt gattagctta ccttgtttgg ctttttctct aatcccattt 28680
tttgtttgtt cgctgatatt gtttgattcc atttccgcta gactcataag tatgttcaaa 28740
cgaaagcaat caaactcttt agacaaatca aaatatccat cgttaacact gatgattgtg 28800
atgtgatgct ttttacaaat ttcaaagaat tgtatggcat ttttcaaatt acgatgtagt 28860
cggttcaagc gatagcaaca caatacttta cattttccag acgtaattat ttctaccatt 28920
ttttgataac ctgaacgttt tgtatgtcga cctgttttct tatcatcata aaacgccaca 28980
ttagaccatc catattgctt agcggtatcc ataatgagcg atttttgagt agctaagctt 29040
tgttgtttga gtgtactttg acgtacataa gcaatcgctt cttccatgtt atacacctcc 29100
aaaaagataa tatatatttg tgagtaaatt agaatgaaag gtccaacgtg cttttaacac 29160
gttggaccgt cgtgattagt tatcgttctg tagctcttca acgactaaat cagctagtaa 29220
ttcaatcaat tcatccattt tatctactcc tgtacgattt catctttaag ttattaaaaa 29280
tcaattaaat catcgttctg ttttttccat gattcaagta tctttttgtt atccaagtta 29340
atttcagctt taataggttc agcatcttta gttagaccaa aaatagacgc atattttgaa 29400
tctagcttta aatggtaaaa gacaagtgac tgtttcttgc catagtcatc tttaactgct 29460
cttttcgtag ttattcgatc acggtcagat tcgataaatc ctttatccct tagtgcattc 29520
acaacattgt tgacatcttg gaaatgatgc tctatcaaca tattcttaaa tacagatgca 29580
atgattttaa cttcgatata atcatctttt aaggcaatta gtccatagtt ctcaatcata 29640
ttctttaatg ctgtatcatc agaaaactta ccacggtttt gtgctacaaa ttgcgtaatg 29700
acttcaatcg ctttatcagc cagtgatcgt tcagagactg tatgagcatg ataatcaata 29760
aagtagtctc ttattttagc gatatcaata tctgtagata aaacatgact aagaatcttg 29820
gccgaagtag tgatagccgc atagcgctta aacatacgaa taccagtatt atttgtttca 29880
tccttcaatt tatctttaaa ccaatgatgt aattcaaaaa cggatcaaaa aacaaaaggc 29940
cctagaaact aggagcacac ttacacaaga acaattgata gataaattag ctaaaggagc 30000
catcgatgca gaaacgttca gaaaacaatc tcaatcgtta cttcaacaat caaaaccaac 30060
actatcaata aatgagcaac aaattcaaag gtcttttgaa aatgtaattc aacaacactt 30120
cacgttaagc atgttatacc gatatattga tgaaattcat atttctaaaa acaaaagcct 30180
tgtgggaatc tatttcaaaa atgaaccgct aaacattgta aaccaagcta cgcaatcatc 30240
gattgcttaa ttaatgaaag gatgaaaaat atgaaagaaa tgaaaagaaa atctgtagga 30300
tgttatgtta gagtttcaac aatttctcaa gacattgata aatttagtat taatggtcaa 30360
attacacaaa taaaggaata ttgccaacag ggaaattatg aattgctata ctgataatta 30420
aaagtacccc cgatcgaacg aaaatatctt tttgatgact attagtgata attgtaattt 30480
tatccattaa tagatgaatg gattggaata atactaagcc tattgctatt ccaccgagta 30540
aaattaccca cccgcctaat tcaatacttt ccggaatcat ttcaaaaaat aataagccaa 30600
ttataaggcc tgcacataat gaataaataa agccatgacc actttgaaaa ccttccatta 30660
tccaagcgag tccaccgcca acaccaattc caagtgcgga agctaacgcc cgatcatcca 30720
tactgcactc atcccactat tcttaaaaag gctttgttta ttttactcta aaaaatcaaa 30780
acaaaatata tgaattcata ttaaatatta tttgactctt tattcagatg gttatatcat 30840
atatatgaac atatattaat atatgtagat aaatagtgat tattatatat aaggttttga 30900
attgaaacct aaagtgaggg aaggataatg gaagaaaaaa aggaattaga ggaagtaaat 30960
aataaggact tagatgatga aacattattt gtcgtatcgc aaacatttaa agcgttaggt 31020
gatcctacga gaatccggat tctccatttg ctcttttata aggagtattc ggtaaacggt 31080
attgctgaaa cgctacatct tagacaatca acagtttccc atcaattgcg gttcttgaaa 31140
aatttacggt tagtaaaatt ccgaagggaa ggcacaacat tgttttattc ccatgatgat 31200

gaacatacta tgaatatgct aaaacaggcg atcgatcacg cctgtcatca ctagtattcc 31260
gtaaaccagt aatgagtgtt aataataatt cacgtcatta atattgttat atgatcatat 31320
aaaaatatta taggcatatg aaaagggggt tttgcaatgg atatggaaaa caaaaaaaca 31380
gaatggaaag cgttgtatga tatctcgaag gaaagtgaga tgggtgtagc agagagggtt 31440
agtgaatacg gttgataaat tcataggatg tattattgga tacaaaaagt ttggatgtgg 31500
tcaattaacg tcctggttta gtaaagctta ctgcgaatat attggaaccc gatatatcat 31560
atttatttag aaaggtgata gaaatgaaaa atattcaaga gcaacaagca cacgaaagtc 31620
atagccacga tcatagtcat gatcatgatc acggaaaaat gccaattatt tcatatttta 31680
ttggcttagt gttggctata attgggcttt ttttaagtga tgcaaattta ttaatacaaa 31740
acatcttatt ttcaattgcc acaatcacag ccggctacca tgtaattatt ctcgaaggaa 31800
ttggagagac agttgaaaat actaaattaa agggaaaatt cactcctaat tctcatattc 31860
taatgggatt agctgcaatc ggggcttctc tgatagggag tttttgggaa ggaaccttt 31920
tgatacttat tttttccggc gctcattttc ttgaagatta cgctgaagga aaaagtaaaa 31980
gagaaattac taagctactc gaaatgaacc caacgacagc taaattaatc ttacctgatg 32040
gaaacacaaa aattgttgat gtcagtgaat taaaagttgg agatcaactc caagtgctga 32100
acggtgatca agttccaatt gatgggataa ttttatccgg tactacctca attgatgaat 32160
cttctattaa tggagaaagt ataccgaaag agaagtctaa gggtgacgaa gtttttggaa 32220
gtacgattaa tggaacaggt acttttacta tggaagtcac taaggaaaac aaggatactg 32280
tattctctaa aattttacaa ttagttagtc aaaaccaaga taatcaaaca aaagctgcca 32340
gtatcattca aaaattcgag cctaaatatg ttaatatagt tttaatcgca ataccattag 32400
taatgttact tgctcctttt ctatttgatt ggacatggtc gcaaagtgtt tacaggggat 32460
tagtgctttt agtcgcagct tcaccgtgtg ctttggcagc agctactgta tctgtaacat 32520
tgtctacaac atctaaccta gctaaaaaag gcgtgctttc aaaaggaagt acttacctat 32580
cacaattagc ggatatagat gcaattgcct tcgataaaac aggaaccctt acgaacggag 32640
aacctaaagt aacaaattac tatttcactc attctgtgaa cgaagaaaat attattgata 32700
ttatagtcgc ccttgaaaag gaatccaatc acccactcgc taatgctatt ttagaaaaat 32760
ttgaagttaa aaataaaata gacatcgaag ttactaatca aattggaaaa ggtctgacag 32820
gagattataa tggaaaaaat tatcgtattg gtaagcctac ttcttttgaa agtgcttctg 32880
aagagtatac ccagttcaat catgattggg catcagaagg aaagacggtt gtatacgtag 32940
cagaaaatga agaagttatt gggattatag ctctaatgga tattccgaat gagcatgcta 33000
aagaaacaat taattacttt aagaaacttg gtatccacac gactttaatt actggtgatt 33060
cggaaatgac gggaaaagct gtaggcgaac aattgggaat agacgaagtt atcgctaatg 33120
taatgcctga agataaatcc agaattatag aagaacaaaa agaaaaattt ggagttactg 33180
ccatggttgg agatggtgtg aacgatgcac cggcccttgt taatgctgat gttggtatag 33240
ctatgggggg cggtactgat gtggcagtag aagtatctga tttggtttta atgcagaaca 33300
atttatctaa attagtacag tctcataaaa tttcctcaaa tatgggtcgt gttattaggc 33360
aaaatattat tttttcaatg gcagttgttg ccttttttagt tgtcgttagt ttgttaggat 33420
taactgatat tacaatcagt gtaattgttc atgaaggaag tactttagtt gttatactaa 33480
atggacttcg attattaaga tctaaataat gaacgaatcg attgacatga atgaactttg 33540
aagtgtggat tctacaatgt tcccataaca ttggacacta aaaaacagag caatctaata 33600
aagatgttat gagtaaaaac aatgccttgc ataccgtttt tatcatacgg gcggtcaaat 33660
aagcaattaa agagcatggg aagcataaaa tcataaacag tgacttaagg cagccagttt 33720
acattcaaaa gttaaattga ctgtattaaa agtttcgaaa cgattaatat ccgtatgggg 33780
gcaagcgtcg agccaaagat aatgccagga cagagcgtct ttttccgttc ttttaagtgg 33840
gaaaggtttt accttctcta tgccaagaca gtcccagagc taaaagggcc agttgctctt 33900
tttgggcgtt tgtgaacggt aatcgcagga aggggatttt cccaaccgca cctggttttc 33960
catcacaata aagttggcgg catttgttct gatattcttg ggaatactta cactatgaat 34020
ggccgtatta agtgatacag gagctgctat tattgtaata ctgaatgctc tccgcctttt 34080
gagggtaaaa gaataaaagt aaggataact aggtaaagct gttcaatcaa aaattgaaca 34140
gcttattttt catcaaaatc aaaaacgttt attataatac ctacacttgt tctgttaaat 34200
gtaccgattt tttaacctta ttgtatcagt aatatcttga aacgaagtaa gcgactaaaa 34260
tttctctttt atcatacgtt tataaaaata cacttttaag aacggtttga aaatttttga 34320
aatagatcaa aataatcttc tggttaaaaa acctgtagat atgatttctc tcttaaattt 34380
ttgtttgatt agattagacc ctaataagac gcattcaata tgtctacacg tgaatttagt 34440
ctttgaaaat gtaaggacca ttattattat aaaaacccca gtataaaacg atacgctgaa 34500
gcgtaccaca aataaaacta aaaaaatgaa tattataatg atatattaac aattaaaagt 34560
ttgaactttt ttggcaatga tgttaaggca aaaatgtatt gaagaaagtt aagagtttgg 34620
gacataaagt tctaggataa gtgaaaaaag acaatttcta ttgaagtaat ataaaaattg 34680
tctttttttat aatttttttg attattttca gatcgttgag ctgttacatt tcttatatta 34740
agtgccatca gcacaaattc tagttctctt ttgtcttttt tattcctcga acggacattc 34800
gagtgaaatc caaaatggcc ttaataaatc caaaaaacag gctccacatc aacttttttt 34860
gactgtagat ggtttttgtt tttgatttga agtttatact ttatacattg gtgtttcaga 34920
ggacattctg aacaatcatc acattcatat aatttaaagt ctcgtttaaa aactatattt 34980
atcatgacta taggcatatc ttttaaatcc tagtctttta ttattcggac aagtgaattc 35040
atcgttaatt tcgtcataat ccccattttg agtattaaga aatgtcactt ttatattttt 35100
tagttttatc ttttataaac atttcataag ttatgagtgg cattcgatta aaatgataga 35160
atgctttaga gtctttattc atccttgact caggttttga atactatttt tccatacaaa 35220

