

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 949 439**

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/689** (2008.01)

**C12Q 1/6869** (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.08.2015 PCT/EP2015/068188**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.02.2017 WO17020967**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.08.2015 E 15750348 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.06.2023 EP 3332023**

54 Título: **Pruebas genéticas para la predicción sin alineación de resistencia de microorganismos contra agentes antimicrobianos**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**28.09.2023**

73 Titular/es:

**ARES GENETICS GMBH (100.0%)**  
**Carlbergergasse 66/10**  
**1230 Vienna, AT**

72 Inventor/es:

**KELLER, ANDREAS;**  
**SCHMOLKE, SUSANNE;**  
**STÄHLER, CORD FRIEDRICH;**  
**BACKES, CHRISTINA y**  
**GALATA, VALENTINA**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 949 439 T3

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

Pruebas genéticas para la predicción sin alineación de resistencia de microorganismos contra agentes antimicrobianos

La presente enseñanza se refiere a un método para determinar una infección de un paciente con al menos un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, potencialmente resistente al tratamiento con medicamentos antimicrobianos, un método para seleccionar un tratamiento de un paciente que sufre una infección con al menos un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, y un método para determinar un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, un antibiótico, un perfil de resistencia para al menos un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, así como productos de programas informáticos usados en estos métodos.

La resistencia a los antibióticos es una forma de resistencia a los medicamentos mediante la cual una subpoblación de un microorganismo, por ejemplo, una cepa de una especie bacteriana, puede sobrevivir y multiplicarse a pesar de la exposición a un medicamento antibiótico. Es un problema de salud grave para el paciente individual, así como un importante problema de salud pública. El tratamiento oportuno de una infección bacteriana requiere el análisis de aislamientos clínicos obtenidos de pacientes con respecto a la resistencia a los antibióticos, con el fin de seleccionar una terapia eficaz. Generalmente, para este propósito es necesaria una asociación de la resistencia identificada con un determinado microorganismo (es decir, ID).

La resistencia a los medicamentos antibacterianos (ADR) representa una importante carga para la salud. De acuerdo con el informe mundial sobre vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos de la Organización Mundial de la Salud, la ADR provoca 25,000 muertes al año en Europa y 23,000 muertes al año en los Estados Unidos. En Europa, 2.5 millones de días de hospitalización adicionales generan un coste social de 1500 millones de euros. En los Estados Unidos, el costo directo de 2 millones de enfermedades conduce a un costo directo de 20 mil millones de dólares. Se estima que el costo total será sustancialmente mayor, reduciendo el producto interno bruto (PIB) hasta en un 1.6%.

*Staphylococcus* es un género de bacterias anaerobias facultativas grampositivas de la familia *Staphylococcaceae*, que son esféricas, inmóviles y forman racimos similares a uvas. El género incluye al menos 40 especies.

*Staphylococcus aureus* es la especie más común de estafilococo que causa infecciones por estafilococos. Se encuentra con frecuencia en el tracto respiratorio humano y en la piel. Aunque *Staphylococcus aureus* no siempre es patógeno, es una causa común de infecciones de la piel (p. ej., forúnculos), enfermedades respiratorias (p. ej., sinusitis) e intoxicación alimentaria, así como enfermedades potencialmente mortales como neumonía, meningitis, osteomielitis, endocarditis, síndrome de choque tóxico (TSS), bacteriemia y sepsis. *Staphylococcus aureus* puede sobrevivir de horas a semanas, o incluso meses, en superficies ambientales secas, de acuerdo con la cepa. La posición de *S. aureus* como uno de los patógenos humanos oportunistas más importantes se atribuye en gran parte a la combinación de su potencial de virulencia y su presencia ubicua como colonizador en humanos, animales domésticos y ganado.

*Staphylococcus aureus* es la segunda causa general más común de infecciones asociadas a la atención médica informadas a la Red Nacional de Seguridad de la Atención Médica (NHSN). Y las estimaciones actuales sugieren que entre el 49 y el 65 % de las infecciones por *Staphylococcus aureus* relacionadas con la atención médica informadas a la NHSN son causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA). El MRSA es problemático en hospitales, prisiones y hogares de ancianos, en el que los pacientes con heridas abiertas, dispositivos invasivos y sistemas inmunitarios debilitados corren un mayor riesgo de infección nosocomial que el público en general. El MRSA comenzó como una infección adquirida en el hospital, pero ha desarrollado un estado endémico limitado y ahora a veces se adquiere en la comunidad. El MRSA asociado a la atención médica (HA-MRSA) está relacionado con la duración prolongada de la estadía en el hospital y actualmente es uno de los patógenos identificados con mayor frecuencia en los hospitales en muchas partes del mundo. Además, el MRSA adquirido en la comunidad (CAMRSA) ha demostrado tendencias crecientes, por lo que varios funcionarios de atención médica han emitido pautas para la prevención y la vigilancia.

En 2011, los CDC estiman que ocurrieron en los Estados Unidos 80,461 infecciones invasivas por MRSA y 11,285 muertes relacionadas. Se produjo un número desconocido pero mucho mayor de infecciones menos graves tanto en la comunidad como en los entornos de atención médica. El MRSA es difícil de tratar debido a su resistencia a la mayoría de los antibióticos. El tratamiento con vancomicina, un antibiótico glicopeptídico a menudo considerado como la última línea de defensa contra el MRSA, ha llevado a la aparición de *Staphylococcus aureus* resistente a la vancomicina (VRSA), contra el cual pocos agentes son efectivos. Además, el uso de teicoplanina, un antibiótico derivado de la vancomicina, ha dado lugar a cepas de MRSA resistentes a la teicoplanina. Hay otros agentes disponibles para tratar la infección por MRSA, aunque muchos tienen un beneficio terapéutico limitado, principalmente debido a los efectos secundarios graves.

En general, los mecanismos de resistencia de las bacterias frente a los tratamientos antimicrobianos dependen en una parte muy sustancial de la genética del organismo. Los respectivos genes o mecanismos moleculares están codificados en el genoma de la bacteria o en plásmidos que pueden intercambiarse entre diferentes bacterias. Los mecanismos de resistencia más comunes incluyen:

- 1) Las bombas de eflujo son sistemas de transporte inverso de alta afinidad ubicados en la membrana que transporta el antibiótico fuera de la célula, p. ej., resistencia a la tetraciclina.
- 2) Las enzimas específicas modifican el antibiótico de manera que pierde su actividad. En el caso de la estreptomycin, el antibiótico se modifica químicamente para que ya no se una al ribosoma para bloquear la síntesis de proteínas.
- 3) Se produce una enzima que degrada el antibiótico y lo inactiva. Por ejemplo, las penicilinasas son un grupo de enzimas beta-lactamasas que escinden el anillo beta-lactama de la molécula de penicilina.

Además, algunos patógenos muestran resistencia natural a los medicamentos. Por ejemplo, un organismo puede carecer de un sistema de transporte para un antibiótico o el objetivo de la molécula antibiótica no está presente en el organismo.

- 10 La resistencia a la meticilina y medicamentos relacionados es conferida por el gen *mecA*, que codifica una proteína alterada fijadora de penicilina (PBP2a o PBP2') que tiene menor afinidad por la fijación de  $\beta$ -lactamas (penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos). Esto permite la resistencia a todos los antibióticos  $\beta$ -lactamas y evita su uso clínico durante las infecciones por MRSA. Como tal, el glicopéptido vancomicina a menudo se utiliza contra MRSA.

15 Los patógenos que, en principio, son susceptibles a los medicamentos pueden volverse resistentes mediante la modificación del material genético existente (p. ej., mutaciones espontáneas para la resistencia a los antibióticos, que ocurren con una frecuencia de una de cada 100 millones de bacterias en una infección) o la adquisición de nuevo material genético de otra fuente. Un ejemplo es la transferencia horizontal de genes, un proceso en el que el material genético contenido en pequeños paquetes de ADN puede transferirse entre bacterias individuales de la misma especie o incluso entre especies diferentes. La transferencia horizontal de genes puede ocurrir por transducción, 20 transformación o conjugación.

Generalmente, las pruebas de susceptibilidad/resistencia a los agentes antimicrobianos se realizan cultivando organismos en diferentes concentraciones de estos agentes.

25 En resumen, las placas de agar se inoculan con la muestra del paciente (p. ej., orina, esputo, sangre, heces) durante la noche. Al día siguiente, se utilizan colonias individuales para la identificación de organismos, ya sea mediante cultivo o mediante espectroscopia de masas. En función de la identidad de los organismos, se inoculan y se cultivan durante 12 a 24 horas más placas nuevas que contienen concentraciones crecientes de medicamentos utilizados para el tratamiento de estos organismos. La concentración de medicamento más baja que inhibe el crecimiento (concentración inhibitoria mínima - MIC) se usa para determinar la susceptibilidad/resistencia a los medicamentos probados. El proceso toma por lo menos de 2 a 3 días hábiles durante los cuales el paciente es tratado empíricamente. Existen 30 sistemas automatizados de varias empresas, p. ej., Biomeriux (Vitek), Beckman Coulter (Microscan). Se necesita una reducción significativa del tiempo hasta el resultado, especialmente en pacientes con enfermedades potencialmente mortales, y para superar el mal uso generalizado de los antibióticos.

35 Los desarrollos recientes incluyen kits de prueba basados en PCR para una identificación bacteriana rápida (p. ej., pruebas Biomerieux Biofire, pruebas Curetis Unyvero). Con estas pruebas, es posible la detección de loci de resistencia seleccionados para un número muy limitado de medicamentos, pero no se proporciona ninguna correlación con la AST basada en cultivos. La espectroscopia de masas se usa cada vez más para la identificación de patógenos en muestras clínicas (p. ej., Bruker Biotyper), y se están realizando investigaciones para establecer métodos para la detección de susceptibilidad/resistencia a los antibióticos.

40 El uso de técnicas moleculares para la detección directa de MRSA se ha vuelto más común, especialmente con fines de detección. La resistencia a la meticilina está mediada por el operón *mec*, que forma parte del casete cromosómico estafilocócico *mec* (SCC*mec*). Recientemente se introdujeron las pruebas de PCR que se basan en la detección de la secuencia de la extremidad derecha del SCC*mec* en combinación con el marcador específico de *S. aureus*. Existen informes iniciales que describen informes de susceptibilidad basados en cultivos a pesar de la detección de la presencia de un gen que confiere resistencia.

45 Para algunos medicamentos, se sabe que se abordan al menos dos objetivos, por ejemplo, en el caso de la ciprofloxacina (ID del banco de medicamentos 00537; <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00537>), los objetivos incluyen ADN topoisomerasa IV, ADN topoisomerasa II y ADN girasa. Se puede esperar que este también sea el caso de otros medicamentos, aunque los respectivos objetivos secundarios aún no se han identificado. En el caso de una regulación común, ambos sitios genéticos relevantes mostrarían naturalmente una correlación conjunta o redundancia.

50 Se sabe que la resistencia a los medicamentos puede estar asociada con polimorfismos genéticos. Esto es válido para los virus, en los que las pruebas de resistencia son prácticas clínicas establecidas (p. ej., determinación del genotipo del VIH). Más recientemente, se ha demostrado que la resistencia también tiene causas genéticas en bacterias e incluso en organismos superiores, como los humanos, en el que la resistencia de los tumores contra ciertos agentes citostáticos puede estar relacionada con mutaciones genómicas.

55 Wozniak et al., (BMC Genomics 2012, 13 (suplemento 7): S23) divulgan los determinantes genéticos de la resistencia a los medicamentos en *Staphylococcus aureus* basándose en datos de genotipo y fenotipo. Stoesser et al., divulgan la predicción de las susceptibilidades antimicrobianas para los aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* utilizando datos de secuencias genómicas completas (J Antimicrob Chemother 2013; 68: 2234-2244).

Chewapreecha et al. (Chewapreecha et al (2014) Comprehensive Identification of single nucleotide polymorphisms associated with beta-lactam resistance within pneumococcal mosaic genes. PLoS Genet 10(8): e1004547) utilizaron un enfoque comparable para identificar mutaciones en *Streptococcus pneumoniae* grampositivo.

5 Gordon et al (Gordon et al (2014), Prediction of *Staphylococcus aureus* Antimicrobial Resistance by Whole-Genome Sequencing, J. Clin. Microbiol. 2014, 52(4):1182) y Dordel et al. (Dordel, J., Kim, C. et al. (2014). Novel Determinants of Antibiotic Resistance: Identification of Mutated Loci in Highly Methicillin-Resistant Subpopulations of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. mBio, 5(2), e01000-13; doi:10.1128/mBio.01000-13) se centraron en la identificación de nuevos marcadores sobre genes ya conocidos.

10 La detección rápida y precisa de infecciones con microorganismos, particularmente especies microbianas, por ejemplo, *Staphylococcus aureus*, y la predicción de la respuesta a la terapia antimicrobiana, particularmente también sin referencia a genes conocidos, representan una gran necesidad clínica no satisfecha.

Esta necesidad es abordada por la presente invención.

#### Resumen

15 Los presentes inventores abordaron esta necesidad llevando a cabo la secuenciación del genoma completo de una gran cohorte de microorganismos, particularmente microorganismos bacterianos, particularmente aislados clínicos de *Staphylococcus aureus*, y comparando el perfil de mutación genética con fenotipos resistentes de aislados y/o pruebas de susceptibilidad antimicrobiana basadas en cultivos aislados y/o clásicos con el objetivo de desarrollar una prueba que pueda usarse para detectar la susceptibilidad/resistencia bacteriana a los medicamentos antimicrobianos mediante pruebas moleculares.

20 Los inventores realizaron amplios estudios sobre el genoma de especies bacterianas, en particular especies de *Staphylococcus*, en particular *Staphylococcus aureus*, susceptibles o resistentes a medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, siendo particularmente susceptibles o resistentes a metilina y medicamentos relacionados. Sobre la base de esta información, ahora es posible proporcionar un análisis detallado del patrón de resistencia de *Staphylococcus*, en particular *Staphylococcus aureus*, cepas basadas en mutaciones individuales a nivel de nucleótidos. Este análisis implica la identificación de una resistencia contra un antimicrobiano individual, p. ej., antibióticos, medicamentos y grupos de ellos. Esto permite no solo la determinación de una resistencia a un único medicamento antimicrobiano, p. ej., antibiótico, sino también a grupos de medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos tales como antibióticos lactamas o de quinolonas, o incluso a todos los medicamentos antibióticos relevantes.

30 Por lo tanto, la presente invención facilitará considerablemente la selección de un medicamento antimicrobiano apropiado, por ejemplo antibiótico, para el tratamiento de una infección microbiana, por ejemplo *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, en un paciente y mejorará así en gran medida la calidad del diagnóstico y tratamiento.