tgtatatcga ttggcatttg cctcaacttt cgtatcatca ataaaaatgg cttgatcatc 35280
tctaagattt tacttcaaac actgaatatg aaattgaata aataacgttt ctaataaagc 35340
atcactttgg gatttactct aaatcgatta atcgttttat aagaatgctt tagattttgt 35400
gacagccaca ccattcggat tctatcattg agcaattttt ctatcttacg tcctgaaaac 35460
acagattgtg tgtaggtata tagaactact tttaacatca tttttggata gtatgatgtt 35520
gcaccatgat aatgtctgaa ttcatcgaat tcagtctcgg gaattgtttc tacaatatca 35580
tttggggtga gtattatttg atgaaagctg aagataaaag ttagaataaa attactaaat 35640
atagatttga catctttata aattaagaat ttgtcaaaat aaagggaggc attctataga 35700
taatggtgaa tgatgatttt acgaatgagt tatatcaact tatagttcct atggatgata 35760
aaataaaaga aaacattgat gaagtattat ctttctacaa tattaatttc aaaaaatatt 35820
tatttagtat ctcttcgtta gtaacctttg aaaagtgtaa taaattacga ggaagaattg 35880
ctaaatatcc tatttttaca attttatatg aaaaagtaga atatgatgaa aaagggatta 35940
agattataat taatagtaaa attcttaatg acatacaaac gcatgtgagt catattccta 36000
atactactga aatttatttg gttaacttta ataacctaaa catttctgaa aaaacaaaga 36060
aagaattggt taaagaatta aataaaatgt ttaacgacca gaaaaaaaga aagttagccc 36120
atcaagttgt aaatattata gagataataa aattggatag tcatggtaag tctctaattg 36180
atatcggcta tttctattta ggtgctaaaa atagtgcttt aaagtttcaa aaaatacata 36240
ttcaagaaaa aatggactat cggggaaagt aatttcaaat cgatttgaat tattaagaga 36300
tatctatgat atagacatga atcaatttca accctatttt gataagaaag atagtaaaac 36360
aaaaagatca aattatgaat ttgatatgga gcaattcgaa tctataagta cattagtaga 36420
tttgttagag aattacccac ttcctaaaag tgaaaataat attaaacatt tagaaagtat 36480
taagaaaaat atatttagtg ataacgcaga tgaatacgaa aagtatttta atgaaggtat 36540
agataaactt aaagaaggtg catttgaatt acaaaagcaa ttatataacc agtatccatt 36600
tcaattactt atgcgatttc agtatgaatt aactgaatta attaagcata ttagtatgta 36660
ttttaaacaa gtaaatcagt caaatatata tgaagctacg actttatacg aaaaattaaa 36720
caattttatt ttaagaagtc tacttgagaa taactcagaa aaagttaatt ttaaaaactt 36780
tttgaatgga gtaaaatttg aagaatcaac aatcaatgca gatgaggaaa taattgttaa 36840
aaaatacaat gattttgtag ataatattga gtttaataaa gatgattttg ataaactata 36900
tgatcaatat gaggtgttta atagtataac taaattagtt acattaaatg aagatgaaat 36960
aaaatgggat catatatttg tatataaata taaattaaaa acccctttca ttgataaaat 37020
aatcattgat aacttgaaaa acattaaaag tcaatatatt gatagtaaaa ctatgttgga 37080
aagagaatac aataaaaatg gtaattttat ttttgatttt ttaaatttag caaaatgtaa 37140
agatgagaat gaattagatg aggaaataga tgagttactc ttcaatcttg ataatatagg 37200
taacagatta ctaaagaaag ttgtattagg tcactctaaa aatataaaat attcaaacgc 37260
actattaaaa gaaattcgga gaatgataaa ggttttaaat ttatattctt cacaaaaaaa 37320
tcaatccaac atggttgtca cttaccatca attgcaaaag agcgataatg aatttgataa 37380
tagaattaat ttacttacaa aggaattagt ttatctaaga gtaaagaaag aacttttttaa 37440
taacagtaaa tatactcata atgatgatag atagacattt aatttgaata atgaataagt 37500
ttaagctaac tcaattgagt tagctttttt ggcttccccc tctttaatga attttgggga 37560
agctaacgat tagttctaaa aatgttgata aagtatatct tgtaacgtta ctaataaaga 37620
tttcccgggc aatcaaactt gggggtgagt ttaaaaatgg aaagcaaagt agttgtaaaa 37680
gtagaacatg ataacgataa attacgagtt gagctaaacg tttcgaaaag agatgacttt 37740
aactatcaaa tgcactttgc aataagtgaa cgtgcatatg cattactaac tgtaatgatt 37800
ggtagagcgt taatgttacc aagagggaca gtattctcat gctatgaaag gttctgttgc 37860
aaagttgaat ttatagtata attttaacaa aaaggagtct tctgtatgaa ctatttcaga 37920
tataaacaat ttaacaagga tgttatcact gtagccgttg gctactatct aagatatgca 37980
ttgagttatc atgatatatc tgaaatatta agggaacgtg gtgtaaacgt tcatcattca 38040
acggtctacc gttgggttca agaatatgcc ccaattttat atcgaatttg gaagaaaaag 38100
cataaaaaag cttattacaa atggcgtatt gatgagacgt acatcaaaat aaaaggaaaa 38160
tggagctatt tatatcgtgc cattgatgca gagggacata cattagatat ttggttgcgt 38220
aagcaacgag ataatcattc agcatatgcg tttatcaaac gtctcattaa acaatttggt 38280
aaacctcaaa aggtaattac agatcaggca ccttcaacga aggtagcaat ggctaaagta 38340
attaaagctt ttaaacttaa acctgactgt cattgtacat cgaaatatct gaataacctc 38400
attgagcaag atcaccgtca tattaaagta agaaagacaa ggtatcaaag tatcaataca 38460
gcaaagaata ctttaaaagg tattgaatgt atttacgctc tatataaaaa gaaccgcagg 38520
tctcttcaga tctacggatt ttcgccatgc cacgaaatta gcatcatgct agcaagttaa 38580
gcgaacactg acatgataaa ttagtggtta gctatatttt ttactttgca acagaacctc 38640
caatatcatt aaagcaacac cagaaactat gaaaacatca gcgagattaa agataggata 38700
atcaatgagc cgaaaatcaa ggctatctat tacttctcct ctaatcaagc ggtcaaaaaa 38760
gttccctaat gctccaccta gcaacagtga taaggcaaaa gagattcgtc ggttattcct 38820
tccttctgtt tgtaaataat aaatgatacc cagtacaaca attaacgtta caataataaa 38880
aaaccagcgt tgaccttgca aaattccaaa tgctgctcct ttatttcgaa gagaagtaat 38940
atggaatact ccttcccata aaggaatggt ttgacctatt tccattcatt tgacaatcgc 39000
agatttccat agttgatcaa tgattaaaac gatgactgca atgatatagt agatcctgat 39060
tctcctcctc caatattcat tattttaaag tataccatga tataacgaaa aaatgtatat 39120
tttattgttg caataaaacg ttatattatt tatactaata tatatacaaa taataatttg 39180
aatgttattt tatacactaa ttacagagga ggggttgttt tgagtattac ttccataaat 39240