35 El enfoque actual se basa en el uso de pruebas de asociación y llamadas de SNP libres de referencia para cubrir las diferentes fuentes de resistencia genética, así como las diferentes formas en que las bacterias pueden volverse resistentes. De esta manera, la detección de resistencias ya no se limita a los genomas de referencia.

A diferencia de otros trabajos (p. ej., Gordon et al, Dordel et al, véase más arriba), la identificación de nuevos marcadores no se centró en genes ya conocidos, sino que se realizó una llamada de SNP libre de referencia y la anotación se basa en varios genomas de referencia.

40 La presente invención está definida por las reivindicaciones adjuntas. La presente divulgación proporciona enseñanzas que en algunos aspectos van más allá de la divulgación de la invención como tal, que se define exclusivamente por las reivindicaciones adjuntas. Las enseñanzas se proporcionan para situar la invención real en un contexto técnico más amplio y para ilustrar posibles desarrollos técnicos relacionados. Tal información técnica adicional que no cae dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas no es parte de la invención. En particular, los términos "realización", "invención" y "aspecto" no deben interpretarse como una referencia necesaria a la invención reivindicada, a menos que el objeto en cuestión esté dentro del alcance de las reivindicaciones.

De acuerdo con un primer aspecto, la presente enseñanza se refiere a un método para determinar un perfil de resistencia a un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, a un antibiótico, para un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, que comprende:

50 obtener o proporcionar un primer conjunto de datos de secuencias de genes de una pluralidad de aislados clínicos del microorganismo;  
 en el que se ensamblan al menos una parte de las secuencias de genes del primer conjunto de datos;  
 analizar las secuencias de genes del primer conjunto de datos de variantes genéticas para obtener un tercer conjunto de datos de variantes genéticas;  
 55 proporcionar un segundo conjunto de datos de medicamento antimicrobiano, p. ej., antibiótico, resistencia y/o susceptibilidad de la pluralidad de aislados clínicos del microorganismo;

correlacionar el tercer conjunto de datos con el segundo conjunto de datos y analizar estadísticamente la correlación;  
y  
determinar los sitios genéticos en el genoma del microorganismo con un medicamento antimicrobiano, p. ej.,  
resistencia antibiótica.

5 En un segundo aspecto la presente enseñanza divulga un método de diagnóstico para determinar una infección de un paciente con un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano potencialmente resistente al tratamiento con medicamentos antimicrobianos, que comprende las etapas de:

a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, del paciente;

10 b) determinar la presencia de al menos una variante genética en al menos una posición del microorganismo, particularmente el microorganismo bacteriano, de acuerdo con se determina mediante el método del primer aspecto, en el que la presencia de dicha al menos una variante genética es indicativa de una infección con un microorganismo resistente a medicamentos antimicrobianos en dicho paciente.

15 Un tercer aspecto de la presente enseñanza se refiere a un método de selección de un tratamiento de un paciente que padece una infección por un microorganismo potencialmente resistente, particularmente un microorganismo bacteriano, que comprende las etapas de:

a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, del paciente;

20 b) determinar la presencia de al menos una variante genética en al menos una posición del microorganismo, en particular del microorganismo bacteriano, de acuerdo con se determina mediante el método del primer aspecto, en el que la presencia de dicha al menos una variante genética es indicativa de una resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos;

c) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos; y

25 d) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos diferentes a los identificados en la etapa c) y que sean adecuados para el tratamiento de la infección por el microorganismo, particularmente el microorganismo bacteriano.

Un cuarto aspecto de la presente enseñanza se refiere a un método para adquirir, respectivamente determinar, un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, un perfil de resistencia a un antibiótico para un aislado clínico de un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, que comprende:

30 obtener o proporcionar al menos una secuencia de genes del aislado clínico del microorganismo, en particular del microorganismo bacteriano; y

determinar la presencia de variantes genéticas en al menos una secuencia de genes del aislado clínico del microorganismo, particularmente del microorganismo bacteriano, de acuerdo con se determina por el método del primer aspecto de la presente enseñanza.

35 Además, un producto de programa informático que comprende instrucciones ejecutables por ordenador que, cuando se ejecutan, realizan un método de acuerdo con cualquiera de los aspectos primero a tercero de la presente enseñanza se divulga en un quinto aspecto de la presente enseñanza.

Además, un sexto aspecto de la presente enseñanza se relaciona con un método de diagnóstico para determinar una infección de un paciente con una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, potencialmente resistente al tratamiento con medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, que comprende las etapas de:

40 a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;

45 b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos dos posiciones del grupo de posiciones anotadas con los números 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en la Tabla 1 a continuación, en el que la presencia de dicha al menos dos variaciones genéticas es indicativo de una infección con una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, resistente a un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, antibiótico en dicho paciente, en el que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia.

Tabla 1: Lista de posiciones con los números 1 - 50

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma
1	534953 F	NC_017340.1	04_02981
	543821 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
2	210528 R	NC_022222.1	6850
	267448 R	NC_017340.1	04_02981
	269814 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma
3	1362060 F	NC_017340.1	04_02981
4	1252703 R	NC_021670.1	Bmb9393
	1520285 F	NC_017351.1	11819_97
	1523326 F	NC_017340.1	04_02981
5	1619285 R	NC_017340.1	04_02981
	1661238 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
6	1641150 R	NC_017340.1	04_02981
7	170059 F	NC_002953.3	MSSA476
	142263 F	NC_017337.1	ED133
8	517571 F	NC_017340.1	04_02981
	554542 F	NC_018608.1	08BA02176
9	978538 F	NC_017340.1	04_02981
10	1434811 R	NC_017340.1	04_02981
11	953696 R	NC_022222.1	6850
	1010027 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
12	208285 R	NC_017340.1	04_02981
	161011 R	NC_007795.1	NCTC_8325
13	2179136 R	NC_017351.1	11819_97
	2149064 R	NC_017340.1	04_02981
	2107689 R	NC_018608.1	08BA02176
14	2358535 F	NC_017340.1	04_02981
15	2023012 R	NC_017340.1	04_02981
16	2777211 F	NC_007795.1	NCTC_8325
	2779170 F	NC_017340.1	04_02981
17	1801995 R	NC_018608.1	08BA02176
	1790672 R	NC_017340.1	04_02981
18	976788 F	NC_017340.1	04_02981
	878040 F	NC_007795.1	NCTC_8325
19	2101899 R	NC_021670.1	Bmb9393
	1972149 R	NC_017340.1	04_02981
20	1875550 F	NC_022222.1	6850
	2006001 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1959494 F	NC_017340.1	04_02981
21	705667 R	NC_017340.1	04_02981
22	2268723 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	2221448 F	NC_017340.1	04_02981
23	1814108 R	NC_017340.1	04_02981
24	531649 R	NC_017340.1	04_02981
	531398 R	NC_017351.1	11819_97
25	1754561 F	NC_017340.1	04_02981

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma
	1691742 F	NC_007795.1	NCTC_8325
26	1958403 R	NC_017340.1	04_02981
	2004910 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
27	1242653 R	NC_022222.1	6850
	1294527 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1299554 R	NC_017340.1	04_02981
28	2590222 R	NC_017340.1	04_02981
	2637689 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
29	1881161 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1871101 R	NC_021059.1	M1
	1759861 R	NC_022222.1	6850
	1855493 R	NC_018608.1	08BA02176
	1858794 R	NC_021554.1	CC45
	1964828 R	NC_021670.1	Bmb9393
30	1050123 R	NC_007795.1	NCTC_8325
	1147277 R	NC_017340.1	04_02981
31	2005634 F	NC_016912.1	VC40
	2039052 F	NC_022222.1	6850
	2187801 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
32	350202 F	NC_022222.1	6850
	402479 F	NC_017340.1	04_02981
	352104 F	NC_007795.1	NCTC_8325
33	920768 F	NC_021059.1	M1
	956878 F	NC_018608.1	08BA02176
	956978 F	NC_017340.1	04_02981
	858255 F	NC_007795.1	NCTC_8325
34	1121847 R	NC_017340.1	04_02981
	1024692 R	NC_007795.1	NCTC_8325
35	429303 F	NC_017340.1	04_02981
36	1812380 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1775835 R	NC_017340.1	04_02981
	1714993 R	NC_007795.1	NCTC_8325
37	1928346 F	NC_017340.1	04_02981
38	1388095 R	NC_022226.1	CN1
39	559072 R	NC_017340.1	04_02981
	504007 R	NC_007795.1	NCTC_8325
40	2719339 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	2668764 R	NC_017340.1	04_02981
41	1124668 F	NC_017340.1	04_02981
	1121585 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516

## ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma
42	158073 F	NC_022226.1	CN1
	193628 F	NC_021059.1	M1
	138357 F	NC_022222.1	6850
	196480 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	189192 F	NC_017340.1	04_02981
43	1187805 F	NC_017340.1	04_02981
	1078815 F	NC_022113.1	55_2053
	1182930 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
44	1376396 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1323236 R	NC_022222.1	6850
	1315892 R	NC_022226.1	CN1
	1379143 R	NC_017340.1	04_02981
	1399306 F	NC_021670.1	Bmb9393
45	2398505 R	NC_017340.1	04_02981
46	2753541 F	NC_017340.1	04_02981
	2803165 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
47	1415365 R	NC_017340.1	04_02981
	1428821 R	NC_018608.1	08BA02176
	1318646 R	NC_007795.1	NCTC_8325
	1412563 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1381147 R	NC_021059.1	M1
48	1678734 R	NC_017340.1	04_02981
	1720315 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
49	854815 R	NC_007795.1	NCTC_8325
	953539 R	NC_017340.1	04_02981
	948900 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
50	1675156 R	NC_017340.1	04_02981

Un séptimo aspecto de la presente enseñanza se refiere a un método para seleccionar un tratamiento de un paciente que padece una infección con una cepa de *Staphylococcus* potencialmente resistente, particularmente *Staphylococcus aureus*, que comprende las etapas de:

- 5 a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;
- b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos dos posiciones del grupo de posiciones anotadas con los números 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en la Tabla 1, en el que la presencia de dicho al menos dos variaciones genéticas es indicativo de una
- 10 resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos, en los que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia;
- c) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos; y
- d) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos diferentes de los identificados en la etapa c) y que son adecuados para el tratamiento de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus*
- 15 *aureus*.

Además, un octavo aspecto de la presente enseñanza se refiere a un método de diagnóstico para determinar una infección de un paciente con una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, potencialmente resistente al tratamiento con medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, que comprende las etapas de:

## ES 2 949 439 T3

- 5 a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;
- b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos dos posiciones del grupo de posiciones anotadas con los Nos. 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en las Tablas 3a y/o 3b a continuación, en el que la presencia de dichas al menos dos variaciones genéticas es indicativa de una infección con una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, resistente a un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, antibiótico en dicho paciente, en el que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia.

Tabla 3a: Lista de posiciones con los números 1 - 50

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma
1	1958403 R	NC_017340.1	04_02981
	2004910 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
2	1641150 R	NC_017340.1	04_02981
3	978538 F	NC_017340.1	04_02981
4	705667 R	NC_017340.1	04_02981
5	1434811 R	NC_017340.1	04_02981
6	953696 R	NC_022222.1	6850
	1010027 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
7	2101899 R	NC_021670.1	Bmb9393
	1972149 R	NC_017340.1	04_02981
8	208285 R	NC_017340.1	04_02981
	161011 R	NC_007795.1	NCTC_8325
9	2179136 R	NC_017351.1	11819_97
	2149064 R	NC_017340.1	04_02981
	2107689 R	NC_018608.1	08BA02176
10	2358535 F	NC_017340.1	04_02981
11	2023012 R	NC_017340.1	04_02981
12	2777211 F	NC_007795.1	NCTC_8325
	2779170 F	NC_017340.1	04_02981
13	1801995 R	NC_018608.1	08BA02176
	1790672 R	NC_017340.1	04_02981
14	1754561 F	NC_017340.1	04_02981
	1691742 F	NC_007795.1	NCTC_8325
15	1362060 F	NC_017340.1	04_02981
16	1242653 R	NC_022222.1	6850
	1294527 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1299554 R	NC_017340.1	04_02981
17	1252703 R	NC_021670.1	Bmb9393
	1520285 F	NC_017351.1	11819_97
	1523326 F	NC_017340.1	04_02981
18	1619285 R	NC_017340.1	04_02981
	1661238 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
19	1875550 F	NC_022222.1	6850
	2006001 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma
	1959494 F	NC_017340.1	04_02981
20	976788 F	NC_017340.1	04_02981
	878040 F	NC_007795.1	NCTC_8325
21	2590222 R	NC_017340.1	04_02981
	2637689 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
22	210528 R	NC_022222.1	6850
	267448 R	NC_017340.1	04_02981
	269814 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
23	1814108 R	NC_017340.1	04_02981
24	170059 F	NC_002953.3	MSSA476
	142263 F	NC_017337.1	ED133
25	534953 F	NC_017340.1	04_02981
	543821 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
26	517571 F	NC_017340.1	04_02981
	554542 F	NC_018608.1	08BA02176
27	531649 R	NC_017340.1	04_02981
	531398 R	NC_017351.1	11819_97
28	1050123 R	NC_007795.1	NCTC_8325
	1147277 R	NC_017340.1	04_02981
29	1881161 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1871101 R	NC_021059.1	M1
	1759861 R	NC_022222.1	6850
	1855493 R	NC_018608.1	08BA02176
	1858794 R	NC_021554.1	CC45
	1964828 R	NC_021670.1	Bmb9393
30	2268723 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	2221448 F	NC_017340.1	04_02981
31	920768 F	NC_021059.1	M1
	956878 F	NC_018608.1	08BA02176
	956978 F	NC_017340.1	04_02981
	858255 F	NC_007795.1	NCTC_8325
32	2005634 F	NC_016912.1	VC40
	2039052 F	NC_022222.1	6850
	2187801 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
33	429303 F	NC_017340.1	04_02981
34	350202 F	NC_022222.1	6850
	402479 F	NC_017340.1	04_02981
	352104 F	NC_007795.1	NCTC_8325
35	158073 F	NC_022226.1	CN1
	193628 F	NC_021059.1	M1