aaaaaagaac atgatttaga tggtataaaa tcaaggggaa aagatgcttg tgagacattt 39300
atatttgacc cagaaaaggt tgagcgccgt cagcaggaag tcggtcaaac ggatggctta 39360
tcacaattgt ttaaagtttt tgcggatgat acacggttga aaattgttta tgcacttacg 39420
caagaagatg aaatgtgtgt ctgtgatgta gcaacgatta ttggttctac gaatgctact 39480
gcttcacacc acctacgtat gttacgtaat atggggtttg ccgagtacca taaaaaaggg 39540
aagatagttt tttataggct agtaagtaat catgtgcatc accttatgca agaagcacta 39600
cagttgaagg aaaagaagta aatgtgatga gtgttgggaa aaattagtta aaatgttaca 39660
aacaactcag tcctccgttt tacatgatgg aatgcagttg ctcaaaaata aaccataaaa 39720
attacctaag aaaagaccag tagataaaaa atcatctcag gagatttaag acctggtatc 39780
cactagggct taaatcttgt tttttctctg aattgtaccc tgatggtcca aattatttgt 39840
gaaatggaat gaattaaagt aaggagagtt tgtaatgttc tcatggactg tagtatctct 39900
tgtgttactc acaagtatag ctaatcttgt tggaggattt attgtcgtga gaaaagaatg 39960
gtcccccaaa gctcttacat atttaatggc ttttagtgca ggttttcttt tatccatagg 40020
tattcttgat ctaatgccag aaggattaga aaattcacct gaaaatggaa tctatatatt 40080
aataggattt ttagtattat tttcctttca aagaatcctc acaactcatt ttcatttcgg 40140
ctatgaaaca catgaggata aactcagtaa aaaaacgggc ggtttaggtg cctttatcgg 40200
aatgaccatt catagtttct ttgatggggt ctccattgtt gcgggattcg aagtaagcag 40260
tgaattaggt ttccttgtgt ttgttgctgt attacttcat aaaatacccag atggcttaac 40320
catttcttcg attgttcttg tagtatttaa tgacaggaaa aaggcgttta ttgcctctgc 40380
agtactggct ttggctacta tatttggagg agctttagta tggctactca gtgacacaga 40440
atttgcagct gaagtacttg gcgattcttt tgcaagaatt gctttgtcct tttcagcagg 40500
tgtttttcta tatgttgcag caacggactt acttccagtt gttaatcaat ctgaaaatcg 40560
aaaaactggt ctttacgttt tgcttggtgt agccgttttc tatatagctt cttggatcat 40620
aggagttgtt gggttggaat gaaaatatta aaggaatagc cttgaataat cagttgagga 40680
aattaaacag aaaagttgag tttagtctta gcaaaaaaag aaataaaata caatcaaata 40740
atcatttgac tatctatatg tgtggatata taataacaac agaacataac gtaatattca 40800
aatgaatatc ataatgagag atggccaaga atataggaat tccacatgca ttgattgata 40860
aaagatacat tggttaatta agaaggaggt tattaaatat gagtgaagca acgaagccat 40920
tagaggagaa atatgtctat cgtgttgatg gattttcatg cgcaaactgt gcaggaaagt 40980
ttgaaagaaa tgttaaaaaa attccgggag tagaggatgc aaaagtaaat tttggagcat 41040
ccaaaatttc cgtttacgga gaagcaacgg ttgaagaatt agaaaaagca ggtgcctttg 41100
agaaccttaa agtggctcca gaaaaaccta ggcggcaggc tccgcaagag gttaaaaaag 41160
acaaaaatat atatcgtgtt gaagggtttt catgcgcaaa ctgtgcagga aagtttgaaa 41220
gaaatgttaa aaaaattccg ggagtagagg atgcaaaagt aaattttgga gcatccaaaa 41280
tttccgttta cggagaagca acgattgaag aattagaaaa agcaggtgct tttgagaatc 41340
ttaaagtggc ctctgaaaaa cctgtacggc aagctacaca agagattaac caggaaaaag 41400
aggatgaaaa agaagaaaaa gtgccattct ataaaaagca cagtacttta ctctattcga 41460
ccttattgat tgttttcgga tatctttcag tctttgttaa tggggatgag aacattgtta 41520
ctacattatt atttgtagca tcgatgttaa taggaggatt atcgcttttt aaagttggtt 41580
tccaaaactt gttacgcttt gaatttgaca tgaaaacact tatgactgtt gcagttatag 41640
gtggtgcgat tataggagaa tgggcagaag tttctgttgt tgtcatactc tttgcaatta 41700
gtgaagctct agaacgattt tctatggata aagcgagaca atcaattcga tcattaatgg 41760
atattgcacc taaagaggca cttgttagac gaaaaggtca agaaatgatg gttcatgtag 41820
atgatattgc agttggagat attatgattg tcaaacctgg tcaaaagatt gccatggacg 41880
ggatggttgt aagtgggtac tctgctgtta atcaagctgc cattacaggt gagtcagtcc 41940
ctgttgaaaa agcggttgat gatgaagtat ttgcaggtac tctaaatgaa gaaggattac 42000
ttgaagtaga aataactaaa ttagtagaag atacaaccat ttcaaaaatt attcatcttg 42060
tagaggaagc acagggagaa cgagcaccat ctcaagcctt tgtagaaaaa tttgcgaaat 42120
attatactcc gatcatcatg atcatagctg cgttagttgc tgtagttcca ccattattct 42180
ttggggctag ttgggaaaca tgggtttatc aaggtttagc tgttttagtc gttggttgtc 42240
catgtgcgtt ggttatttcc accccgattt cgattgtttc agcaattgga aatgcagcga 42300
aaaagggtgt cctaataaaa ggtggcgttt atttagaaga aatgggtgcc ttaaaggcca 42360
ttgctttcga taaaacaggt actttgacaa aaggtgtccc tgttgtaact gacttcaatg 42420
tgttgaacaa acaggtagat gaaaatgaaa tgctatccat cattactgca ttagagtatc 42480
gttctcagca ccctcttgca tcagcaatca tgaaaagagc agaagaggcg aatatttctt 42540
attcagatgt tgtgatagat gacttctctt ccattacagg aaaaggaatt aagggtactg 42600
tagacggaac gacctattat attggaagtc caaaactatt taaggaactg tcaaactcta 42660
gttttgataa gaatttagag aaaaaagttg caactcttca aaatcaaggg aaaactgcta 42720
tggttgttgg aactgacaaa gaaatactag ctattattgc agtagcagat gaagtacgtg 42780
aatcaagtaa agaagtcatt caaaaactac atcaacttgg catcaaaaat acaattatgc 42840
ttaccggtga taataaaggt actgcgaatg ccattggaag tcatgtcgga gtaaaagaag 42900
ttcaggctga attaatgcct caggataaat tggattatat taaacaattg aaatcggaat 42960
acaacaacgt agctatgatt ggcgatggtg tcaatgatgc acctgcattg gcagcttcca 43020
ctgttggaat tgcaatgggt ggagctggta ctgatacagc attagaaacg gcggacgttg 43080
cactaatggg agatgattta agaaaacttc cgtttacggt aaaactaagt cgaaaagcgc 43140
taaacataat aaaagctaac attacttttg caattgctat taaatttatt gccttattat 43200
tggttattcc aggttggtta acactctgga ttgcgattct ttcagatatg ggtgcaactc 43260

ttcttgtagc gttgaacagt ttacgactta tgcgagtgaa agattaagag taaaaagagt 43320
gtgggacata aagtcccagg ataagtaaaa aaagacaatt tctattgaaa taatatagaa 43380
attgtctttt ttattatttt tttgattatt ttcagctcgt tgagctgtta cttttcttat 43440
attaagtgcc attagcacaa atcctaattc tcttttggct ttatctatcc ctcgaacgga 43500
cattctagtg aaacccaaaa tagccttcat aaatccaaaa acaggctcca catcaatttt 43560
tctttgactg tagatggttt ttgtttttgg ttctgaaagc tttttattaa tttgggcttt 43620
aaaatattcc caattataat ttttcattat ttttttattt gtttttgaat tgaagttcat 43680
acattgttgt ttcagagggc attctgaaca atcatcacat tcatataatt taaagtctcg 43740
tttaaaacca tatttatcat gacgataggc atatctttta aatcctagtc ttttattatt 43800
cggacaaatg aattcatcgt taatttcgtc ataatcccaa ttttgagtat taaagatgtc 43860
acttttatat tttttagttt tatcttttat aaacattcca taagttatga gtggcgttcg 43920
attaaaatta tctataattg ccatataatt ggcttcgcta ccataacctg cgtcagctac 43980
aatatattca ggtaaatgac cgtaggtctc ttgtattgta tttaaaaaag gtatcattgt 44040
tcttgtatca gtcggatttt gatacacatc ataaaataaa acaaattgag aatttgtcgc 44100
tatttgtaaa ttataccccg gtttaagttg tccatttttc atatgatctg ttttagaata 44160
actatttcta tcctttaaaa tagatttttg gacttcgtat ttatgctttc gctgagagta 44220
atcattaatt tgctttttgt atttttaat tttagttctt ttgagccgta tttgttttct 44280
tattttagta cattttcat tatcgatatg ttggtttaaa tcttcgattt ctttatctaa 44340
atgactacca atcaaatcta tttcttcttt tgttaagtca ttatcatgat ctttttaat 44400
ctcaggtatg attttattta tcaccaattc atgatagagt gctttagagt tttcattcat 44460
tcttgactca tggttttgaa tactcttttt ccatacaaat gtatatcgat tggcatttgc 44520
ctcaactttc gtaccatcaa taaaaatggc ctgatcatca ataagatttt gtttcaaaca 44580
ctgactatga aattgaataa ataatgattc taataaagca tctactttgg gatttactct 44640
aaatcgatta atcgttttat aagaaggctt ttgattttgt gatagccaca tcattcggat 44700
actatcattg agtaattttt ctatcttacg tcctgaaaac acagattggg tgtaggcata 44760
taaaactact tttaacatca tttttggatg gtatgatgtt gcacctcgat gatgtctgaa 44820
ttcatcgaat tcagtctcgg gaattgtttc tacaatatca tttacatgtc gtgaaatatc 44880
atttgtgggg ataagaactg aagtttccat tggtagagta agttgagtca tgttataatc 44940
tttatacata aggcacctcg ttaatttagt ttagtgatgt ttattaaatt atacgaaagg 45000
gccttatttt tttaaagtat tttaatgtaa aattacatat gaatacaaag tattttggcg 45060
agactcttga gggaacagga caagctgaag actacaggct gaagctgtcc cctaagaaag 45120
cgagccaaca atacgaagta ttgtaaataa agaagccagt aaatgaattt atgaaaactc 45180
atttactggc tattttgata ggaattatgt cccaggccct tttaatcaaa atgtagatta 45240
ttttttataa attgtctaat aagagaagaa aaataggtga aaataagaaa aaggttagat 45300
acatattaca caactatatt cttgagtaca aatagtaatt atagttactt atcaaaggag 45360
gaatctagga tgactggaga agtgaaaaaa tatgtagacc ttttagtgat aggagcaggg 45420
tctggaggtt atgtggcggc aatacgtgct gcccagttag gaaaaaaggt ggtactggtt 45480
gataaggcgg agttaggagg agtttgcctt aatcgagggt gtatcccttc aaaagctctt 45540
attagtgcat ctgaacgagt caaacacatt aaacatgcca atacaatggg gcttaaggtt 45600
tcgggtgagg ttcaagttga tatgccagaa gtagtaaagt ggaaggacgg aatcgtgaac 45660
aagctaacag atgggattcg caccttgtta aaaggaaatg gtgtagaggt catcagtggg 45720
gaagcctatc tcactgaagc acatattgca aaaataaaaa tagaggacga ggaacagatt 45780
ttttcctaca aagatttaat tcttgcaata ggttctttgc cagtcgagtt aaaaagtatg 45840
ccatttgatc aaaaaagaat catttcttca acggaggcat tgcaactaca ggaagtaccc 45900
aatcatttag ttgtggtagg tggtggttat atcggtttag agttaggtac tgcttatgca 45960
aagtttgggg caaaagtgac catccttgag ggatcggata caattttgtc cgggacagat 46020
cctatcctaa caaaaacagt aaaacgtcat ttaaaggaaa ttggaatcac tgttataacg 46080
gatgcccttg ttcaaggtgg agaaaataca ggcgatgaag ttaacgtcca tgttcaagtt 46140
gatggaaagg aagaaattat tcaatgtgat tattgcttag tttctattgg gagaaaacca 46200
aacacaggta aaattggtct ggaaaatatc ggagtagtat tagacgacca aggatttatt 46260
aagataaata acaaatgtca aacaaacatt gaacatgttt atgcaatagg ggattgtgct 46320
ggtggtgacc tccttgctca taaagctagt tatgaagcaa agatagcagc cgaagtgatc 46380
agtggtcaaa atagtgtgat tgattttcaa gcgatgcctt ttgttatctt cagcgatcct 46440
gaagtagcct atacaggttt aacagagaag gaagcaaagg aaaaaggata cgaaacagta 46500
tccagtcgtt ttccattcca agcaaatgct agggcgttat ctgtctcgga tgcagatggc 46560
tttgtacaag ttgtagccga aaagaatacg aaaagagtgt taggagtaca gatggttgga 46620
ccagaggtat cctctctgat tgcagaggct gtttttgcga ttgaggctgg ggcaaatgcg 46680
gaagatctta gccttacgat tcatgctcat cctaccttac cagagccact tatggaagca 46740
gcagaaggtg tgatgggaca tgctacacat atgttgaata aaaagcaata atgtgaatgc 46800
aggccaacct gcacttttttc ataagtgcag gttgaatttt tattaatgga tggagactca 46860
tgcacatttt gtattgatag atgtattact gtataaaatt cctgatggta tggattaatc 46920
actattcatg aatttctaat gaactgggtt aatacaaatt atgaaatata tcaaatcgtt 46980
tttctgactg tttatgaacg atgaaggagt tgatataaat gaatttaatt ttaactattc 47040
tctctgcttt aggttctttt atagtaacca atgtcgatga tatttttgtc ttgatgttac 47100
tgttctctca agcaaggtca caagctaaaa cgggtaacag tggaatagtt agcatggagt 47160
cgaaaggaaa ccgtatttat ccaagagata tagtcattgg ccaatatctt ggttttgcac 47220
ttttagtttt aatcagtctt ttagcaacat ttggagtaac actcattcct gatcagtggg 47280