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma
	138357 F	NC_022222.1	6850
	196480 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	189192 F	NC_017340.1	04_02981
36	1121847 R	NC_017340.1	04_02981
	1024692 R	NC_007795.1	NCTC_8325
37	2719339 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	2668764 R	NC_017340.1	04_02981
38	1388095 R	NC_022226.1	CN1
39	1415365 R	NC_017340.1	04_02981
	1428821 R	NC_018608.1	08BA02176
	1318646 R	NC_007795.1	NCTC_8325
	1412563 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1381147 R	NC_021059.1	M1
40	1678734 R	NC_017340.1	04_02981
	1720315 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
41	1928346 F	NC_017340.1	04_02981
42	1376396 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1323236 R	NC_022222.1	6850
	1315892 R	NC_022226.1	CN1
	1379143 R	NC_017340.1	04_02981
	1399306 F	NC_021670.1	Bmb9393
43	1338943 R	NC_017340.1	04_02981
44	1124668 F	NC_017340.1	04_02981
	1121585 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
45	559072 R	NC_017340.1	04_02981
	504007 R	NC_007795.1	NCTC_8325
46	1675156 R	NC_017340.1	04_02981
47	1187805 F	NC_017340.1	04_02981
	1078815 F	NC_022113.1	55_2053
	1182930 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
48	1356138 F	NC_017340.1	04_02981
49	854815 R	NC_007795.1	NCTC_8325
	953539 R	NC_017340.1	04_02981
	948900 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
50	2459738 F	NC_017340.1	04_02981
	2364478 F	NC_022222.1	6850

Tabla 3b: Lista de posiciones con los números 1 - 50

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma
1	1958403 R	NC_017340.1	04_02981

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma
	2004910 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
2	1641150 R	NC_017340.1	04_02981
3	978538 F	NC_017340.1	04_02981
4	705667 R	NC_017340.1	04_02981
5	1434811 R	NC_017340.1	04_02981
6	953696 R	NC_022222.1	6850
	1010027 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
7	2101899 R	NC_021670.1	Bmb9393
	1972149 R	NC_017340.1	04_02981
8	208285 R	NC_017340.1	04_02981
	161011 R	NC_007795.1	NCTC_8325
9	2179136 R	NC_017351.1	11819_97
	2149064 R	NC_017340.1	04_02981
	2107689 R	NC_018608.1	08BA02176
10	2358535 F	NC_017340.1	04_02981
11	2023012 R	NC_017340.1	04_02981
12	2777211 F	NC_007795.1	NCTC_8325
	2779170 F	NC_017340.1	04_02981
13	1801995 R	NC_018608.1	08BA02176
	1790672 R	NC_017340.1	04_02981
14	1754561 F	NC_017340.1	04_02981
	1691742 F	NC_007795.1	NCTC_8325
15	1362060 F	NC_017340.1	04_02981
16	1242653 R	NC_022222.1	6850
	1294527 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1299554 R	NC_017340.1	04_02981
17	1252703 R	NC_021670.1	Bmb9393
	1520285 F	NC_017351.1	11819_97
	1523326 F	NC_017340.1	04_02981
18	1619285 R	NC_017340.1	04_02981
	1661238 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
19	1875550 F	NC_022222.1	6850
	2006001 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1959494 F	NC_017340.1	04_02981
20	976788 F	NC_017340.1	04_02981
	878040 F	NC_007795.1	NCTC_8325
21	2590222 R	NC_017340.1	04_02981
	2637689 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
22	210528 R	NC_022222.1	6850
	267448 R	NC_017340.1	04_02981

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma
	269814 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
23	1814108 R	NC_017340.1	04_02981
24	170059 F	NC_002953.3	MSSA476
	142263 F	NC_017337.1	ED133
25	534953 F	NC_017340.1	04_02981
	543821 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
26	517571 F	NC_017340.1	04_02981
	554542 F	NC_018608.1	08BA02176
27	531649 R	NC_017340.1	04_02981
	531398 R	NC_017351.1	11819_97
28	1050123 R	NC_007795.1	NCTC_8325
	1147277 R	NC_017340.1	04_02981
29	1881161 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1871101 R	NC_021059.1	M1
	1759861 R	NC_022222.1	6850
	1855493 R	NC_018608.1	08BA02176
	1858794 R	NC_021554.1	CC45
	1964828 R	NC_021670.1	Bmb9393
30	2268723 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	2221448 F	NC_017340.1	04_02981
31	920768 F	NC_021059.1	M1
	956878 F	NC_018608.1	08BA02176
	956978 F	NC_017340.1	04_02981
	858255 F	NC_007795.1	NCTC_8325
32	2005634 F	NC_016912.1	VC40
	2039052 F	NC_022222.1	6850
	2187801 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
33	429303 F	NC_017340.1	04_02981
34	350202 F	NC_022222.1	6850
	402479 F	NC_017340.1	04_02981
	352104 F	NC_007795.1	NCTC_8325
35	158073 F	NC_022226.1	CN1
	193628 F	NC_021059.1	M1
	138357 F	NC_022222.1	6850
	196480 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	189192 F	NC_017340.1	04_02981
36	1121847 R	NC_017340.1	04_02981
	1024692 R	NC_007795.1	NCTC_8325
37	2719339 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	2668764 R	NC_017340.1	04_02981

## ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma
38	1388095 R	NC_022226.1	CN1
39	1415365 R	NC_017340.1	04_02981
	1428821 R	NC_018608.1	08BA02176
	1318646 R	NC_007795.1	NCTC_8325
	1412563 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1381147 R	NC_021059.1	M1
40	1678734 R	NC_017340.1	04_02981
	1720315 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
41	1928346 F	NC_017340.1	04_02981
42	1376396 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1323236 R	NC_022222.1	6850
	1315892 R	NC_022226.1	CN1
	1379143 R	NC_017340.1	04_02981
	1399306 F	NC_021670.1	Bmb9393
43	1124668 F	NC_017340.1	04_02981
	1121585 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
44	559072 R	NC_017340.1	04_02981
	504007 R	NC_007795.1	NCTC_8325
45	1675156 R	NC_017340.1	04_02981
46	1187805 F	NC_017340.1	04_02981
	1078815 F	NC_022113.1	55_2053
	1182930 F	NC_010079.1	USA300_TCH1516
47	1356138 F	NC_017340.1	04_02981
48	854815 R	NC_007795.1	NCTC_8325
	953539 R	NC_017340.1	04_02981
	948900 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
49	2459738 F	NC_017340.1	04_02981
	2364478 F	NC_022222.1	6850
50	1812380 R	NC_010079.1	USA300_TCH1516
	1775835 R	NC_017340.1	04_02981
	1714993 R	NC_007795.1	NCTC_8325

Un noveno aspecto de la presente enseñanza se refiere a un método para seleccionar un tratamiento de un paciente que padece una infección con una cepa de *Staphylococcus* potencialmente resistente, particularmente *Staphylococcus aureus*, que comprende las etapas de:

- 5 a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;
- b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos dos posiciones del grupo de posiciones anotadas con los números 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en las Tablas 3a y/o 3b, en el que la presencia de dichas al menos dos variaciones genéticas es indicativa de una resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos, en los que para algunas
- 10 posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia;
- c) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos; y

d) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos diferentes de los identificados en la etapa c) y que son adecuados para el tratamiento de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*.

5 Otros aspectos y realizaciones de la enseñanza se divulgan en las reivindicaciones dependientes y se pueden tomar de la siguiente descripción, figuras y ejemplos, sin limitarse a ellos.

#### Figuras

10 Los dibujos adjuntos deben ilustrar realizaciones de la presente enseñanza y transmitir una mayor comprensión de la misma. En relación con la descripción sirven como explicación de conceptos y principios de la enseñanza. Otras realizaciones y muchas de las ventajas indicadas pueden derivarse en relación con los dibujos. Los elementos de los dibujos no están necesariamente a escala entre sí. Las características y los componentes idénticos, funcionalmente equivalentes y que actúan igual se indican en las figuras de los dibujos con los mismos números de referencia, a menos que se indique lo contrario.

La Figura 1 muestra esquemáticamente un concepto de lectura para una prueba de diagnóstico de acuerdo con un método de la presente enseñanza.

15 Descripción detallada

#### Definiciones

A menos que se defina de otro modo, los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entienden comúnmente los expertos en la técnica a la que pertenece esta invención.

20 Un "medicamento antimicrobiano" en la presente enseñanza se refiere a un grupo de medicamentos que incluye antibióticos, antifúngicos, antiprotozoarios y antivirales. De acuerdo con ciertas realizaciones, el medicamento antimicrobiano es un antibiótico.

25 El término "molécula de ácido nucleico" se refiere a una molécula de polinucleótido que tiene una secuencia definida. Comprende moléculas de ADN, moléculas de ARN, moléculas de análogos de nucleótidos y combinaciones y derivados de los mismos, tales como moléculas de ADN o moléculas de ARN con análogos de nucleótidos incorporados o ADNc.

El término "información de secuencia de ácido nucleico" se refiere a una información que puede derivarse de la secuencia de una molécula de ácido nucleico, tal como la propia secuencia o una variación en la secuencia en comparación con una secuencia de referencia.

30 En general, el término "variación genética" se refiere a una posición en el genoma en la que al menos dos organismos aleatorios de una especie son diferentes. El término "variación genética" se refiere particularmente a una variación en la secuencia en comparación con una o más secuencias de referencia, p. ej., polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), mutaciones, variaciones del número de copias, etc. Dichas secuencias de referencia pueden ser secuencias determinadas en un organismo predominante de tipo silvestre o en un organismo de referencia, p. ej., una cepa o subcepa bacteriana definida y conocida, p. ej., de una especie bacteriana como *Staphylococcus aureus*, que puede tener grandes variaciones en el contenido de genes entre cepas estrechamente relacionadas. Una variación genética es, por ejemplo, una eliminación de uno o varios nucleótidos, una inserción de uno o varios nucleótidos, o una sustitución de uno o varios nucleótidos, la duplicación de uno o una secuencia de varios nucleótidos, la translocación de uno o una secuencia de varios nucleótidos, y, en particular, un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP).

40 Para identificar claramente las variaciones, éstas se pueden anotar en una o más secuencias de referencia, por ejemplo, una cepa o subcepa bacteriana definida y conocida, pero también un pangenoma de un microorganismo como *Staphylococcus aureus*. El pangenoma generalmente incluye los genes presentes en todas las cepas del microorganismo, p. ej., la especie bacteriana, así como genes presentes en dos o más cepas, y genes específicos de cepas individuales.

45 De acuerdo con ciertas realizaciones, las variaciones genéticas se obtuvieron con métodos sin alineación, por ejemplo, para detectar intercambios de una sola base, por ejemplo con base en cóntigos que se construyeron mediante ensamblajes. Por ejemplo, las lecturas obtenidas de la secuenciación se pueden ensamblar en cóntigos y los cóntigos se pueden comparar entre sí.

50 En el contexto de la presente enseñanza, una "muestra" es una muestra que comprende al menos una molécula de ácido nucleico de un microorganismo bacteriano. Ejemplos de muestras son: células, tejido, fluidos corporales, muestras de biopsia, sangre, orina, saliva, esputo, plasma, suero, sobrenadante de cultivo celular, muestra de hisopo y otros. De acuerdo con ciertas realizaciones, la muestra es una muestra de un paciente (aislado clínico).

Los métodos nuevos y altamente eficientes de secuenciación de ácidos nucleicos denominados secuenciación de próxima generación han abierto la posibilidad de realizar análisis genómicos a gran escala. El término "secuenciación de próxima generación" o "secuenciación de alto rendimiento" se refiere a tecnologías de secuenciación de alto

rendimiento que paralelizan el proceso de secuenciación, produciendo miles o millones de secuencias a la vez. Los ejemplos incluyen secuenciación de firmas masivamente paralelas (MPSS), secuenciación de Polony, pirosecuenciación 454, secuenciación de Illumina (Solexa), secuenciación SOLID, secuenciación de semiconductores de iones, secuenciación de nanobolas de ADN, secuenciación de molécula única de HeliScope(MC), secuenciación SMRT(MC) de molécula única, secuenciación en tiempo real de molécula única (RNAP), secuenciación de ADN de nanoporos, secuenciación por hibridación, secuenciación de amplicones, GnuBio.

Dentro de la presente descripción, el término "microorganismo" comprende el término microbio. El tipo de microorganismo no está particularmente restringido, a menos que se indique lo contrario o sea obvio, y, por ejemplo, comprende bacterias, virus, hongos, algas microscópicas y protozoos, así como combinaciones de los mismos. De acuerdo con ciertos aspectos, se refiere a una o más cepas de *Staphylococcus aureus*.

Una referencia a un microorganismo o microorganismos en la presente descripción comprende una referencia a un microorganismo así como a una pluralidad de microorganismos, por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis o más microorganismos.

Un vertebrado dentro de la presente enseñanza se refiere a animales que tienen vértebras, que incluye mamíferos, incluidos humanos, aves, reptiles, anfibios y peces. Por lo tanto, la presente enseñanza no solo es adecuada para la medicina humana, sino también para la medicina veterinaria.

De acuerdo con ciertas realizaciones, el paciente en los presentes métodos es un vertebrado, más preferiblemente un mamífero y lo más preferiblemente un paciente humano.

Antes de que la enseñanza se describa con detalle a modo de ejemplo, debe entenderse que esta enseñanza no se limita a las partes componentes particulares de las etapas del proceso de los métodos descritos en el presente documento, ya que tales métodos pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en el presente documento tiene el propósito de describir realizaciones particulares solamente, y no pretende ser limitativa. Debe señalarse que, tal como se utilizan en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno, una" y "el, la" incluyen referentes singulares y/o plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, el término "uno" como se usa en este documento puede entenderse como una sola entidad o en el sentido de "una o más" entidades. También debe entenderse que las formas plurales incluyen referentes singulares y/o plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Además, debe entenderse que, en caso de que se den intervalos de parámetros que estén delimitados por valores numéricos, se considera que los intervalos incluyen estos valores de limitación.

En cuanto a la dosificación de los medicamentos antimicrobianos, por ejemplo antibióticos, se hace referencia a los principios establecidos de farmacología en medicina humana y veterinaria. Por ejemplo, Forth, Henschler, Rummel "Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie", 9ª edición, 2005 podría usarse como guía. En cuanto a la formulación de un medicamento listo para usar, se hace referencia a "Remington, The Science and Practice of Pharmacy", 22ª edición, 2013.

El ensamblaje de una secuencia de genes puede llevarse a cabo mediante cualquier método conocido y no está particularmente limitado.

De acuerdo con un primer aspecto, la presente enseñanza se refiere a un método para determinar un perfil de resistencia a un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, a un antibiótico, para un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, que comprende:

obtener o proporcionar un primer conjunto de datos de secuencias de genes de una pluralidad de aislados clínicos del microorganismo;  
 en el que se ensamblan al menos una parte de las secuencias de genes del primer conjunto de datos;  
 analizar las secuencias de genes del primer conjunto de datos de variantes genéticas para obtener un tercer conjunto de datos de variantes genéticas;  
 proporcionar un segundo conjunto de datos de resistencia y/o susceptibilidad del medicamento antimicrobiano p. ej., antibiótico de la pluralidad de aislados clínicos del microorganismo;  
 correlacionar el tercer conjunto de datos con el segundo conjunto de datos y analizar estadísticamente la correlación;  
 y  
 determinar los sitios genéticos en el genoma del microorganismo con resistencia al medicamento antimicrobiano, p. ej., antibiótico.

En este método, así como en los otros métodos de enseñanza, el primer conjunto de datos de secuencias de genes de una pluralidad de aislados clínicos puede proporcionarse u obtenerse de cualquier forma, preferiblemente no invasiva, y puede proporcionarse, por ejemplo, a partir de muestras *in vitro*.

De acuerdo con determinadas realizaciones, la obtención o provisión de secuencias de genes de una pluralidad de aislados clínicos en este método -así como los demás métodos de la enseñanza- puede comprender lo siguiente:

Se proporciona u obtiene una muestra de un vertebrado, p. ej., un ser humano, y las secuencias de ácido nucleico, p. las secuencias de ADN o ARN se registran mediante un método conocido para registrar ácidos nucleicos, que no está particularmente limitado. Por ejemplo, el ácido nucleico se puede registrar mediante un método de secuenciación, en el que cualquier método de secuenciación es apropiado, en particular los métodos de secuenciación en los que una multitud de componentes de la muestra, como p. ej., en una muestra de sangre, puede analizarse en busca de ácidos nucleicos y/o fragmentos de ácidos nucleicos y/o partes de los mismos contenidos en un período corto de tiempo, incluidos los ácidos nucleicos y/o fragmentos de ácidos nucleicos y/o partes de los mismos de al menos un microorganismo de interés, particularmente un microorganismo bacteriano, p. ej., de la especie *Staphylococcus aureus*. Por ejemplo, la secuenciación se puede llevar a cabo usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), particularmente PCR multiplex, o secuenciación de alto rendimiento o secuenciación de próxima generación, preferiblemente usando secuenciación de alto rendimiento. Para la secuenciación, preferiblemente se utiliza una muestra *in vitro*.

Los datos obtenidos por la secuenciación pueden estar en cualquier formato y luego pueden usarse para identificar los ácidos nucleicos del microorganismo, por ejemplo, de la especie *Staphylococcus aureus*, a identificar, mediante métodos conocidos, por ejemplo, métodos de huellas dactilares, comparando genomas y/o alineando a al menos uno o más genomas de una o más especies del microorganismo de interés, es decir, un genoma de referencia, etc., formando un tercer conjunto de datos de genes alineados para un microorganismo, particularmente *Staphylococcus aureus*, descartando datos adicionales de otras fuentes, por ejemplo, los vertebrados. De acuerdo con ciertas realizaciones, al menos una parte de las secuencias de genes del primer conjunto de datos se ensamblan, en donde el ensamblaje puede llevarse a cabo mediante cualquier método conocido y no está particularmente limitado. De acuerdo con ciertas realizaciones, los datos de las secuencias de genes están esencialmente ensamblados completamente o en su totalidad. Sin embargo, también los datos de genomas de especies conocidas, p. ej., de especies bacterianas como *Staphylococcus aureus*, que ya se conocen, p. ej., de bases de datos como en el NCBI, se puede utilizar en el primer conjunto de datos.

Para algunos organismos, podría ser útil en estudios de asociación de todo el genoma hacer referencia a los puntos de interés, por ejemplo, mutaciones, a una referencia constante para mejorar la estandarización. En el caso del ser humano con una alta coherencia del genoma y un 99 % de secuencias idénticas entre los individuos, esto es fácil y representa el estándar, ya que los genomas de referencia correspondientes están disponibles en las bases de datos.

Sin embargo, en el caso de organismos que desencadenan enfermedades infecciosas (por ejemplo, bacterias y virus), esto es mucho más difícil y, en particular, las variaciones genéticas que no están en los genes, en particular los genes conocidos, pueden pasarse por alto al alinear los datos de secuencia con un genoma de referencia. Una posibilidad de superar esto es recurrir a un pangenoma virtual que contiene todas las secuencias de un determinado género o realizar llamadas de variación libre de referencia. Otra posibilidad es el análisis de todas las referencias disponibles, que es mucho más complejo. Allí se extraen todas las n referencias de una base de datos (por ejemplo, RefSeq) y se comparan con los genomas bacterianos recién secuenciados k. Después de esto, se pueden aplicar matrices (% de lecturas mapeadas, % de genoma cubierto) y los datos se pueden comparar con varios genomas de referencia. En tal caso, se realizan n x k alineaciones completas. Con un gran número de referencias, se pueden obtener resultados estables, como es el caso, p. ej., de *Staphylococcus aureus*. Además, debido a la alta tasa de división bajo estrés/una señal exógena, se puede observar un salto en la tasa de mutación.

De acuerdo con la enseñanza, la secuencia de genes del primer conjunto de datos se ensambla, al menos en parte, con métodos conocidos, por ejemplo, mediante ensamblaje de novo o ensamblaje de mapeo. El ensamblaje de secuencias no está particularmente limitado, y se puede usar cualquier ensamblador de genoma conocido, p. ej., basados en tecnologías Sanger, 454, Solexa, Illumina, SOLid, etc., así como híbridos/mezclas de los mismos.

De acuerdo con ciertas realizaciones, los datos de ácidos nucleicos de diferente origen que el microorganismo de interés, por ejemplo, un microorganismo bacteriano como *Staphylococcus aureus*, pueden eliminarse después de identificar los ácidos nucleicos de interés, por ejemplo, filtrando los datos. Dichos datos pueden, p. ej., incluir ácidos nucleicos de un paciente, p. ej., el vertebrado, p. ej., humano, y/u otros microorganismos, etc. Esto se puede hacer p.ej., resta informática, desarrollada por Meyerson et al. 2002. Para esto, también es posible la alineación con el genoma del vertebrado, etc. Para la alineación, hay varias herramientas de alineación disponibles. De esta manera, la cantidad de datos originales de la muestra se puede reducir drásticamente.

Después de tal eliminación de los datos "en exceso", puede llevarse a cabo la obtención del tercer conjunto de datos para el microorganismo, por ejemplo, *Staphylococcus aureus*, como se ha descrito anteriormente.

Usando estas técnicas, se pueden obtener variaciones genéticas en las secuencias de genes del microorganismo de interés, por ejemplo, un microorganismo bacteriano como *Staphylococcus aureus*, para varias especies.

Cuando se analizan estas mismas especies en busca de medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, susceptibilidad a una serie de medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, por ejemplo, utilizando métodos de cultivo estándar en placas con medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, ingesta de antibióticos, como se describe a continuación, los resultados de estos medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, a los antibióticos, las pruebas de susceptibilidad pueden luego ser cruzadas/correlacionadas con las variaciones genéticas en el genoma

del microorganismo respectivo, por ejemplo, *Staphylococcus aureus*. Usando varios, p. ej., 50 o más de 50, 100 o más de 100, 200 o más de 200, 400 o más de 400, 800 o más de 800, o 900 o más de 900 aislados diferentes de la misma o diferente especie de un microorganismo, p. ej., de *Staphylococcus aureus*, se puede llevar a cabo un análisis estadístico de los datos cruzados obtenidos entre las variaciones genéticas y el medicamento antimicrobiano, p. ej., antibióticos, susceptibilidad a estos microorganismos, usando métodos conocidos.

Con respecto a los métodos de cultivo, las muestras de microorganismos pueden cultivarse, por ejemplo, durante la noche. Al día siguiente, las colonias individuales se pueden utilizar para la identificación de organismos, ya sea mediante cultivo o mediante espectroscopia de masas. En función de la identidad de los organismos, se inoculan y cultivan durante 12 a 24 horas más placas nuevas que contienen concentraciones crecientes de antibióticos utilizados para el tratamiento de estos organismos. La concentración de medicamento más baja que inhibe el crecimiento (concentración inhibitoria mínima - MIC) se puede utilizar para determinar la susceptibilidad/resistencia a los antibióticos probados.

Además, las pruebas de resistencia se pueden realizar determinando, por ejemplo, genes de resistencia conocidos en los diferentes aislados, por ejemplo, en el caso de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) y *Staphylococcus aureus* sensible a la meticilina (MSSA), pero también con respecto a las resistencias de *Staphylococcus* a uno o más (diferentes) medicamentos, por ejemplo, antibióticos. Para determinar las resistencias, respectivamente la susceptibilidad, pueden usarse los datos de los métodos de cultivo y/o de la determinación de genes de resistencia conocidos, así como los datos obtenidos de diferentes maneras, p. ej., basado en espectrometría de masas (posiblemente también en relación con el cultivo).

La correlación de las variaciones genéticas con la resistencia al medicamento antimicrobiano, por ejemplo, al antibiótico, puede llevarse a cabo de la forma habitual y no está particularmente limitada. Por ejemplo, las resistencias se pueden correlacionar con variaciones genéticas en el genoma completo del microorganismo respectivo o solo en partes del mismo, por ejemplo, solo codificando partes del genoma. En algunos casos, incluso solo se pueden determinar las variaciones genéticas en los genes, p. ej., ciertos genes, o ciertas mutaciones, p. ej., los SNP en los genes. Después de la correlación, se puede llevar a cabo el análisis estadístico.

De acuerdo con ciertas realizaciones, las variantes genéticas en las secuencias de genes del primer conjunto de datos son polimorfismos de un solo nucleótido (SNP).

De acuerdo con ciertas realizaciones, los datos del primer conjunto de datos, particularmente los SNP, pueden filtrarse antes de una posible anotación a un pangenoma y/o genoma o genomas de referencia y la correlación con los datos de resistencia/susceptibilidad.

Por ejemplo, para reducir el número de anotaciones similares, se pueden filtrar y agregar por uno o más de los siguientes:

- Solo se pueden conservar las anotaciones para las que el SNP considerado se encuentra en una proteína y descartar los datos adicionales.
- Solo se pueden conservar las anotaciones que no contengan "proteínas hipotéticas".
- Las anotaciones se pueden ordenar por número de identificación (ID) del SNP y el producto génico
- Para un par único de ID de SNP y productos génicos, solo se puede conservar la primera anotación.

Además, de acuerdo con ciertas realizaciones, se pueden excluir los siguientes SNP:

- Los SNP sin ninguna anotación o SNP cuyas anotaciones contengan el indicador "sinónimo", de modo que solo se consideran los SNP con al menos una anotación no sinónima, p. ej., una codificación no sinónima
- Los SNP constantes, es decir, con el mismo valor para todas las muestras
- Los SNP casi constantes: SNP cuyo valor más frecuente tiene una frecuencia  $\geq 95\%$ , es decir, mínimo el 95% de todas las muestras tienen el mismo valor de SNP
- También se pueden eliminar los SNP con un valor faltante ("-") para más del 10 % de las muestras.

De acuerdo con ciertas realizaciones, los SNP se detectan sin alineación. De esta manera, también se pueden encontrar SNP que no se encuentran en uno o más genomas de referencia determinados. Por ejemplo, las secuencias de genes ensambladas se pueden comparar entre sí, como se describió anteriormente. Sin embargo, como se indicó anteriormente, también es posible incluir secuencias de genes conocidas de microorganismos de, p. ej., la misma especie, p. ej., especies de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, que son p. ej., depositadas por el público, p. ej., en el NCBI, y usar también estos datos para encontrar variaciones genéticas.

De acuerdo con ciertas realizaciones, los SNP se anotan en un pangenoma del microorganismo y/o se anotan en uno o más genomas de referencia del microorganismo, por ejemplo, una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*. Por ejemplo, de acuerdo con ciertas realizaciones, el microorganismo usado en el método anterior es una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, y el medicamento antimicrobiano es meticilina y/o uno o más de los antibióticos descritos a continuación. Para dichas realizaciones, se obtuvieron las 50 variaciones genéticas con la probabilidad estadística más alta (particularmente usando 49 genomas de *S. aureus*

5 terminados del NCBI que incluyen el cromosoma y los plásmidos disponibles y 995 ensamblajes de *S. aureus* de novo que tienen un ensamblaje) determinados de acuerdo con el presente método son los que se dan en la Tabla 1. En la Tabla 1, se proporciona la posición de la variación genética (denominada "posición"; siendo R la dirección inversa y F la dirección directa) para cada variación (con números consecutivos del 1 al 50) con referencia a uno o más genomas de referencia conocidos del NCBI (con el número del NCBI en la columna "genoma de referencia" y el nombre del genoma en la columna "nombre del genoma"). Los genomas de referencia se adjuntan a esta solicitud como listado de secuencias.

10 Los genomas de referencia utilizados en la Tabla 1 para la anotación se obtuvieron de las siguientes cepas de *Staphylococcus aureus* y son los siguientes: NC\_017340, NC\_010079, NC\_022222, NC\_021670, NC\_017351, NC\_002953, NC\_017337, NC\_018608, NC\_007795, NC\_021059, NC\_021554, NC\_016912, NC\_022226 y NC\_022113, que se dan a continuación en el mismo orden con más detalle:  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_017340](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_017340)

LUGAR	NC_017340 2821452 pb ADN circular CON 15 de julio de 2015
DEFINICIÓN	<i>Staphylococcus aureus</i> 04-02981, genoma completo.
ACCESO	NC_017340
VERSIÓN	NC_017340.1 GI:387149188
DBLINK	BioProject: PRJNA224116 BioSample: SAMN02603764 Ensamblaje: GCF_000025145.1
PALABRAS CLAVE	RefSeq.
FUENTE	<i>Staphylococcus aureus</i> 04-02981
ORGANISMO	<i>Staphylococcus aureus</i> 04-02981 Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.
REFERENCIA	1 (bases 1 a 2821452)
AUTORES	Nubel, U., Dordel, J., Kurt, K., Strommenger, B., Westh, H., Shukla, S.K., Zemlickova, H., Leblois, R., Wirth, T., Jombart, T., Balloux, F. y Witte, W.
TÍTULO	A timescale for evolution, population expansion, and spatial spread of an emerging clone of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
JOURNAL	PloS Pathog. 6 (4), E1000855 (2010)
PUBMED	20386717
OBSERVACIÓN	Estado de la publicación: solo en línea
REFERENCIA	2 (bases 1 a 2821452)
AUTORES	Nubel, U., Dordel, J., Kurt, K., Strommenger, B., Westh, H., Shukla, S.K., Zemlickova, H., Leblois, R., Wirth, T., Jombart, T., Balloux, F. y Witte, W.
TÍTULO	Presentación directa
JOURNAL	Presentado (5 de noviembre de 2010) Infecciones nosocomiales, Instituto Robert Koch, Burgstr. 37, Wernigerode 38855, Alemania
OBSERVACIÓN	Actualización de la secuencia por el remitente
REFERENCIA	3 (bases 1 a 2821452)
AUTORES	Nubel, U., Dordel, J., Kurt, K., Strommenger, B., Westh, H., Shukla, S.K., Zemlickova, H., Leblois, R., Wirth, T., Jombart, T., Balloux, f y Witte, W.
TÍTULO	Presentación directa
JOURNAL	Presentado (22 de diciembre de 2009) Infecciones Nosocomiales, Instituto Robert Koch, Burgstr. 37, Wernigerode 38855, Alemania