taggtttgct aggattaata ccgatatatc taggagtaaa actctttata aagggtgaag 47340
atgaggatga aggtaacatt ctttccaact taaacaaatt taataagttc tatttaagtg 47400
tagcctttat cacattcgcc aatggcggag acaatattgg aatttatgtt ccattctttt 47460
ctaccttaaa taacaaccaa ctgataatta cagttgttac tttctttata atggttgctg 47520
tctggtgttt aattggctat cgtctagcaa ggttcagata tgtttctgaa acacttgaga 47580
aatacggccg ctggattatc ccaattgtgt ttataggatt aggaatatat attatggtgg 47640
agaacgaaac tttccgcgcc attttgagtt tagtgaatta aaaatttctc aaaagtacct 47700
ctgatttaca gtaggacttt gatatttaga gtaaatattt atcctctgac aaataattct 47760
atggatacgc tcatctatat tttgcttagc gtacaaaatt tccgaaatgt tggctgtacc 47820
ccaataagca attagaatat tatcaaaatt gttaattaag aatagccctc gaaaaaatcg 47880
ggggctttgc ttttggcata agacggccaa aacaaagccg aaccaaaagg agtgaatgtg 47940
atgtgcataa cgcacacaca tcacattcac attaaaacta aattcaaaat ggagggaaag 48000
tgaagattca ctttcccttt attttcattt ttagaattta tttttttgtg ttgaaacgct 48060
cacacgtaca atcaaagatt gtacttttaa caagcctact caatcttaca aggggcaata 48120
aaacttttta ggttctgttg caaagtaaaa aatatagcta accactaatt tatcatgtca 48180
gtgttcgctt aacttgctag catgatgcta atttcgtggc atggcgaaaa tccgtagatc 48240
tgaagagacc tgcggttctt tttatataga gcgtaaatac attcaatacc ttttaaagta 48300
ttctttgctg tattgatact ttgatacctt gtctttctta ctttaatatg acggtgatct 48360
tgctcaatga ggttattcag atatttcgat gtacaatgac agtcaggttt aagtttaaaa 48420
gctttaatta ctttagccat tgctaccttc gttgaaggcg cctgatctgt aattaccttt 48480
tgaggtttac caaattgttt aatgagacgt ttgataaacg catatgctga atgattatct 48540
cgttgcttac gcaaccaaat atctaatgta tgtccctctg catcaatggc acgatataaa 48600
tagctccatt ttccttttat tttgatgtac gtctcatcaa tacgccattt gtaataagct 48660
tttttatgct ttttcttcca aatttgatac aaaattgggg catattcttg aacccaacgg 48720
tagaccgttg aatgatgaac gtttacacca cgttccctta atatttcaga tatatcatga 48780
taactcaatg catatcttag atagtagcca acggctacag tgataacatc cttgttaaat 48840
tgtttatatc tgaaatagtt catacagaag actccttttt gttaaaatta tactataaat 48900
tcaactttgc aacagaacca tttgcgatac aacgaggcga cattagccgt taatttgctt 48960
aactgtagaa gatttaaaag aacccccttgc catatattta acaatgttgt ccgggataac 49020
aacacagtga atccaccgtt tagttaagat gatggatttt ttcaaactgt ggatgaggta 49080
cagagtttca ttagataaaa acagggaaaa cttattaaag agtgatttct gtgaggagga 49140
taatgatgac aaagaaatac gatcttattg tgattggtac aggttctgcg gggtcaatca 49200
cagcagcaaa atgtaataaa gccggctgga atgtagctat ggtagatgac aggccgtttg 49260
gaggcacgtg tgcactacgt ggatgtgacc caaaaaaggt tctacatggt gctgccgagc 49320
ttattgattg gaacaaacgg atggttaaga atggagtacc gtctgaagtc tccatcaact 49380
ggaaagatct tatgaatttt aaaagaacct ttacagatga tgtcccggaa aaaaaagagg 49440
aagcattgaa taaacaggga atcgatacgt atcatggcaa tgcatctttc gtgagtgagg 49500
acaaacttga agtgaataaa gaagtgctcg aggggagtca tttcttgatc gctagtggtg 49560
cgaaacctac ccctttaccc ataaaaggag aagaacatct tacttatagt gatgagtttt 49620
tggagttgga tgaattacca caaagaatcg tctttgttgg tggtgggtat atttcgtttg 49680
aatttgctca tatcgcggca cgtgctggat cagaagttca tattatccat cgaggtcaaa 49740
gacctttgga gaattttgat atagatcttg tagatatcct tttagaaaag tcgaaagaga 49800
ttggcataca ggtacatctt caacattccg ttgaatccat tgaaaaagaa caaggaaagt 49860
ttcatgtgta cgctcgaaaa aaagaggata taacgcggtt tgaagcagac attgttattc 49920
atggtgctgg acgggtccct gccttagata tgaatcttga aaaagggaat atagaaagga 49980
aaaaacatgg tgtccatgtt aatgagtatt tgcaaagtgt aagtaacccg aatgtctatg 50040
cagctggaga tgctgcagca acggatggct tgcccctcac acctgtagcc agtgcagatt 50100
ctcatgtcgt agcatctaat ttattgaaag ggaacagcaa aaaaattgaa tatcccgtga 50160
ttccatctgc tgtatttacc gtacctaaaa tggcatcggt aggtatgagc gaggaggaag 50220
ccaaaaactc tggccggaat attaaagtaa agcagaaaaa catctccgac tggtttacgt 50280
ataaacggac aaatgaggac tttgctgcgt ttaaagtgct aattgacgag gatagtgatc 50340
aagttgtcgg tgctcatttg attagtaatg aagccgatga actaattaac cactttgcaa 50400
cagccattcg ctttggaatt tcaaccaaag aattgaaaca aatgatattt gcctatccaa 50460
cggcagcttc ggacattgca cacatgttgt aagtttgcgt tttgtgagat gtttataaac 50520
cactttatcg tctaatcttg ttatatgatc ttagaatcaa aaagaaaata actttttga 50580
cagccacatt tttcaacgga agaatgtggc ttcttggcgt gaagagcaga tatctttatt 50640
cttaaacttc taaaaaagct tatgtgaaca cttgataaat aaggtttttt atctgaccta 50700
ttttataaga ttattctata aaagaaaaaa taatgtatga cttgaccgtg tactatagta 50760
cagggtttat acttttttatt gaggtgacaa tatggagatg aaaatcagtg aattggctaa 50820
agcgtgtgat gtgaataaag aaaccgttcg gtattacgag cggaaaggat tgatagccgg 50880
gcctcccaga aacgaatcag ggtatcgaat atattcagag gaaacagcag atcgggtacg 50940
gtttattaaa cgaatgaagg aattggattt ctcgctaaag gaaatccacc tgttgtttgg 51000
tgtggttgat caagatgggg agagatgtaa agatatgtac gcctttaccg ttcaaaaaac 51060
caaagaaatc gagcggaaag tgcaggattt gttacgaatc caacggttat tagaggaatt 51120
aaaagaaaag tgtccagatg aaaaggcgat atatacctgt cctattattg aaacgttaat 51180
gggagggcct gataaataaa tgggggaaga tttgaatgaa aaaacgcatt tccttcaccg 51240
ctataatgac ggtgttgtta atcggtttaa cagcttgtgg agcagaatct gataccgcga 51300