[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_010079](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_010079)

LUGAR	NC_010079 2872915 pb ADN circular CON 15 de julio de 2015
DEFINICIÓN	<i>Staphylococcus aureus</i> subespecie aureus USA300_TCH1516, genoma completo.
ACCESO	NC_010079
VERSIÓN	NC_010079.1 GI:161508266

## ES 2 949 439 T3

DBLINK	BioProject: PRJNA224116 BioSample: SAMN00253845 Ensamblaje: GCF_000017085.1
PALABRAS CLAVE	RefSeq.
FUENTE	<i>Staphylococcus aureus</i> subespecie <i>aureus</i> USA300_TCH1516
ORGANISMO	<i>Staphylococcus aureus</i> subespecie <i>aureus</i> USA300_TCH1516 Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.
REFERENCIA	1 (bases 1 a 2872915)
AUTORES	Highlander, S.K., Hulten, K.G., Qin, X., Jiang, H., Yerrapragada, S., Mason, E.O. Jr., Shang, Y., Williams, T.M., Fortunov, R.M., Liu, Y., Igboeli, O., Petrosino, J., Tirumalai, M., Uzman, A., Fox, G.E., Cardenas, A.M., Muzny, D.M., Hemphill, L., Ding, Y., Dugan, S., Blyth, P.R., Buhay, C.J., Dinh, H.H., Hawes, A.C., Holder, M., Kovar, C.L., Lee, S.L., Liu, W., Nazareth, L.V., Wang, Q., Zhou, J., Kaplan, S.L. y Weinstock, G.M.
TÍTULO	Subtle genetic changes enhance virulence of methicillin resistant and sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>
JOURNAL	BMC Microbiol. 7, 99 (2007)
PUBMED	17986343
OBSERVACIÓN	Estado de publicación: solo en línea
REFERENCIA	2 (bases 1 a 2872915)
AUTORES	Muzny, D., Qin, X., Buhay, C., Dugan-Rocha, S., Ding, Y., Chen, G., Hawes, A., Holder, M., Jhangiani, S., Johnson, A., Khan, Z., Li, Z., Liu, W., Liu, X., Pérez, L., Shen, H., Wang, Q., Watt, J., Xi, L., Xin, Y., Zhou, J., Deng, J., Jiang, H., Liu, Y., Qu, J., Song, X.-Z., Zhang, L., Villasana, D., Johnson, A., Liu, J., Liyanage, D., Lorensuhewa, L., Robinson, T., Song, A., Song, B.-B., Dinh, H., Thornton, R., Coyle, M., Francisco, L., Jackson, L., Javaid, M., Korchina, V., Kovar, C., Mata, R., Mathew, T., Ngo, R., Nguyen, L., Nguyen, N., Okwuonu, G., Ongeri, F., Pham, C., Simmons, D., Wilczek-Boney, K., Hale, W., Jakkamsetti, A., Pham, P., Ruth, R., San Lucas, F., Warren, J., Zhang, J., Zhao, Z., Zhou, C., Zhu, D., Lee, S., Bess, C., Blankenburg, K., Forbes, L., Fu, Q., Gubbala, S., Hirani, K., Jayaseelan, J.C., Lara, F., Munidasa, M., Palculict, T., Patil, S., Pu, L.-L., Saada, N. Tang, L., Weissenberger, G., Zhu, Y., Hemphill, L., Shang, Y., Youmans, B., Ayvaz, T., Ross, M., Santibáñez, J., Aqrawi, P., Gross, S., Joshi, V., Fowler, G., Nazareth, L., Reid, J., Worley, K., Petrosino, J., Highlander, S. y Gibbs, R.
TÍTULO	Presentación directa
JOURNAL	Presentado (20 de junio de 2007) Virología Molecular y Microbiología y el Centro de Secuenciación del Genoma Humano, Baylor College of Medicine, One Baylor Plaza, Houston, TX 77030, Estados Unidos
<a href="http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_022222">http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_022222</a>	
LUGAR	NC_022222 2736560 pb ADN circular CON 17 de febrero de 2015
DEFINICIÓN	<i>Staphylococcus aureus</i> subespecie <i>aureus</i> 6850, genoma completo.
ACCESO	NC_022222
VERSIÓN	NC_022222.1 GI:537441500
DBLINK	BioProject: PRJNA224116 BioSample: SAMN02604264 Ensamblaje: GCF_000462955.1
PALABRAS CLAVE	RefSeq.
FUENTE	<i>Staphylococcus aureus</i> subespecie <i>aureus</i> 6850
ORGANISMO	<i>Staphylococcus aureus</i> subespecie <i>aureus</i> 6850 Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.
REFERENCIA	1 (bases 1 a 2736560)
AUTORES	Fraunholz, M., Bernhardt, J., Schuldes, J., Daniel, R., Hecker, M. y Sinha, B.

## ES 2 949 439 T3

TÍTULO Complete Genome Sequence of *Staphylococcus aureus* 6850, a Highly Cytotoxic and Clinically Virulent Methicillin-Sensitive Strain with Distant Relatedness to Prototype Strains  
 JOURNAL Genome Announc 1 (5) (2013)  
 PUBMED 24072870  
 OBSERVACIÓN Estado de publicación: solo en línea  
 REFERENCIA 2 (bases 1 a 2736560)  
 AUTORES Fraunholz, M.J., Bernhardt, J., Hecker, M., Schuldes, J., Daniel, R. y Sinha, B.  
 TÍTULO Presentación directa  
 JOURNAL Presentado (26 de agosto de 2013) Departamento de Microbiología, Universidad de Wuerzburg, Am Hubland, Wuerzburg 97074, Alemania

[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_021670](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_021670)

LUGAR NC\_021670 2980548 pb ADN circular CON 07 de febrero de 2015  
 DEFINICIÓN *Staphylococcus aureus* Bmb9393, genoma completo.  
 ACCESO NC\_021670  
 VERSIÓN NC\_021670.1 GI:521210823  
 DBLINK BioProject: PRJNA224116  
 BioSample: SAMN02603524  
 Ensamblaje: GCF\_000418345.1  
 PALABRAS CLAVE RefSeq.  
 FUENTE *Staphylococcus aureus* Bmb9393  
 ORGANISMO *Staphylococcus aureus* Bmb9393  
 Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.  
 REFERENCIA 1 (bases 1 a 2980548)  
 AUTORES Costa M.O., Beltrame C.O., Ferreira F.A., Botelho A.M., Lima N.C., Souza R.C., de Almeida L.G., Vasconcelos A.T., Nicolas M.F. y Figueiredo, A. M.  
 TÍTULO Complete Genome Sequence of a Variant of the Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST239 Lineage, Strain BMB9393, Displaying Superior Ability to Accumulate ica-Independent Biofilm  
 JOURNAL Genome Announc 1 (4) (2013))  
 PUBLICADO 23929475  
 OBSERVACIÓN Estado de publicación: solo en línea  
 REFERENCIA 2 (bases 1 a 2980548)  
 AUTORES Costa M.O.C., Beltrame C.O., Lima N.C.B., Almeida L.G.P., Vasconcelos A.T.R., Ferreira F.A., Nicolas M.F. y Figueiredo, A.M.S.  
 TÍTULO Presentación directa  
 JOURNAL Presentado (15 de abril de 2013) Labinfo, LNCC - Laboratorio Nacional de Computo Científico, Rua Getulio Vargas 333, Petropolis, RJ 25651070, Brasil

[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_017351](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_017351)

LUGAR NC\_017351 2846546 pb ADN circular CON 07 de febrero de 2015  
 DEFINICIÓN *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* 11819-97, genoma completo.  
 ACCESO NC\_017351  
 VERSIÓN NC\_017351.1 GI:385780298  
 DBLINK BioProject: PRJNA224116  
 BioSample: SAMN02603886  
 Ensamblaje: GCF\_000239235.1  
 PALABRAS CLAVE RefSeq.

## ES 2 949 439 T3

FUENTE *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* 11819-97  
 ORGANISMO *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* 11819-97  
 Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.  
 REFERENCIA 1 (bases 1 a 2846546)  
 AUTORES Stegger, M., Price, L.B., Larsen, A.R., Gillece, J.D., Waters, A.E., Skov, R. y Andersen, P. S.  
 TÍTULO Genome sequence of *Staphylococcus aureus* strain 11819-97, an ST80-IV European communityacquired methicillin-resistant isolate  
 JOURNAL J. Bacteriol. 194 (6), 1625-1626 (2012)  
 PUBLICADO 22374956  
 REFERENCIA 2 (bases 1 a 2846546)  
 AUTORES Stegger, M., Price, L.B., Larsen, A.R., Gillece, J.D., Waters, A.E., Skov, R. y Andersen, P. S.  
 TÍTULO Presentación directa  
 JOURNAL Presentado (13 de diciembre de 2011) Departamento de Vigilancia e Investigación Microbiológica, Instituto Statens Serum, Oerestads Boulevard 5, 2300 Copenhagen S, 5 Artilerivej, Dinamarca

[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_002953](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_002953)

LUGAR NC\_002953 2799802 pb ADN circular CON 07 de febrero de 2015  
 DEFINICIÓN *Staphylococcus aureus* cepa MSSA476, genoma completo.  
 ACCESO NC\_002953  
 VERSIÓN NC\_002953.3 GI:49484912  
 DBLINK BioProject: PRJNA224116  
 Ensamblaje: GCF\_000011525.1  
 PALABRAS CLAVE RefSeq; genoma completo.  
 FUENTE *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* MSSA476  
 ORGANISMO *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* MSSA476  
 Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.  
 REFERENCIA 1 (bases 1 a 2799802)  
 AUTORES Holden, M.T., Feil, E.J., Lindsay, J.A., Peacock, S.J., Day, N.P., Enright, M.C., Foster, T.J., Moore, C.E., Hurst, L., Atkin, R., Barron, A., Bason, N., Bentley, S.D., Chillingworth, C., Chillingworth, T., Churcher, C., Clark, L., Corton, C., Cronin, A., Doggett, J., Dowd, L., Feltwell, T., Hance, Z., Harris, B., Hauser, H., Holroyd, S., Jagels, K., James, K.D., Lennard, N., Line, A., Mayes, R., Moule, S., Mungall, K., Ormond, D., Quail, M.A., Rabinowitsch, E., Rutherford, K., Sanders, M., Sharp, S., Simmonds, M., Stevens, K., Whitehead, S., Barrell, B.G., Spratt, B.G. y Parkhill, J.  
 TÍTULO Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: evidence for the rapid Evolution of virulence and drug resistance  
 JOURNAL Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 101 (26), 9786-9791 (2004)  
 PUBLICADO 15213324  
 REFERENCIA 2 (bases 1 a 2799802)  
 AUTORES Holden, M. T. G.  
 TÍTULO Presentación directa  
 JOURNAL Presentado (23 de junio de 2004) Presentado en nombre de la Unidad de Secuenciación de Patógenos, Instituto Sanger, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SA, correo electrónico: mh3@sanger.ac.uk

[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_017337](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_017337)

LUGAR NC\_017337 2832478 pb ADN circular CON 07 de febrero de 2015  
 DEFINICIÓN *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* ED133, genoma completo.  
 ACCESO NC\_017337

## ES 2 949 439 T3

VERSIÓN	NC_017337.1 GI:384546269
DBLINK	BioProject: PRJNA224116 BioSample: SAMN02604166 Ensamblaje: GCF_000210315.1
PALABRAS CLAVE	RefSeq.
FUENTE	<i>Staphylococcus aureus</i> subespecie <i>aureus</i> ED133
ORGANISMO	<i>Staphylococcus aureus</i> subespecie <i>aureus</i> ED133 Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.
REFERENCIA	1 (bases 1 a 2832478)
AUTORES	Guinane, C.M., Ben Zakour, N.L., Tormo-Mas, M.A., Weinert, L.A., Lowder, B.V., Cartwright, R.A., Smyth, D.S., Smyth, C.J., Lindsay, J.A., Gould, K.A., Witney, A., Hinds, J., Bollback, J.P., Rambaut, A., Penades, J.R. y Fitzgerald, J.R.
TÍTULO	Evolutionary genomics of <i>Staphylococcus aureus</i> reveals insights into the origin and molecular basis of ruminant host adaptation
JOURNAL	Genome Biol Evol 2, 454-466 (2010)
PUBLICADO	20624747
OBSERVACIÓN	Estado de publicación: solo en línea
REFERENCIA	2 (bases 1 a 2832478)
AUTORES	Guinane, C.M., Ben Zakour, N.L., Tormo-Mas, M.A., Weinert, L.A., Lowder, B.V., Cartwright, R.A., Smyth, D.S., Smyth, C.J., Lindsay, J., Gould, K.A., Witney, A., Hinds, J., Bollback, J.P., Rambaut, A., Penades, J. y Fitzgerald, J.R.
TÍTULO	Presentación directa
JOURNAL	Presentado (29 de marzo de 2010) The Roslin Institute and Center for Infectious Diseases, Royal (Dick) School of Veterinary Studies, University of Edinburgh, The Chancellor's Building, New Royal Infirmary, 49 Little France Crescent, Edinburgh EH16 4SB, Reino Unido

[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_018608](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_018608)

LUGAR	NC_018608 2782313 pb ADN circular CON 07 de febrero de 2015
DEFINICIÓN	<i>Staphylococcus aureus</i> 08BA02176, genoma completo.
ACCESO	NC_018608
VERSIÓN	NC_018608.1 GI:404477334
DBLINK	BioProject: PRJNA224116 BioSample: SAMN02603722 Ensamblaje: GCF_000296595.1
PALABRAS CLAVE	RefSeq.
FUENTE	<i>Staphylococcus aureus</i> 08BA02176
ORGANISMO	<i>Staphylococcus aureus</i> 08BA02176 Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.
REFERENCIA	1 (bases 1 a 2782313)
AUTORES	Golding, G.R., Bryden, L., Levett, P.N., McDonald, R.R., Wong, A., Graham, M.R., Tyler, S., Van Domselaar, G., Mabon, P., Kent, H., Butaye, P., Smith, T.C., Kadlec, K., Schwarz, S., Weese, S.J. y Mulvey, M. R.
TÍTULO	whole-genome sequence of livestock-associated st398 methicillin-resistant <i>staphylococcus aureus</i> Isolated from Humans in Canada
JOURNAL	J. Bacteriol. 194 (23), 6627-6628 (2012)
PUBLICADO	23144384
REFERENCIA	2 (bases 1 a 2782313)

## ES 2 949 439 T3

AUTORES Golding, G.R., Bryden, L., Levett, P.N., McDonald, R.R., Wong, A., Graham, M.R., Tyler, S., Van Domselaar, G., Mabon, P., Kent, H., Butaye, P., Smith, T.C., Kadlec, K., Schwarz, S., Weese, S.J. y Mulvey, M. R.

TÍTULO Presentación directa

JOURNAL Presentado (31 de agosto de 2012) Resistencia antimicrobiana e infecciones nosocomiales, Agencia de Salud Pública de Canadá, Laboratorio Nacional de Microbiología, 1015 Arlington Street, Winnipeg, Manitoba R3E 3R2, Canadá

[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_007795](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_007795)

LUGAR NC\_007795 2821361 pb ADN circular CON 16 de diciembre de 2014

DEFINICIÓN *Staphylococcus aureus* subespecie aureus NCTC 8325 cromosoma, genoma completo.

ACCESO NC\_007795

VERSIÓN NC\_007795.1 GI:88193823

DBLINK BioProject: PRJNA57795

PALABRAS CLAVE RefSeq.

FUENTE *Staphylococcus aureus* subespecie aureus NCTC 8325

ORGANISMO *Staphylococcus aureus* subespecie aureus NCTC 8325  
Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.

REFERENCIA 1 (bases 1 a 2821361)

AUTORES Gillaspy, A.F., Worrell, V., Orvis, J., Roe, B.A., Dyer, D.W. y landolo, J. J.

TÍTULO The Staphylococcus aureus NCTC8325 Genome

JOURNAL (en) Fischetti, V., Novick, R., Ferretti, J., Portnoy, D. y Rood, J. (Eds.); PATÓGENOS GRAMPOSITIVOS; ASM Press (2006))

REFERENCIA 2 (bases 1 a 2821361)

CONSRTM Proyecto Genoma del NCBI

TÍTULO Presentación directa

JOURNAL Presentado (18 de febrero de 2006) Centro Nacional de Información Biotecnológica, NIH, Bethesda, MD 20894, Estados Unidos

REFERENCIA 3 (bases 1 a 2821361)

AUTORES Gillaspy, A.F., Worrell, V., Orvis, J., Roe, B.A., Dyer, D.W. y landolo, J. J.

TÍTULO Presentación directa

JOURNAL Presentado (27 de enero de 2006) Microbiología e Inmunología, Centro de Ciencias de la Salud de la Universidad de Oklahoma, 940 Stanton L. Young Boulevard, Oklahoma City, OK 73104, Estados Unidos

[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC-021059](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC-021059)

LUGAR NC\_021059 2864125 pb ADN circular CON 01 de marzo de 2015

DEFINICIÓN *Staphylococcus aureus* M1, genoma completo.

ACCESO NC\_021059

VERSIÓN NC\_021059.1 GI:479328021

DBLINK BioProject: PRJNA224116  
Ensamblaje: GCF\_000367745.1

PALABRAS CLAVE RefSeq; genoma completo.

FUENTE *Staphylococcus aureus* M1

ORGANISMO *Staphylococcus aureus* M1  
Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.

REFERENCIA 1

AUTORES Larner-Svensson, H., Worning, P., Bartels, M.D., Hestbjerg Hansen, L., Boye, K. y West, H.

## ES 2 949 439 T3

TÍTULO Complete Genome Sequence of *Staphylococcus aureus* Strain M1, a Unique t024-ST8-IVa Danish Methicillin-Resistant *S. aureus* Clone  
 JOURNAL Genome Announc 1 (3) (2013)  
 PUBLICADO 23792746  
 OBSERVACIÓN Estado de publicación: solo en línea  
 REFERENCIA 2 (bases 1 a 2864125)  
 AUTORES Worning, P.  
 TÍTULO Presentación directa  
 JOURNAL Enviado (18 de marzo de 2013) Departamento de Microbiología Clínica, Hospital Hvidovre, Kettegaard Alle 30, DK-2650, DINAMARCA

[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_021554](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_021554)

LUGAR NC\_021554 2850503 pb ADN circular CON 07 de febrero de 2015  
 DEFINICIÓN *Staphylococcus aureus* CA-347, genoma completo.  
 ACCESO NC\_021554  
 VERSIÓN NC\_021554.1 GI:514064966  
 DBLINK BioProject: PRJNA224116  
 BioSample: SAMN02603909  
 Ensamblaje: GCF\_000412775.1  
 PALABRAS CLAVE RefSeq.  
 FUENTE *Staphylococcus aureus* CA-347  
 ORGANISMO *Staphylococcus aureus* CA-347  
 Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; *Staphylococcus*.  
 REFERENCIA 1 (bases 1 a 2850503)  
 AUTORES Stegger, M., Driebe, E.M., Roe, C., Lemmer, D., Bowers, J.R., Engelthaler, D.M., Keim, P. y Andersen, P. S.  
 TÍTULO Genome Sequence of *Staphylococcus aureus* Strain CA-347, a USA600 Methicillin-Resistant Isolate  
 JOURNAL Genome Announc 1 (4) (2013)  
 PUBLICADO 23887918  
 OBSERVACIÓN Estado de publicación: solo en línea  
 REFERENCIA 2 (bases 1 a 2850503)  
 AUTORES Stegger, M., Driebe, E.M., Roe, C., Lemmer, D., Engelthaler, D.M., Keim, P. y Andersen, P. S.  
 TÍTULO Presentación directa  
 JOURNAL Presentado (10 de junio de 2013) CPHCP, TGen North, 3051 W. Shamrell Blvd., Ste. 106, Flagstaff, AZ 86001, Estados Unidos

[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_016912](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_016912)

LUGAR NC\_016912 2692570 pb ADN circular CON 07 de febrero de 2015  
 DEFINICIÓN *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* VC40, genoma completo.  
 ACCESO NC\_016912  
 VERSIÓN NC\_016912.1 GI:379013365  
 DBLINK BioProject: PRJNA224116  
 BioSample: SAMN02603393  
 Ensamblaje: GCF\_000245495.1  
 PALABRAS CLAVE RefSeq.  
 FUENTE *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* VC40

## ES 2 949 439 T3

ORGANISMO *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* VC40  
 Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.

REFERENCIA 1 (bases 1 a 2692570)

AUTORES Sass, P., Berscheid, A., Jansen, A., Oedenkoven, M., Szekat, C., Strittmatter, A., Gottschalk, G. y Bierbaum, G.

TÍTULO Genome sequence of *Staphylococcus aureus* VC40, a vancomycin- and daptomycin-resistant strain, to study the genetics of development of resistance to currently applied last-resort antibiotics

JOURNAL J. Bacteriol. 194 (8), 2107-2108 (2012)

PUBLICADO 22461548

REFERENCIA 2 (bases 1 a 2692570)

AUTORES Sass, P., Berscheid, A., Jansen, A., Oedenkoven, M., Szekat, C., Strittmatter, A., Gottschalk, G. y Bierbaum, G.

TÍTULO Presentación directa

JOURNAL Presentado (25 de agosto de 2011) Instituto de Microbiología Médica, Inmunología y Parasitología, Universidad de Bonn, Sigmund-Freud-Str. 25, Bonn 53105, Alemania

[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_022226](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_022226)

LUGAR NC\_022226 2751266 pb ADN circular CON 01 de marzo de 2015

DEFINICIÓN *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* CN1, genoma completo.

ACCESO NC\_022226

VERSIÓN NC\_022226.1 GI:537459744

DBLINK BioProject: PRJNA224116  
 BioSample: SAMN02603420  
 Ensamblaje: GCF\_000463055.1

PALABRAS CLAVE RefSeq.

FUENTE *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* CN1

ORGANISMO *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* CN1  
 Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.

REFERENCIA 1 (bases 1 a 2751266)

AUTORES Chen, Y., Chatterjee, S.S., Porcella, S.F., Yu, Y.S. y Otto, M.

TÍTULO Complete genome sequence of a Panton-Valentine leukocidin-negative community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain of sequence type 72 from Korea

JOURNAL PLoS ONE 8 (8), E72803 (2013)

PUBLICADO 23977354

OBSERVACIÓN Estado de publicación: solo en línea

REFERENCIA 2 (bases 1 a 2751266)

AUTORES Otón, M. y Porcella, S. F.

TÍTULO Presentación directa

JOURNAL Presentado (4 de diciembre de 2012) Laboratorio de Patogénesis Bacteriana Humana, NIAID/NIH, 9000 Rockville Pike, Bethesda, MD 20892, Estados Unidos

[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_022113](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_022113)

LUGAR NC\_022113 2756919 pb ADN circular CON 07 de febrero de 2015

DEFINICIÓN *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* 55/2053, genoma completo.

ACCESO NC\_022113 NZ\_ACJR01000000-NZ\_ACJR01000094 NZ\_GG700533-NZ\_GG700558

VERSIÓN NC\_022113.1 GI:532358222

## ES 2 949 439 T3

DBLINK	BioProject: PRJNA224116 BioSample: SAMN00103091 Ensamblaje: GCF_000160335.2
PALABRAS CLAVE	RefSeq.
FUENTE	<i>Staphylococcus aureus</i> subespecie <i>aureus</i> 55/2053
ORGANISMO	<i>Staphylococcus aureus</i> subespecie <i>aureus</i> 55/2053 Bacterias; Firmicutes; Bacilos; Bacillales; Staphylococcus.
REFERENCIA 1	(bases 1 a 2756919)
AUTORES	Feldgarden, M., Robinson, A., Wong, A., Smyth, D., Young, S.K., Zeng, Q., Gargeya, S., Fitzgerald, M., Haas, B., Abouelleil, A., Alvarado, L., Arachchi, H.M., Berlín, A., Brown, A., Chapman, S.B., Chen, Z., Dunbar, C., Gearin, G., Goldberg, J., Griggs, A., Gujja, S., Heiman, D., Howarth, C., Larson, L., Lui, A., MacDonald, P.J.P., Montmayeur, A., Murphy, C., Neiman, D., Pearson, M., Priest, M., Roberts, A., Saif, S., Shea, T., Sisk, P., Stolte, C., Sykes, S., Wortman, J., Nusbaum, C. y Birren, B.
CONSRM	Plataforma de Secuenciación del Genoma del Instituto Broad
TÍTULO	The Genome Sequence of <i>Staphylococcus aureus</i> strain 55-2053
JOURNAL	Inédito
REFERENCIA	2 (bases 1 a 2756919)
AUTORES	Feldgarden, M., Robinson, A., Wong, A., Smyth, D., Young, S.K., Zeng, Q., Gargeya, S., Fitzgerald, M., Haas, B., Abouelleil, A., Alvarado, L., Arachchi, H.M., Berlín, A., Brown, A., Chapman, S.B., Chen, Z., Dunbar, C., Gearin, G., Goldberg, J., Griggs, A., Gujja, S., Heiman, D., Howarth, C., Larson, L., Lui, A., MacDonald, P.J.P., Montmayeur, A., Murphy, C., Neiman, D., Pearson, M., Priest, M., Roberts, A., Saif, S., Shea, T., Sisk, P., Stolte, C., Sykes, S., Wortman, J., Nusbaum, C. y Birren, B.
CONSRM	Plataforma de Secuenciación del Genoma del Instituto Broad
TÍTULO	Presentación directa
JOURNAL	Presentado (10 de mayo de 2013) Instituto Broad del MIT y Harvard, 7 Cambridge Center, Cambridge, MA 02142, Estados Unidos
REFERENCIA	3 (bases 1 a 2756919)
AUTORES	Feldgarden, M., Robinson, A., Wong, A., Smyth, D., Young, S.K., Zeng, Q., Koehrsen, M., Godfrey, P., Alvarado, L., Berlin, A., Borenstein, D., Chen, Z., Engels, R., Freedman, E., Gellesch, M., Goldberg, J., Griggs, A., Gujja, S., Heiman, D., Hepburn, T., Howarth, C., Jen, D., Larson, L., Lewis, B., Mehta, T., Park, D., Pearson, M., Roberts, A., Saif, S., Shea, T., Shenoy, N., Sisk, P., Stolte, C., Sykes, S., Walk, T., White, J., Yandava, C., Wirth, D.F., Galagan, J., Nusbaum, C. y Birren, B.
CONSRM	Plataforma de Secuenciación del Genoma del Instituto Broad
TÍTULO	Presentación directa
JOURNAL	Presentado (2 de abril de 2009) Instituto Broad del MIT y Harvard, 7 Cambridge Center, Cambridge, MA 02142, Estados Unidos

Además, las variaciones genéticas también se pueden anotar en un pangenoma construido a partir de los genomas utilizados y se pueden numerar usando números consecutivos. En el presente método, la construcción de un pangenoma no está particularmente limitada y se puede realizar usando métodos conocidos.

- 5 Sin embargo, otros genomas de referencia adecuados (por ejemplo, usados en los Ejemplos, pero también para otros microorganismos) se pueden encontrar en bases de datos disponibles públicamente como en el NCBI.

El análisis estadístico de la correlación de las mutaciones genéticas con el medicamento antimicrobiano, por ejemplo, la resistencia a los antibióticos, no está particularmente limitado y puede llevarse a cabo, dependiendo, por ejemplo, de la cantidad de datos, de diferentes maneras, por ejemplo, utilizando análisis de varianza (ANOVA), prueba t de Student o prueba exacta de Fisher, por ejemplo, con un tamaño de muestra n de 50, 100, 200, 300, 400, 800 o 900, y un nivel de significancia (nivel de error  $\alpha$ ) de, por ejemplo, 0.05 o menor, por ejemplo, 0.05, preferiblemente 0.01 o menor. Se puede obtener un valor estadístico para cada variación genética y/o cada posición en el genoma, así como para todos los antibióticos probados, un grupo de antibióticos o un solo antibiótico. Los valores de p obtenidos también se pueden adaptar para errores estadísticos, si es necesario.

10

Para obtener resultados estadísticamente sólidos, se debe muestrear una multitud de individuos, con  $n = 50, 100, 200, 300, 400, 800$  o  $900$ , y un nivel de significancia (nivel de error  $\alpha$ ) de, por ejemplo,  $0.05$  o menor, por ejemplo,  $0.05$ , preferiblemente  $0.01$  o menor. De acuerdo con ciertas realizaciones, se pueden obtener resultados particularmente significativos para  $n = 200, 300, 400, 800$  o  $900$ .

5 Para obtener resultados estadísticamente sólidos, se debe muestrear una multitud de individuos, con  $n = 50$  o más,  $100$  o más,  $200$  o más,  $300$  o más,  $400$  o más,  $800$  o más o  $900$  o más, y un nivel de significancia (nivel de error  $\alpha$ ) de, por ejemplo,  $0.05$  o menos, por ejemplo,  $0.05$ , preferiblemente  $0.01$  o menor. De acuerdo con ciertas realizaciones, se pueden obtener resultados particularmente significativos para  $n = 200$  o más,  $300$  o más,  $400$  o más,  $800$  o más o  $900$  o más.