atgaatcaaa ggttcaagac attcaaggaa atccagtcag cctacctaat gagaaaccca 51360
cactcattta ttttatggca acctggtgtc catcttgtat atacaatgag gaaatcttta 51420
aggaaattca tcaactaaac ccgaacgatg ttcaattgat cacagttagt ttagacccta 51480
acacagatac aaaagaaagc tttgcgaaat ttaaacagga ttatggcggg gattggcccc 51540
atgttttaaa gataggagtg gaattatgag tttttcgttt ctcttcattc tgaccgctgg 51600
aatggttgcg gcctttaatc cttgtggtat cgccttgctt ccttcttata tctcctattt 51660
aattggaggc gaaacaaagg atcattcgtt ccgctatgca atttttaaag gattagggct 51720
tggtggagcg atgaccacgg ggtttttaac gatttttgta ttggctggtt tgttgatagg 51780
aggattggga agcgcactaa cagggatttt tccgattctt tcattggtta tgggtatact 51840
cattgcttta ttggggttgg gcatgctatt tgggaagcat ttgccgatta aaataggatc 51900
ttttcaagtc aagccaggga aatggtctat ctatttttac ggaatagcct atgccgtgac 51960
atcacttggt tgtaccttgc cagcctttat gttggtggtc tctgcatcgc tgaatgacaa 52020
tagcgtaacg gccgtgatca tcaagttcat catctactcc cttggtatgg gaattgtggt 52080
gacagcgatc acgatggtct cattgatttc acgacaattg gtacagaagt ttctgcacaa 52140
ctatatgggt tctatccaaa aaatagcagc tgttgtgatt ttcctctccg gtttgtacat 52200
ggcttattac tggtatttcg gttctggtgg catttgtaca ttttaaaatc caaccgatca 52260
ggtgtaacaa aaaatagatg aaagatgtaa aaaagctaaa cgaacaaatt tcaagttagg 52320
ctataggcca tgtatgtacc ttaaccaaag aataaaattt ttttagaaag agtggtgaga 52380
atgatggatg agaatcgctc gaaaggtaac cgctggggtg tttgggcctt tttcggaata 52440
ttattggttc ctttattggt tcctttactt tgttgcgcag gaccgattct ccttgttgca 52500
ttagggagca caggtattgg tgccctcttt gctggtgcga caggaaattg gtggttgacc 52560
ggcatttttg cagcattggc cattgttatg attgctctga tcctcagcaa gttgttgaag 52620
aacaaataca attctcctga aggcaatgga aaaacaaaaa ataaaacgga ttgctgtacg 52680
cctccagaga gcgtggatcg gaaacatgag acaagataaa tatgagataa atgtacagaa 52740
ctgtctatca aactttaaat agaaagaggg attcaaatga ctcaaaattc atataaaata 52800
cccattcaag gcatgacatg cacaggctgt gaagaacatg taaccgaagc attggaacaa 52860
gccggagcta aagatgtttc ggccgatttc cgacgcggtg aggccatttt tgaactcagc 52920
gatgatcaga tcgaaaaggc taagcaaaat atttcggcag ccggctatca acccggagag 52980
gaagaaagcc agccctctga aaacagtgta gatttcaatc gggatggcga ttacgatctt 53040
ctgattattg gttccggcgg tgcggcgttt tctgcagcta tcaaggccaa tgaaaacggg 53100
gcgaaagtgg ccatggtaga acggggaacc gtcgggggga cctgcgttaa catcggttgt 53160
gtaccgtcaa aaaccatgct tcgtgccggt gaaataaacg gtctcgccca aaacaatccg 53220
tttaccggac ttcaaacgag taccggtgct gcggaccttg cccaattgac cgaacaaaaa 53280
gatggattag tcagtcaaat gcgtcaagaa aaatatatag acttgatcga agaatatgga 53340
tttgatctca ttcgtggcga ggcctcgttt atcgacgata agacgataca agtgaatgga 53400
caaaacatca cgtctaaaag ctttttaatc gcaacggggg cttctccggc tgttccggaa 53460
atcccgggaa tgaatgaggt tgattattta acaagtacat ccgcactcga attaaaagag 53520
gttccacaac gattggcagt gatcggttct ggctatatcg cagcggaatt aggtcaaatg 53580
tttcacaacc tcggaacaga agtgactctc atgcaaagaa gcgagcgtct gtttaaaacc 53640
tacgatcctg aaatttccga agccatcgat gaatccttaa ctgagcaagg acttaacctg 53700
atcactgggg tcacttatca aaaggttgag caaaacggta agtcgacaag catttatatt 53760
gaagtgaacg gtcaagaaca agtcatcgaa gccgatcaag tcctcgtggc aacaggaaga 53820
aagccgaaca cagagacttt aaaccttgaa tcagcaggtg tgaaaacagg gaaaaaaggc 53880
gaagtgctga ccaatgaata tttgcaaacg tcgaataacc gaatatatgc cgcgggcgat 53940
gtgaccctcg gtccgcaatt cgtttatgtt gcagcttatg aaggcgggat tgtggcaaat 54000
aatgcgttgg gtctagcgaa acgcaaaatc gatcttcgct ttgttcccgg cgtaaccttc 54060
accaatccat cgatcgccac agtcggcttg actgaacaac aggcaaaaga aaaaggttac 54120
gatgtcaaaa catcggtcct tccgttggac gctgtaccgc gggccttagt caatcacgaa 54180
acaacagggg tctataaact tgtagtcaac gcccaaaccc agaaattgat cggggcgcac 54240
attgtgagtg aaaatgctgg agatgtgatt tatgcggcaa cgttagcggt tcaatttgga 54300
ttgaccattg aagaccttac ggatagcttt gcgccttatt taacgatggc tgaaggatta 54360
aagcttgcag ccttgacgtt tgataaagac gtatcgaaat tatcttgttg tgcaggctaa 54420
tggttccttt tgattctaat gctatgttgc aggaggcact taaaacaatg aagtggagaa 54480
aatataagga ggaataagct tatgaaaaat atttcagaat tctcagccca acttaatcaa 54540
acttttgatc aaggggaagc cgtctctatg gagtggttat tccgtccgtt gctaaaaatg 54600
ctggcggagg gcgatccagt ccccgttgag gacatcgcgg cggagaccgg gaagcccgtc 54660
gaggaagtta agcaagtcct acagactcta cctagtgtgg aacttgatga gcagggccgt 54720
gtcgtcggtt atggcctcac actggtccct acccccatc gcttcgaggt tgatgggaag 54780
caactatatg catggtgcgc ccttgacaca cttatgttcc cagcactcat cggccggacg 54840
gtccacatcg cttcgccttg tcacggcacc ggtaagtccg tacggttgac ggtggaaccg 54900
gaccgcgttg taagcgtcga gccttcaaca gccgttgtct cgattgttac accagatgaa 54960
atggcctcgg ttcggtcggc cttctgtaac aacgttcact ttttcagttc accgagtgca 55020
gcccaagact ggcttaacca acaccctgag tcgagcgttt tgcccgttga agatgccttt 55080
gaactgggtc gccatttggg agcgcgttat gaggagtcag gacctactaa tgggtcctgt 55140
tgtaacattt aatcttaggc aattacgcct gcgtcaatct tggccttacg atgatgtcct 55200
gtaaccgaag ctctatctag tgaaaccaat tttatgggaa accaaataaa taaaaagatc 55260
aattgcttgt gcctatatcg gggagttaat aaagcgagaa agtggattct tgaatatagg 55320

agtaaataag gtgccaaaat ggcaccttat ttaaaatatg taacgccaag gtctgccgta 55380
ttatattgca ttggaaaaag aaaaccttct gtataaggag atgttatatg atatttggta 55440
aactgttcgg cagtttgggc gtagaaagct tttgctcctt gaacatcacg tttgccagtt 55500
acaatgtcat ttaacaagtt taaagataaa aaattcatcg cttcctcatg acactttgct 55560
gatgcctcac ctgtagttcg atctaagtag acacttccat caaaagcggc aatcgcatca 55620
tataagtgta cgggcacttt ataatcgatg gtctgcttaa ggaaatcaag gtgaggggta 55680
gggaagttat gagggactgg atccttatat actatcgtgc gtttccatgg cccgctattg 55740
taccaaatta atcgtctcat tgttgcttcc tggggatatc catacttact aattatggtt 55800
tttgcccctt ccaacggtgg tccctgccaa taggacaaaa tgtgatttaa atgactatcc 55860
attgccatac ctcctaaaca tttgcctaaa agcattgtat gcccaataaa tgaattttag 55920
gtaaatgtat atttaatgat cggcagattg cagtaaataa cgaatgcctg caatgcaatt 55980
aacatgggat ttaacactgg acagtaattt ttttgctggg attttgctat cagatagctt 56040
ttcttagtga tgataggata tgttgaccaa attggccgtg agattggagg ggtggttttt 56100
atggttagtt gttgttcaat cgatccatac actgaattcg aagtcattat tattggtgcc 56160
ggggtgccgg aggtttctct tgcctttcat ttgacttcat acggcataag gacggcactt 56220
gcggatgaac agaacgtgga taacagatta aaggactttt taagaacttt tcaagaattg 56280
attgagcgcg attcgggtat gccgtgaacg ttacaggcaa taaaagaaga tatgcacctc 56340
atccttttg acggtaccat tacccttgaa ggtgaacatg ctgtccgtat tgatgaacac 56400
aaaattcggg gggatcgtat ggtcgtacca tttgatacgt ttaaacaaat aggaaaacct 56460
agaaaccaaa acgacatcca ttttaaaaac gatccttttc aaagagttac gaatgattta 56520
tggatcacga atccctcatt gtcagaagtg gatcaagaac aaatatggca gactggagac 56580
tatttttcaa aacaccttca gaacattgaa taaatgaagg gttctgttgc aaagtaaaaa 56640
aatatagcta accactaatt tatcatgtca gtgttcgctt aacttgctag catgatgcta 56700
atttcgtggc atggcgaaaa tccgtagatc tgaagagacc tgcggttctt tttatataga 56760
gcgtaaatac attcaatacc ttttaaagta ttctttgctg tattgatact ttgatacctt 56820
gtctttctta ctttaatatg acggtgatct tgctcaatga ggttattcag atatttcgat 56880
gtacaatgac agtcaggttt aagtttaaaa gctttaatta ctttagccat tgctaccttc 56940
gttgaaggtg cctgatctgt aattaccttt tgaggtttac caaattgttt aatgagacgt 57000
ttgataaacg catatgctga atgattatct cgttgcttac gcaaccaaat atctaatgta 57060
tgtccctctg catcaatggc acgatataaa tagctccatt ttccttttat tttgatgtac 57120
gtctcatcaa tacgccattt gtaataagct tttttatgct ttttcttcca aattcgatat 57180
aaaattgggg catattcttg aacccaacgg tagaccgttg aatgatgaac gtttacacca 57240
cgttccctta atatttcaga tatatcacga taactcaatg catatcttag atagtagcca 57300
acggctacag tgataacatc cttgttaaat tgtttatatc tgaaatagtt catacagaag 57360
gctccttttt gttaaaatta tactataaat tcaactttgc aacagaacct tattgcatat 57420
ctttttagcc atatcactga tagggtgaag catatcataa atgatgcggt tttt 57474

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la detección de la presencia o ausencia de una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) de tipo xii AEDM caracterizado por que la secuencia del número de identificación secuencial 20 comprende: contactar una muestra para ser analizada sobre la presencia o ausencia de dicha cepa SARM de tipo xii AEDM caracterizada por la secuencia del número de identificación secuencial 20 con un primer cebador que hibrida con una secuencia del número de identificación secuencial 20 de extremidad derecha de un elemento CCEmec y un segundo cebador que hibrida con una secuencia orfX del número de identificación secuencial 20; tener en la extremidad derecha del CCEmec la secuencia del número de identificación secuencial 20; siendo dichos primero y segundo cebadores de una longitud de al menos 10 nucleótidos; generándose un amplicón de dicha cepa SARM de tipo xii AEDM; y detectándose la presencia o ausencia de dicho amplicón.

2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicho primer y segundo cebador están dispuestos en una pareja de cebadores, seleccionada del grupo consistente de los siguientes números de identificación secuencial: 35/45, 35/30, 35/62 y 35/44.

3. El uso de al menos un cebador y/o sonda seleccionados de los siguientes números de identificación secuencial: 30, 31, 32, 33, 35, 44, 45 y 62, para la detección del tipo xii AEDM caracterizado por el número de identificación secuencial 20.

4. El ácido nucleico de número de identificación secuencial 20 o el complemento de dicha secuencia.

5. Un fragmento específico de tipo xii AEDM del ácido nucleico de la reivindicación 4 que comprende una secuencia de la extremidad derecha AEDM, en que la secuencia de dicho fragmento es específica para tipo xii AEDM relativo a las secuencias de AEDM tipos i-xi y xiii-xx, y donde dicho fragmento es apto para se usado como cebador o sonda.

6. Una pareja de cebadores para la detección y determinación específica de una SARM de tipo xii AEDM, en la que uno de los cebadores de dicha pareja es el fragmento de la reivindicación 5.

7. La pareja de cebadores de la reivindicación 6 seleccionada del grupo consistente de los números de identificación secuencial 35/45, 35/30, 35/62 y 35/44.

8. Un procedimiento para llevar a cabo una reacción de amplificación de ácido nucleico caracterizada por el uso del fragmento de la reivindicación 5 ó la pareja de cebadores de las reivindicaciones 6 ó 7.

9. El procedimiento de la reivindicación 8, en el que dicha amplificación del ácido nucleico es PCR.

10. El procedimiento de detección de las reivindicaciones 1 ó 2, comprendiendo una segunda pareja de cebadores para la detección de una segunda SARM de tipo AEDM donde el segundo tipo AEDM se selecciona del grupo consistente en:

a) Tipo xi AEDM caracterizado por la secuencia de número de identificación secuencial 17 ó el complemento de la misma;

b) Tipo xiii AEDM caracterizado por la secuencia de número de identificación secuencial 15, 25 ó 26 ó el complemento de la misma;

c) Tipo xiv AEDM caracterizado por la secuencia de número de identificación secuencial 16 ó el complemento de la misma;

d) Tipo xv AEDM caracterizado por la secuencia de número de identificación secuencial 56 ó el complemento de la misma;

e) Tipo xvi AEDM caracterizado por la secuencia de número de identificación secuencial 21 ó el complemento de la misma;

f) Tipo xvii AEDM caracterizado por la secuencia de número de identificación secuencial 55 ó el complemento de la misma;

g) Tipo xviii AEDM caracterizado por la secuencia de número de identificación secuencial 39 ó 40 ó el complemento de la misma

h) Tipo xix AEDM caracterizado por la secuencia de número de identificación secuencial 41 ó el complemento de la misma; y

i) Tipo xx AEDM caracterizado por la secuencia de número de identificación secuencial 42 ó el complemento de la misma

FIGURA 1

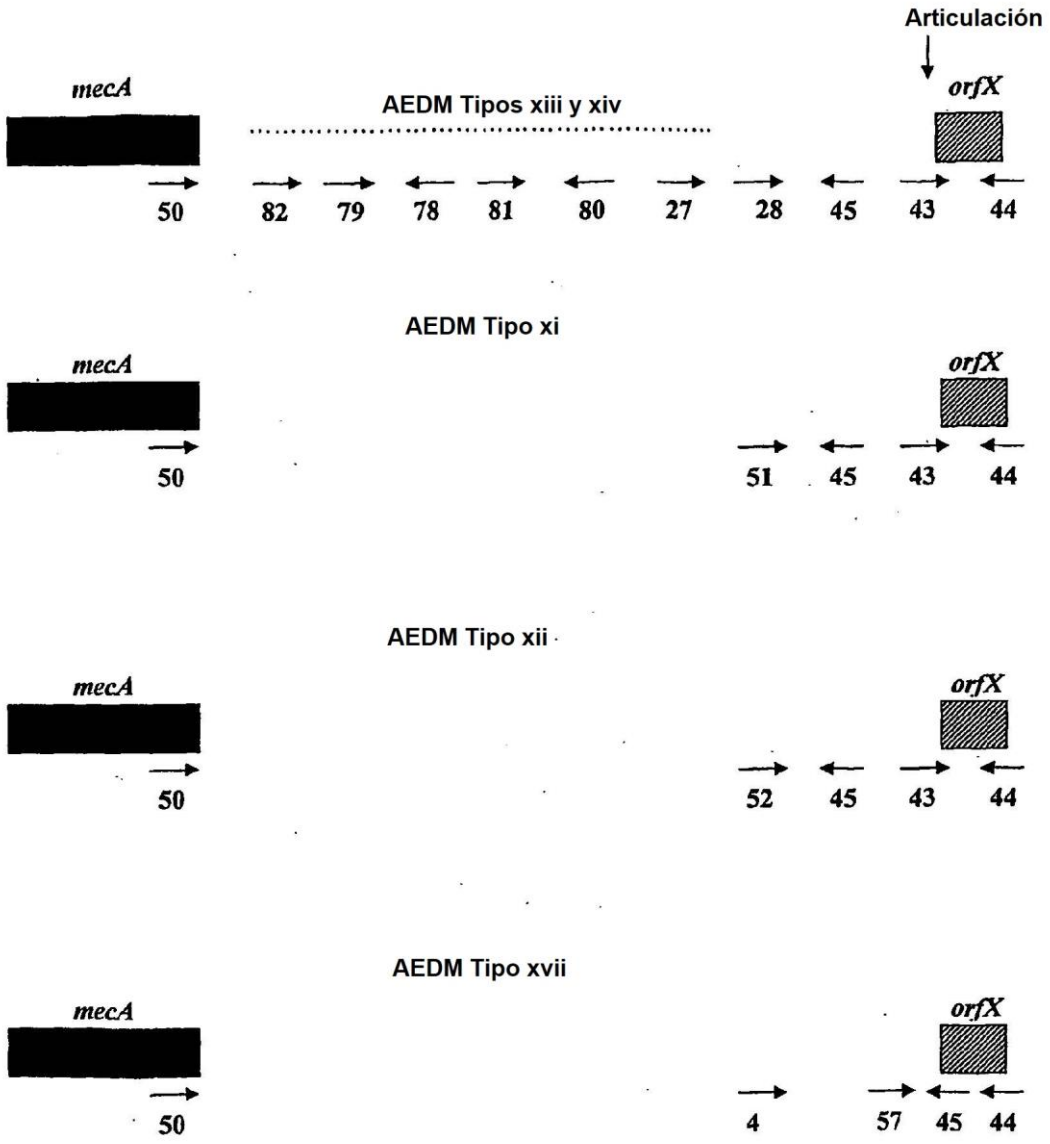
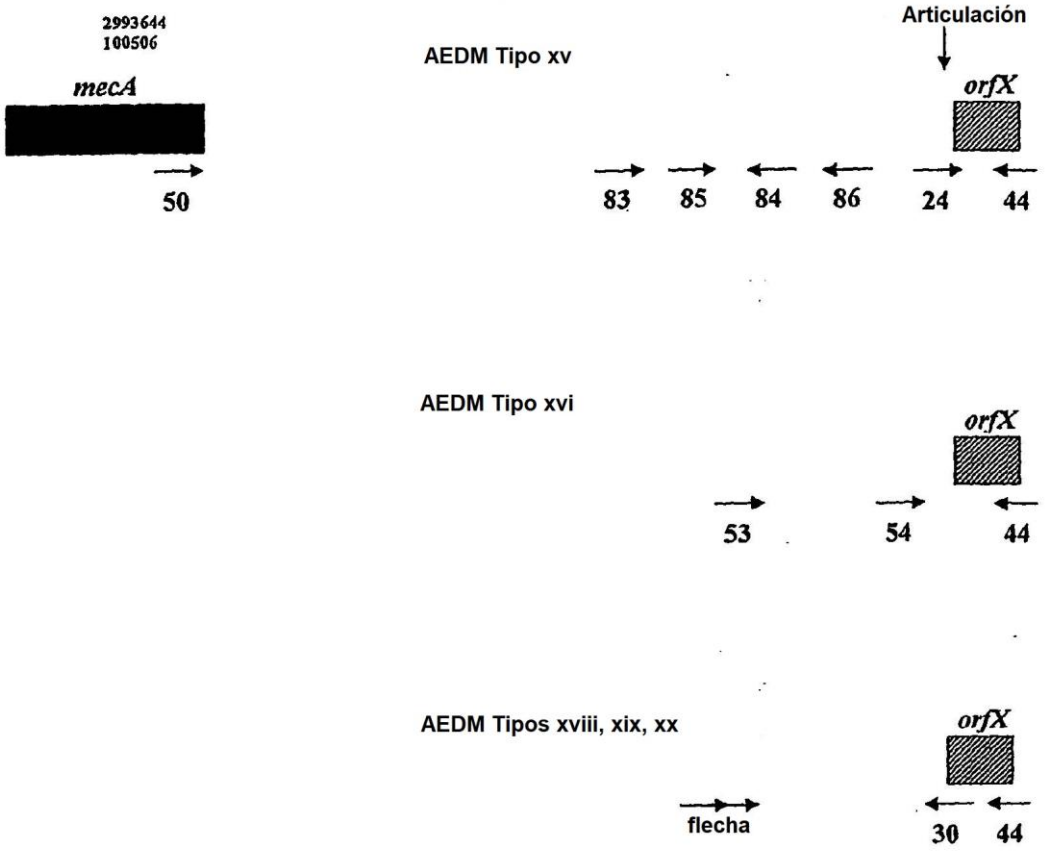

Articulación
mecA
orfX
AEDM Tipos xiii y xiv
50
82
79
78
81
80
27
28
45
43
44
AEDM Tipo xi
mecA
orfX
50
51
45
43
44
AEDM Tipo xii
mecA
orfX
50
52
45
43
44
AEDM Tipo xvii
mecA
orfX
50
4
57
45
44

FIGURA 1 (continuación)