10 Después de llevar a cabo el procedimiento anterior para más de  $900$ , por ejemplo,  $987$ , cepas individuales de especies de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, los datos divulgados en las Tablas 1 y 2 se obtuvieron para las mejores correlaciones estadísticas entre las variaciones genéticas y resistencias a medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, particularmente resistencia a la meticilina. Por lo tanto, las variaciones genéticas en las posiciones dadas en las Tablas 1 y 2, con respecto a los diversos genomas de referencia anteriores, se probaron como marcadores válidos para la resistencia a un medicamento antimicrobiano, p. ej., un antibiótico.

15 Cuando se hace referencia al segundo conjunto de datos, en el que el segundo conjunto de datos comprende, por ejemplo, un conjunto de resistencias a medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, de una pluralidad de aislados clínicos, esto puede, dentro del alcance de la enseñanza, también referirse a una base de datos de autoaprendizaje que, cada vez que se analiza una nueva muestra, puede llevar esta muestra al segundo conjunto de datos y así ampliar su base de datos. El segundo conjunto de datos, por lo tanto, no tiene que ser estático y se puede expandir, ya sea por entrada externa o incorporando nuevos datos debido al autoaprendizaje. Sin embargo, esto no se limita al tercer aspecto de la enseñanza, sino que se aplica a otros aspectos de la enseñanza que se refieren a un segundo conjunto de datos, que no necesariamente tiene que referirse a la resistencia a los medicamentos antimicrobianos. Lo mismo se aplica, en su caso, al primer conjunto de datos, p. ej., en el tercer aspecto.

25 De acuerdo con ciertas realizaciones, el análisis estadístico en los presentes métodos se lleva a cabo usando la prueba de Fisher con  $p < 10^{-6}$ , preferiblemente  $p < 10^{-9}$ .

El método del primer aspecto de la presente enseñanza, así como métodos relacionados, por ejemplo, de acuerdo con el 2<sup>do</sup>, 3<sup>ero</sup> y 4<sup>to</sup> aspectos pueden, de acuerdo con ciertas realizaciones, comprender la correlación de diferentes sitios genéticos entre sí. De esta manera se puede lograr una significancia estadística aún mayor.

30 De acuerdo con ciertas realizaciones del método del primer aspecto y métodos relacionados, como se indicó anteriormente, el segundo conjunto de datos puede proporcionarse cultivando los aislados clínicos del microorganismo en placas de agar provistas de medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, a diferentes concentraciones, y los segundos datos se pueden obtener tomando la concentración mínima de las placas que inhibe el crecimiento del microorganismo respectivo, por ejemplo, *Staphylococcus aureus*.

35 De acuerdo con ciertas realizaciones del método del primer aspecto y métodos relacionados, el medicamento antimicrobiano, por ejemplo, un medicamento antibiótico, se selecciona del grupo que consiste en  $\beta$ -lactamas, inhibidores de  $\beta$ -lactama, quinolinas y derivados de los mismos, por ejemplo, fluoroquinolonas, aminoglucósidos, glicopéptidos, lincosamidas, macrólidos, nitrofuranos, policétidos de oxazolidinonas, respectivamente tetraciclinas e inhibidores de la síntesis de folato, por ejemplo, antibióticos derivados de benceno/sulfonamida, preferiblemente del grupo que consiste en amoxicilina/clavulanato, ampicilina, ampicilina/sulbactam, azitromicina, cefalotina, cefazolina, cefepima, cefotaxima, cefoxitina, ceftriaxona, cefuroxima, cloranfenicol, ciprofloxacina, clindamicina, daptomicina, ertapenem, eritromicina, fosfomicina, ácido fusídico, gentamicina, imipenem, levofloxacina, linezolid, meropenem, metilicina, moxifloxacina, mupirocina, nitrofurantoína, norfloxacina, ofloxacina, oxacilina, penicilina G, piperacilina/tazobactam, quinupristina/dalfopristina, rifampicina, teicoplanina, tetraciclina, tigeciclina, tobramicina, trimetoprim/sulfametoxazol y vancomicina.

De acuerdo con un segundo aspecto, la presente enseñanza divulga un método de diagnóstico para determinar una infección de un paciente con un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano potencialmente resistente al tratamiento con medicamentos antimicrobianos, que comprende las etapas de:

50 a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, del paciente;  
b) determinar la presencia de al menos una variante genética en al menos una posición del microorganismo, particularmente del microorganismo bacteriano, de acuerdo con lo determinado por el método del primer aspecto de la enseñanza, en el que la presencia de dicha al menos una variante genética es indicativa de una infección con un microorganismo resistente a medicamentos antimicrobianos en dicho paciente.

55 Nuevamente, el microorganismo puede ser una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, de acuerdo con ciertas realizaciones, y el medicamento meticilina y/o un medicamento como se describe a continuación, por ejemplo, con respecto al octavo y noveno aspecto.

Con este método, se puede determinar cualquier mutación en el genoma de un microorganismo, por ejemplo, una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, por ejemplo, un aislado clínico con una cepa desconocida del microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, correlacionado con resistencia a un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, a un antibiótico y se puede establecer un perfil completo de resistencia a un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, a un antibiótico.

Nuevamente, las diferentes etapas pueden llevarse a cabo en el presente documento como se describe con respecto al primer aspecto de la presente enseñanza.

De acuerdo con este aspecto, una infección con un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, por ejemplo, una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, en un paciente puede determinarse utilizando métodos de secuenciación, así como una resistencia a medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, del microorganismo, por ejemplo, una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, se puede determinar en un corto período de tiempo en comparación con los métodos convencionales.

En un tercer aspecto, la presente enseñanza se refiere a un método de selección de un tratamiento de un paciente que padece una infección por un microorganismo potencialmente resistente, particularmente un microorganismo bacteriano, que comprende las etapas de:

- a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, del paciente;
- b) determinar la presencia de al menos una variante genética en al menos una posición del microorganismo, particularmente microorganismo bacteriano, de acuerdo con lo determinado por el método del primer aspecto de la enseñanza, en el que la presencia de dicha al menos una variante genética es indicativa de una resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos;
- c) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos; y
- d) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos diferentes a los identificados en la etapa c) y que sean adecuados para el tratamiento de la infección con el microorganismo, particularmente el microorganismo bacteriano.

Este método puede llevarse a cabo de manera similar al segundo aspecto de la enseñanza y permite seleccionar rápidamente un tratamiento adecuado con antibióticos para cualquier infección con un microorganismo desconocido, particularmente un microorganismo bacteriano, por ejemplo, *Staphylococcus aureus*.

En este método, al igual que en otros similares, no es necesario la alineación, ya que la muestra desconocida se puede correlacionar directamente, después de producir el genoma o las secuencias del genoma, con el segundo conjunto de datos y, por lo tanto, se pueden determinar variaciones genéticas y resistencias a medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos. El primer conjunto de datos se puede ensamblar, por ejemplo, usando técnicas conocidas.

De acuerdo con ciertas realizaciones, el análisis estadístico en el presente método se lleva a cabo usando la prueba de Fisher con  $p < 10^{-6}$ , preferiblemente  $p < 10^{-9}$ . Además, de acuerdo con ciertas realizaciones, el método comprende además correlacionar diferentes sitios genéticos entre sí.

Un cuarto aspecto de la presente enseñanza se refiere a un método para adquirir, respectivamente determinar, un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, un perfil de resistencia a un antibiótico para un aislado clínico de un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, que comprende:

- obtener o proporcionar al menos una secuencia de genes del aislado clínico del microorganismo, en particular del microorganismo bacteriano; y
- determinar la presencia de variantes genéticas en al menos una secuencia de genes del aislado clínico del microorganismo, particularmente del microorganismo bacteriano, de acuerdo con lo determinado por el método del primer aspecto de la enseñanza.

Con este método, se pueden determinar las resistencias a medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, en un aislado desconocido de un microorganismo, por ejemplo, *Staphylococcus aureus*.

Un concepto de lectura simple para una prueba de diagnóstico como se describe en este aspecto se muestra esquemáticamente en la Fig. 1.

De acuerdo con la Fig. 1, una muestra 1, por ejemplo, sangre de un paciente, se usa para la prueba molecular 2, por ejemplo, usando secuenciación de próxima generación (NGS), y luego se toma una huella digital molecular 3, por ejemplo, en el caso de NGS, se ensambla una secuencia de regiones genómicas/plasmídicas seleccionadas o el genoma completo. Luego se compara con una biblioteca de referencia 4 que contiene varios genomas de referencia y/o un pangenoma obtenido por el método del primer aspecto, es decir, las secuencias seleccionadas o la secuencia completa se comparan con una o más secuencias de referencia y/o un pangenoma y las variaciones genéticas (SNP, adiciones/eliminaciones de genes de secuencia, etc.) se correlacionan con el perfil de susceptibilidad/resistencia de las cepas de referencia en la biblioteca de referencia. La biblioteca de referencia 4 del presente documento contiene

muchos genomas y/o un pangenoma y es diferente de un genoma de referencia. Luego se informa el resultado 5, que puede comprender ID (identificación de patógenos), es decir, una lista de todas las especies (patógenas) identificadas en la muestra, y AST (prueba de susceptibilidad antimicrobiana), es decir, una lista que incluye un perfil de susceptibilidad/resistencia para todas las especies enumeradas.

- 5 De acuerdo con ciertas realizaciones, el análisis estadístico en el presente método se lleva a cabo usando la prueba de Fisher con  $p < 10^{-6}$ , preferiblemente  $p < 10^{-9}$ . Además, de acuerdo con ciertas realizaciones, el método comprende además correlacionar diferentes sitios genéticos entre sí.

10 Nuevamente, en el tercer y cuarto aspecto, las diferentes etapas pueden llevarse a cabo en el presente documento como se describe con respecto al primer aspecto de la presente enseñanza, y el microorganismo puede ser una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, de acuerdo con ciertas realizaciones, y el antibiótico puede ser metilina y/u otro antibiótico como se describe a continuación de acuerdo con ciertas realizaciones. En este sentido, cabe señalar que la resistencia a la metilina puede indicar, en particular en especies de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactamas.

15 En un quinto aspecto, la presente enseñanza se refiere a uno o más productos de programas informáticos que comprenden instrucciones ejecutables por ordenador que, cuando se ejecutan, realizan un método de acuerdo con cualquiera de los aspectos primero a cuarto de la presente enseñanza.

20 En determinadas realizaciones, el producto de programa informático es uno en el que se almacenan comandos de programa o códigos de programa de un programa informático para ejecutar dicho método. De acuerdo con ciertas realizaciones, el producto de programa informático es un medio de almacenamiento. Como se señaló anteriormente, los productos de programas informáticos de la presente enseñanza pueden ser de autoaprendizaje, p. ej., con respecto al primer y segundo conjuntos de datos.

25 Con el fin de obtener la mejor información posible de los datos genéticos altamente complejos y desarrollar un modelo óptimo para usos diagnósticos y terapéuticos, así como los métodos de la presente enseñanza, que se pueden aplicar de manera estable en la rutina clínica, puede ser necesario un análisis completo *in silico*. El principio propuesto se basa en una combinación de diferentes enfoques, p. ej., ensamblaje del genoma de los microorganismos, al menos en parte y opcionalmente anotando los genomas a uno o más genomas de referencia y/o un pangenoma, o, en el segundo, tercer y/o cuarto aspecto, alineación de los datos de secuencia del aislado clínico que se determinará con uno o más genomas de referencia y/o un pangenoma, y la correlación de las variaciones genéticas encontradas en cada muestra, p. ej., de cada paciente, respectivamente, un aislado clínico desconocido, con todas las referencias y medicamentos, p. ej., antibióticos, o sólo uno o algunos de ellos, y buscar mutaciones que se produzcan en uno o varios medicamentos y en una o varias cepas.

35 Utilizando las etapas anteriores, se genera una lista de variaciones genéticas, así como de posiciones con respecto a uno o más genomas de referencia y/o un pangenoma. Estos se pueden almacenar en bases de datos y los modelos estadísticos se pueden derivar de las bases de datos. Los modelos estadísticos pueden basarse en al menos una o más variaciones genéticas en al menos una o más posiciones. Los modelos estadísticos que se pueden entrenar se pueden combinar a partir de variaciones y posiciones genéticas. Ejemplos de algoritmos que pueden producir dichos modelos son las reglas de asociación, las máquinas de vectores de soporte, los árboles de decisión, los bosques de decisión, el análisis discriminante, los métodos de conglomerados y muchos más.

40 El objetivo de la capacitación es permitir una aplicación estandarizada y reproducible durante los procedimientos de rutina.

Para ello, por ejemplo, se puede secuenciar un genoma o partes del genoma de un microorganismo de un paciente a diagnosticar. Posteriormente, las características centrales se pueden derivar de los datos de secuencia que se pueden usar para predecir la resistencia. Estos son los puntos de la base de datos utilizados para el modelo final, es decir, al menos una variación genética o al menos una posición, pero también combinaciones de variaciones genéticas, etc.

45 Las características correspondientes se pueden utilizar como entrada para el modelo estadístico y así permitir un pronóstico para nuevos pacientes. No solo la información sobre todas las resistencias de todos los microorganismos, p. ej., de *Staphylococcus aureus*, contra todos o solo algunos o un medicamento, p. ej., antibióticos, se pueden integrar en una herramienta informática de ayuda a la toma de decisiones, pero también en las directivas correspondientes (por ejemplo, EUCAST) para que solo se hagan propuestas de tratamiento que estén en línea con las directivas.

50 Un décimo aspecto de la presente enseñanza se relaciona con el uso del producto de programa informático de acuerdo con el quinto aspecto, por ejemplo, para adquirir un perfil de resistencia a un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, un antibiótico, para microorganismos en el cuarto aspecto de la enseñanza y/o para uso en la método de diagnóstico del segundo método de la enseñanza y/o para seleccionar un tratamiento en el tercer aspecto de la presente enseñanza y/o en el método del primer aspecto de la presente enseñanza.

55 Un sexto aspecto de la presente enseñanza divulga un método de diagnóstico para determinar una infección de un paciente con una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, potencialmente resistente al tratamiento con medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, que comprende las etapas de:

a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;

b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos dos posiciones del grupo de posiciones anotadas con los números 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en la Tabla 1, en el que la presencia de dicho al menos dos variaciones genéticas es indicativo de una infección con una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, resistente a un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, antibiótico en dicho paciente en el que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia.

Como se señaló anteriormente, en la Tabla 1, la posición de la variación genética (llamada "posición"; siendo R la dirección inversa y F la dirección directa) se dan para cada variación (con números consecutivos del 1 al 50) con referencia a uno o más genomas de referencia conocidos del NCBI (con el número NCBI en la columna "genoma de referencia" y el nombre del genoma en la columna "nombre del genoma").