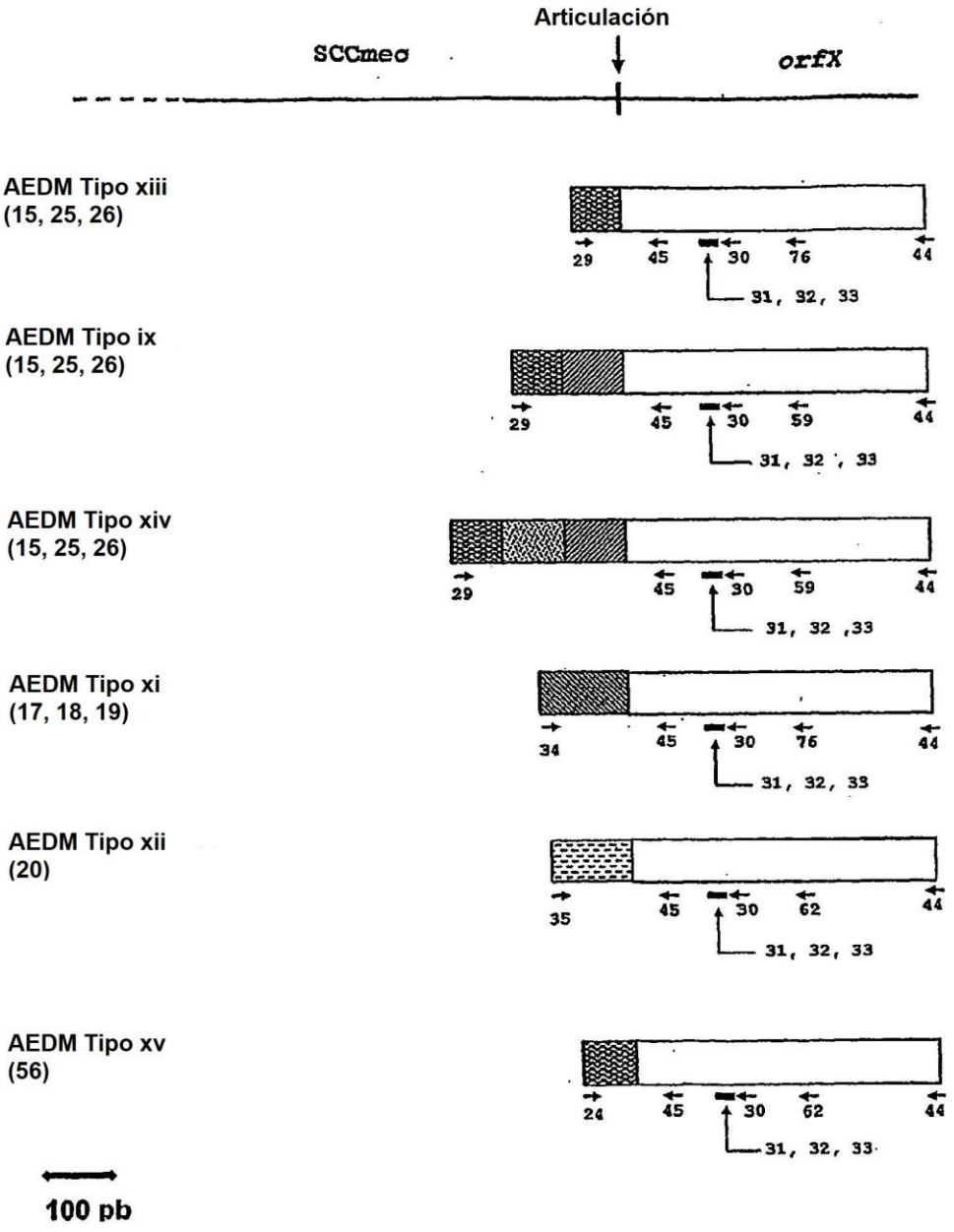

Articulación
SCCmec
orfX
AEDM Tipo xiii
(15, 25, 26)
29
45
30
76
44
31, 32, 33
AEDM Tipo ix
(15, 25, 26)
29
45
30
59
44
31, 32, 33
AEDM Tipo xiv
(15, 25, 26)
29
45
30
59
44
31, 32, 33
AEDM Tipo xi
(17, 18, 19)
34
45
30
76
44
31, 32, 33
AEDM Tipo xii
(20)
35
45
30
62
44
31, 32, 33
AEDM Tipo xv
(56)
24
45
30
62
44
31, 32, 33
100 pb

FIGURA 2

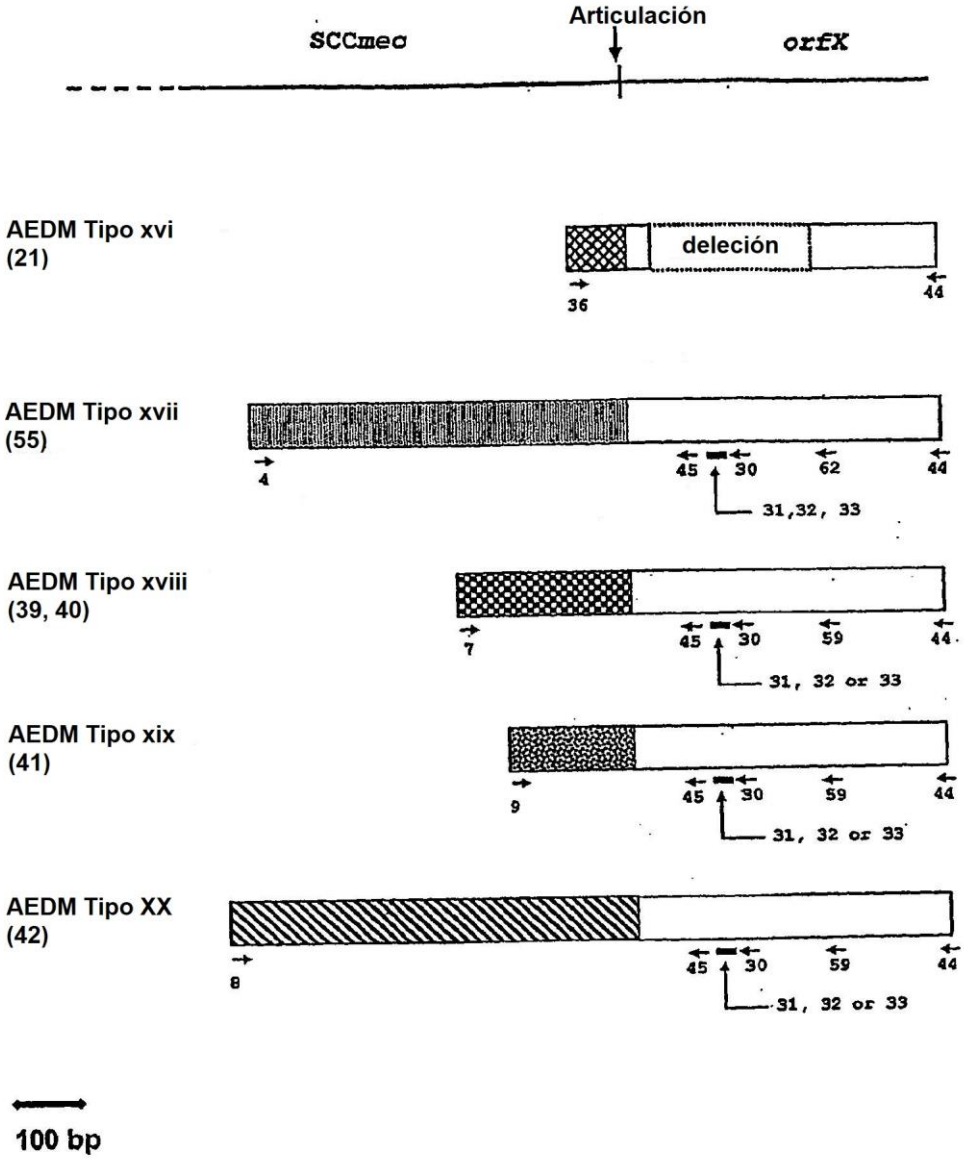
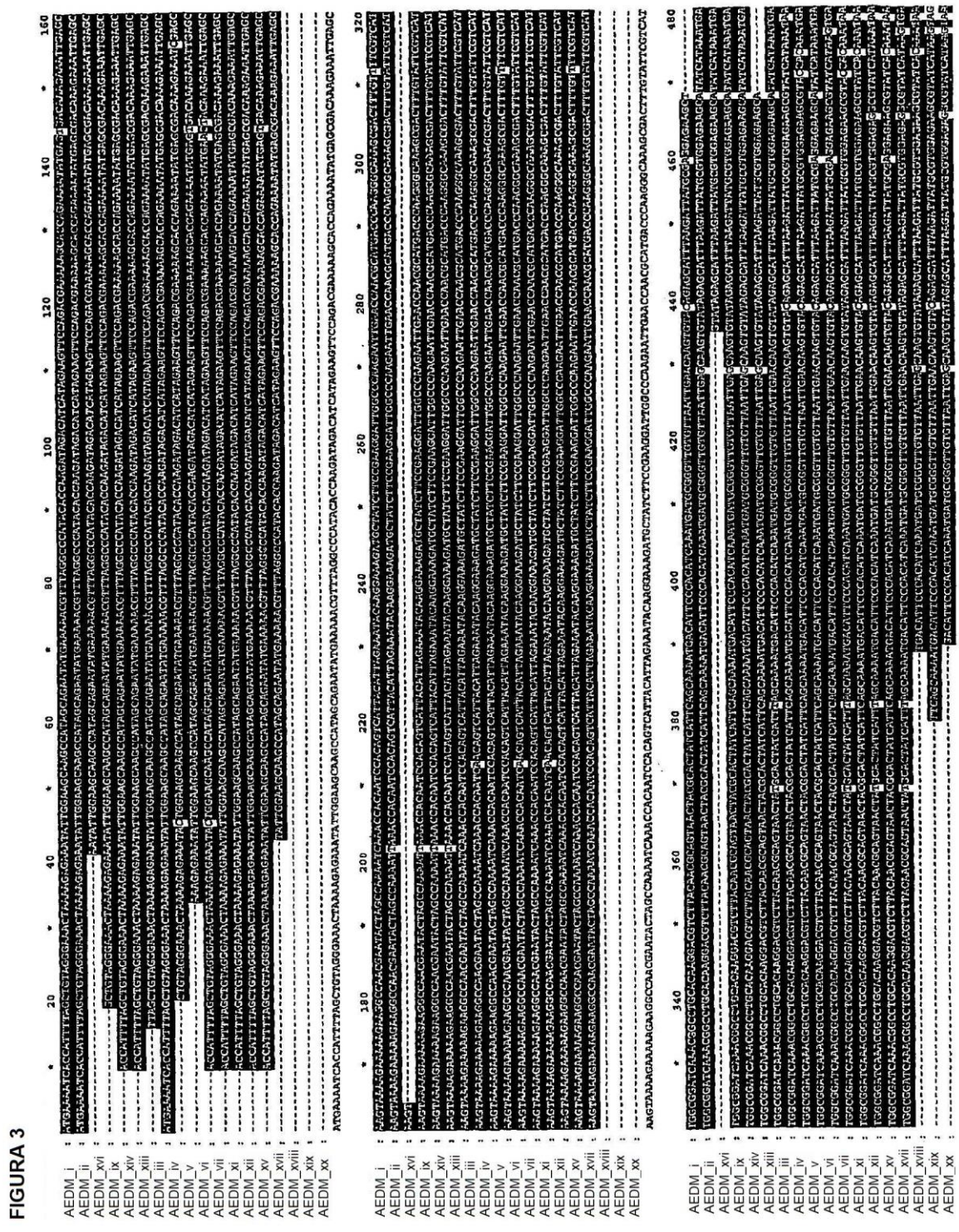
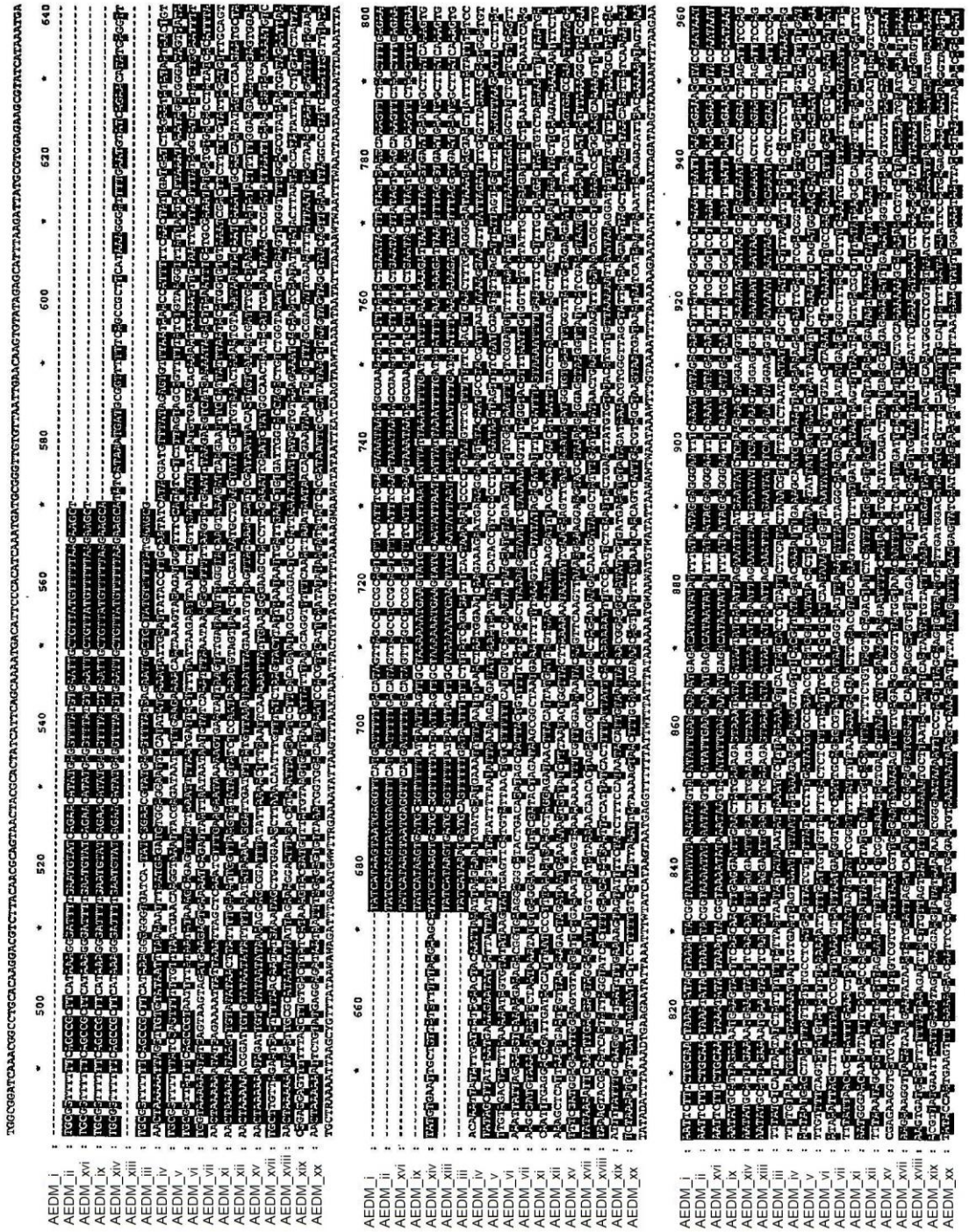
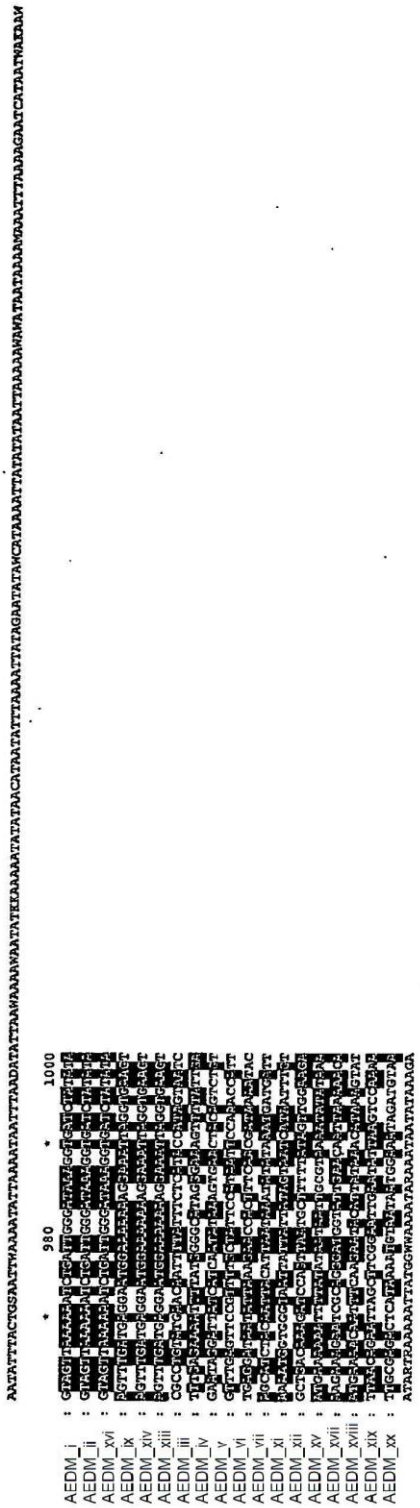


FIGURA 2 (continuación)

FIGURA 3







REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Documentos de patente citados en la descripción

• US 6156507 A
• CA 0200824 W
• US 5780610 A, Collins
• US 4683195 A, Sambrook, Ausubel, Mullis
• US 4683202 A
• WO 0123604 A2
• EP 0543942 A
• US 5866366 A
• US 6090592 A
• US 6117635 A
• US 6117986 A
• WO 9608582 A

Literatura no patente citada en la descripción

• *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press, 1999
• **Oliveira et al.** *Lancet Infect Dis*., 2002, vol. 2, 180-9
• **Ubukata et al.** *Antimicrob. Agents Chemother*.,1990, vol. 34, 170-172
• **Ito et al.** *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, vol.43, 1449-1458
• **Katayama et al.** *Antimicrob. Agents Chemother.,*2000, vol. 44, 1549-1555
• **Ito et al.** *Antimicrob. Agents Chemother*., 2001, vol. 45, 1323-1336
• **Ma et al.** *Antimicrob. Agents Chemother*., 2002, vol. 46, 1147-1152
• **Ito et al.** *Antimicrob Agents Chemother*., 2004, vol. 48, 2637-2651
• **Oliveira et al.** *Microb. Drug Resist.*, 2001, vol. 7, 349-360
• **Saito et al.** *J. Clin. Microbiol.*, 1995, vol. 33, 2498-2500
• **Ubukata et al.** *J. Clin. Microbiol*., 1992, vol. 30, 1728-1733
• **Murakami et al.** *J. Clin. Microbiol.*, 1991, vol. 29, 2240-2244
• **Hiramatsu et al.** *Microbiol. Immunol.*, 1992, vol. 36, 445-453
• **Suzuki et al.** *Antimicrob. Agents. Chemother*., 1992, vol. 36, 429-434
• **Hiramatsu et al.** *J. Infect. Chemother.*, 1996, vol. 2, 117-129
• **Huletsky et al.** *J Clin. Microbiol*., 2004, vol. 42, 1875-1884
• **Switzer et al.** *Biochemistry*, 1993, vol. 32, 10489-10496
• **Tor et al.** *J. Am. Chem. Soc*., 1993, vol. 115, 4461-4467
• **Mantsch et al.** *Biochem.*, 1975, vol. 14, 5593-5601
• **Piccirilli et al.** *Nature*, 1990, vol. 343, 33-37
• **Leach.** *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, vol. 114, 3675-3683
• **C. R. Newton et al.** *PCR.* Springer-Verlag, 1997, 24
• **Persing et al.** *Diagnostic Molecular Microbiology:Principles and Applications. American Society forMicrobiology*, 1993
• **Nichols et al.** *Nature*, 1994, vol. 369, 492-493
• **Koskin et al.** *Tetrahedron*, 1998, vol. 54, 3607-3630
• **Egholm et al.** *Nature,* 1993, vol. 365, 566-568
. Watson et al. *Molecular Biology of the Gene*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1987
• **Lewin.** *Genes IV*. John Wiley & Sons, 1989
• *PCR PROTOCOLS, A GUIDE TO METHODS AND APPLICATIONS*. Academic Press, 1990
• *PCR STRATEGIES*. Academic Press, Inc, 1995
• **Wu.** *Genomics*, 1989, vol. 4, 560
• **Landegren.** *Science*, 1988, vol. 241, 1077
• **Barringer.** *Gene*, 1990, vol. 89, 117
• **Guatelli.** *Proc. Natl. Acad Sci. USA*, 1990, vol. 87, 1874
• **Kwoh.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, vol. 86, 1173
• **Berger.** *Methods Enzymol*., 1987, vol. 152, 307-316
• **Amheim.** *C&EN*, 1990, 36-47
• **Lomell.** *J. Clin. Chem.,* 1989, vol. 35, 1826
• **Van Brunt.** *Biotechnology*, 1990, vol. 8, 291-294
• **Wu.** Gene, 1989, vol. 4, 560
• **Sooknanan.** *Biotechnology*, 1995, vol. 13, 563-564
• **Chakrabarti ; Schutt.** *Biotechniques*, 2002, vol. 32, 866-874
• **Al-Soud ; Radstrom.** *J. Clin. Microbiol*., 2002, vol. 38, 4463-4470
• **Al-Soud ; Radstrom.** *Appl. Environ. Microbiol.*,1998, vol. 64, 3748-3753

• **Wilson.** *Appl. Environ. Microbiol.,* 1997, vol. 63, 3741-3751
• **J. R. Lakowicz.** *Principles of Fluorescence Spectroscopy*.Kluwer Academic / Plenum Publishers,1999
• **Tyagi et al.** *Nat. Biotech*., 1996, vol. 14, 303-308
• **Thewell.** *Nucl. Acids Res.,* 2000, vol. 28, 3752
• **Elghanian et al.** *Science*, 1997, 1078-1081
• **Kramer FR.** *Nat Biotechnol*, 1996, vol. 3, 303-8
• **Ito et al.** *Antimicrob. Agents Chemother*, 2001, vol.45, 1323-1336
• **Ma et al.** *Antimicrob. Agents Chemother,* 2002, vol.46, 1147-1152
• **Ito et al.** *Antimicrob. Agents Chemother*, 2004, vol.48, 2637-2651
• **Huletsky et al.** *J. Clin. Microbiol*., 2004, vol. 42,1875-1884
• **Martineau et al.** *Antimicrob. Agents Chemother.,*2000, vol. 44, 231-238
• **Flores et al.** *Biotechniques*, 1992, vol. 13, 203-205
• **Oliveira ; de Lencastre.** Antimicrob. *Agents Chemother.,*2002, vol. 46, 2155-2161
• **Ito et al.** *Antimicrob. Agents. Chemother*., 2004, vol. 48, 2637-2651