Una infección de un paciente con *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, potencialmente resistente al tratamiento con medicamentos antimicrobianos en el presente documento significa una infección de un paciente con *Staphylococcus aureus* en la que no está claro si la cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, es susceptible al tratamiento con un medicamento antimicrobiano específico o si es resistente al medicamento antimicrobiano.

En la etapa b) anterior, además de las etapas correspondientes, se determina al menos una variación genética en al menos dos posiciones, de modo que en total se determinan al menos dos variaciones genéticas, en el que las dos variaciones genéticas están en posiciones diferentes. De nuevo, cabe señalar que en la Tabla 1 se puede anotar una determinada posición en más de un gen de referencia, por lo que también aquí solo se utilizan posiciones diferentes, y no la misma posición que se anota en diferentes genomas de referencia.

En este método, así como en los otros métodos de enseñanza, la muestra se puede proporcionar u obtener de cualquier forma, preferiblemente no invasiva, y se puede proporcionar, por ejemplo, como una muestra *in vitro* o prepararse como una muestra *in vitro*.

De acuerdo con ciertos aspectos, las variaciones genéticas en al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez posiciones se determinan en cualquiera de los métodos de la presente enseñanza, por ejemplo, en al menos dos posiciones o en al menos tres posiciones. En lugar de probar solo posiciones individuales, una combinación de varias posiciones variantes puede mejorar la precisión de la predicción y reducir aún más los resultados de falsos positivos que están influenciados por otros factores. Por lo tanto, se prefiere en particular determinar la presencia de una variación genética en 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 (o más) posiciones seleccionadas de la Tabla 1.

Para las posiciones anteriores, es decir, las posiciones indicadas en la Tabla 1, se pudo observar la mayor probabilidad de resistencia a al menos un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, un antibiótico, con valores de p inferiores a  $10^{-140}$ , particularmente menores de  $10^{-160}$ , indicando la alta significancia de los valores ( $n=987$ ;  $\alpha=10^{-9}$ ). Los detalles relacionados con la Tabla 1 se pueden tomar de la Tabla 2, respectivamente de las Tablas 2a y 2b, divulgadas en los Ejemplos. Tener al menos dos posiciones con variaciones genéticas determinadas, una alta probabilidad de un medicamento antimicrobiano, p. ej., antibiótico, se pudo determinar la resistencia. Los genes de la Tabla 1 representan por lo tanto los 50 mejores genes para los que se observó una variación genética en los genomas de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, con respecto a la resistencia/susceptibilidad a la metilina como se describe arriba y abajo.

De acuerdo con ciertas realizaciones, la obtención o suministro de una muestra que contiene o se sospecha que contiene al menos una especie de *Staphylococcus* del paciente en este método, así como los otros métodos de la enseñanza, puede comprender lo siguiente:

Una muestra de un vertebrado, p. ej., un ser humano, p. ej., se proporciona u obtiene y las secuencias de ácido nucleico, p. ej., las secuencias de ADN o ARN se registran mediante un método conocido para registrar ácidos nucleicos, que no está particularmente limitado. Por ejemplo, el ácido nucleico se puede registrar mediante un método de secuenciación, en el que cualquier método de secuenciación es apropiado, en particular los métodos de secuenciación en los que una multitud de componentes de la muestra, como p. ej., en una muestra de sangre, puede analizarse en busca de ácidos nucleicos y/o fragmentos de ácidos nucleicos y/o partes de los mismos contenidos en un corto período de tiempo, incluidos los ácidos nucleicos y/o fragmentos de ácidos nucleicos y/o partes de los mismos de *Staphylococcus*, en particular *Staphylococcus aureus*. Por ejemplo, la secuenciación se puede llevar a cabo usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), particularmente PCR multiplex, o secuenciación de alto rendimiento o secuenciación de próxima generación, preferiblemente usando secuenciación de alto rendimiento. Para la secuenciación, preferiblemente se utiliza una muestra *in vitro*.

Los datos obtenidos por la secuenciación pueden estar en cualquier formato, y luego pueden analizarse como se describe con respecto al primer hasta el cuarto aspecto de la presente enseñanza.

En un séptimo aspecto, la presente enseñanza se refiere a un método para seleccionar un tratamiento de un paciente que padece una infección con una cepa de *Staphylococcus* potencialmente resistente, particularmente *Staphylococcus aureus*, que comprende las etapas de:

- 5 a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;
- b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos dos posiciones del grupo de posiciones anotadas con los números 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en la Tabla 1, en el que la presencia de dicho al menos dos variaciones genéticas es indicativo de una resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos, en los que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia;
- 10 c) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos; y
- d) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos diferentes de los identificados en la etapa c) y que son adecuados para el tratamiento de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*.
- 15 En este método, las etapas a) de obtener o proporcionar una muestra y b) de determinar la presencia de al menos una variación genética son como en el método del sexto aspecto.

La identificación de al menos uno o más medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, en la etapa c) se basa entonces en los resultados obtenidos en la etapa b) y corresponde al medicamento o medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, que se correlaciona o correlacionan con las variaciones genéticas. Una vez que estos medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos, se descartan, el resto de medicamentos antimicrobianos, p. ej., medicamentos antibióticos/antibióticos, pueden seleccionarse en la etapa d) como adecuados para el tratamiento.

En la descripción, las referencias al sexto y séptimo aspecto también se aplican a los 11<sup>avo</sup>, 12<sup>avo</sup>, 13<sup>avo</sup> y 14<sup>avo</sup> aspectos, refiriéndose a las mismas posiciones, a menos que quede claro por el contexto que no se aplican.

25 De acuerdo con ciertas realizaciones del sexto o séptimo aspecto, el medicamento antimicrobiano, por ejemplo, un antibiótico, en el método del sexto o séptimo aspecto es al menos uno del grupo que consiste en  $\beta$ -lactamas, inhibidores de  $\beta$ -lactama, quinolinas y derivados de los mismos, por ejemplo, fluoroquinolonas, aminoglucósidos, glicopéptidos, lincosamidas, macrólidos, nitrofuranos, policétidos de oxazolidinonas, respectivamente tetraciclinas e inhibidores de la síntesis de folato, por ejemplo, antibióticos derivados de benceno/sulfonamida, particularmente del grupo que consiste en amoxicilina/clavulanato, ampicilina, ampicilina/sulfactam, azitromicina, cefalotina, cefazolina, cefepima, cefotaxima, cefoxitina, ceftriaxona, cefuroxima, cloranfenicol, ciprofloxacina, clindamicina, daptomicina, ertapenem, eritromicina, fosfomicina, ácido fusídico, gentamicina, imipenem, levofloxacina, linezolid, meropenem, metilicina, moxifloxacina, mupirocina, nitrofurantoina, norfloxacina, Ofloxacina, oxacilina, penicilina G, piperacilina/tazobactam, quinupristina/dalfopristina, rifampicina, teicoplanina, tetraciclina, tigeciclina, tobramicina, trimetoprim/sulfametoxazol y vancomicina, particularmente metilicina.

En los métodos de enseñanza, la resistencia de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, a uno o más medicamentos antimicrobianos, por ejemplo antibióticos, puede determinarse de acuerdo con ciertas realizaciones.

De acuerdo con ciertas realizaciones del sexto y/o séptimo aspecto de la enseñanza, determinar la información de secuencia de ácido nucleico o la presencia de una variación genética comprende determinar la presencia de un solo nucleótido en una sola posición. Por lo tanto, la enseñanza comprende métodos en los que se detecta la presencia de un polimorfismo o mutación de un solo nucleótido en una posición de un solo nucleótido.

De acuerdo con ciertas realizaciones del sexto y/o séptimo aspecto de la enseñanza, se determina la resistencia de una cepa de *Staphylococcus aureus* contra 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16, 17, 18, 19, 20 o más medicamentos antibióticos.

45 De acuerdo con ciertas realizaciones del sexto y/o séptimo aspecto de la enseñanza, una variación genética detectada es una variación genética que conduce a una secuencia de aminoácidos alterada, por ejemplo, en un polipéptido derivado de un gen respectivo, en el que se ubica la variación genética detectada. De acuerdo con este aspecto, la variación genética detectada puede dar lugar a una versión truncada del polipéptido (donde la mutación crea un nuevo codón de terminación) o una versión mutada del polipéptido que tiene un intercambio de aminoácidos en la posición respectiva.

De acuerdo con ciertas realizaciones del sexto y/o séptimo aspecto de la enseñanza, determinar la información de la secuencia de ácido nucleico con las posiciones que tienen una variación genética o la presencia de una variación genética comprende determinar una secuencia parcial o una secuencia completa que comprende la posición con la variación genética.

55 De acuerdo con ciertas realizaciones del sexto y/o séptimo aspecto de la enseñanza, determinar la información de secuencia de ácido nucleico con las posiciones que tienen una variación genética o la presencia de una variación genética comprende usar un método de secuenciación de próxima generación o secuenciación de alto rendimiento.

De acuerdo con realizaciones preferidas del sexto y/o séptimo aspecto de la enseñanza, una secuencia del genoma parcial o completo de una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, se determina usando un método de secuenciación de próxima generación o secuenciación de alto rendimiento.

5 De acuerdo con ciertas realizaciones del sexto y/o séptimo aspecto, determinar la información de la secuencia de ácido nucleico o la presencia de una variación genética comprende determinar una secuencia parcial o total del genoma de la especie *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, en el que dicha secuencia parcial o completa del genoma comprende al menos una de las posiciones con la variación genética.

10 Un undécimo aspecto de la presente enseñanza se dirige a un método para tratar a un paciente que sufre de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, resistente a un medicamento antimicrobiano, p. ej., un antibiótico, que comprende las etapas de:

- a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;
- b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos dos posiciones del grupo de posiciones anotadas con los números 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en la Tabla 1, en el que la presencia de dichas al menos dos variaciones genéticas es indicativo de una resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos, en los que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia;
- 15 c) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos;
- d) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos diferentes de los identificados en la etapa c) y que son adecuados para el tratamiento de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*; y
- 20 e) tratar al paciente con dicho uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos.

25 En el presente documento, las etapas a) a d) pueden llevarse a cabo como se describe con respecto al séptimo aspecto. La etapa e) puede llevarse a cabo de manera suficiente sin restricciones y puede realizarse, p. ej., de forma no invasiva.

Un duodécimo aspecto de la presente enseñanza divulga un método de diagnóstico para determinar una infección de un paciente con una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, potencialmente resistente al tratamiento con medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, que comprende las etapas de:

- 30 a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;
- b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos una posición del grupo de posiciones anotadas con los números 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en la Tabla 1, en el que la presencia de dicho al menos una variación genética es indicativa de una infección con una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, resistente a un medicamento antimicrobiano, p. ej., un antibiótico en dicho paciente, en el que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia.
- 35

40 En un decimotercer aspecto, la presente enseñanza se refiere a un método para seleccionar un tratamiento de un paciente que padece una infección con una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, potencialmente resistente que comprende las etapas de:

- a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;
- b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos una posición del grupo de posiciones anotadas con los números 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en la Tabla 1, en el que la presencia de dicho al menos una variación genética es indicativa de una resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos, en los que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia;
- 45 c) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos; y
- d) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos diferentes de los identificados en la etapa c) y que son adecuados para el tratamiento de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*.
- 50

De nuevo, en el aspecto duodécimo y decimotercero las etapas corresponden a los del sexto o séptimo aspecto, aunque sólo se determina una mutación en al menos un gen.

55 Un decimocuarto aspecto de la presente enseñanza se dirige a un método para tratar a un paciente que sufre de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, resistente a un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, un antibiótico que comprende las etapas de:

- a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus aureus* del paciente;

b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos una posición del grupo de posiciones anotadas con los números 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en la Tabla 1, en el que la presencia de dicho al menos una variación genética es indicativa de una resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos, en los que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia;

c) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos;

d) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos diferentes de los identificados en la etapa c) y que son adecuados para el tratamiento de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*; y

e) tratar al paciente con dicho uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos.

También en el decimocuarto aspecto de la enseñanza, las etapas a) a d) son análogas a las etapas en el método del undécimo aspecto de la presente enseñanza. La etapa e) puede volver a llevarse a cabo suficientemente sin restricciones y puede realizarse, p. ej., de forma no invasiva.

Un octavo aspecto de la presente enseñanza divulga un método de diagnóstico para determinar una infección de un paciente con una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, potencialmente resistente al tratamiento con medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, que comprende las etapas de:

a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;

b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos dos posiciones del grupo de posiciones anotadas con los Nos. 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en las Tablas 3a y/o 3b, en particular con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en la Tabla 3b, en los que la presencia de dichas al menos dos variaciones genéticas es indicativa de una infección con una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus* resistente a un medicamento antimicrobiano, p.ej., un antibiótico, en dicho paciente en el que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia.

Como se indicó anteriormente, en las Tablas 3a y 3b, la posición de la variación genética (denominada "posición"; siendo R la dirección inversa y F la dirección directa) se dan para cada variación (con números consecutivos del 1 al 50) con referencia a uno o más genomas de referencia conocidos del NCBI (con el número del NCBI en la columna "genoma de referencia" y el nombre del genoma en la columna "nombre del genoma").

Una infección de un paciente con una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, potencialmente resistente al tratamiento con medicamentos antimicrobianos en el presente documento significa una infección de un paciente con una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, en el que no está claro si la especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, es susceptible al tratamiento con un medicamento antimicrobiano específico o si es resistente al medicamento antimicrobiano.

En la etapa b) anterior, además de las etapas correspondientes, se determina al menos una variación genética en al menos dos posiciones, de modo que en total se determinan al menos dos variaciones genéticas, en el que las dos variaciones genéticas están en posiciones diferentes. De nuevo, cabe señalar que en las Tablas 3a y 3b se puede anotar una determinada posición en más de un gen de referencia, por lo que también en el presente documento solo se utilizan posiciones diferentes, y no la misma posición que se anota en diferentes genomas de referencia.

En este método, así como en los otros métodos de enseñanza, la muestra se puede proporcionar u obtener de cualquier forma, preferiblemente no invasiva, y se puede proporcionar, por ejemplo, como una muestra *in vitro* o preparado como una muestra *in vitro*.

De acuerdo con ciertos aspectos, las variaciones genéticas en al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez posiciones se determinan en cualquiera de los métodos de la presente enseñanza, por ejemplo, en al menos dos posiciones o en al menos tres posiciones. En lugar de probar solo posiciones individuales, una combinación de varias posiciones variantes puede mejorar la precisión de la predicción y reducir aún más los resultados de falsos positivos que están influenciados por otros factores. Por lo tanto, se prefiere en particular determinar la presencia de una variación genética en 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 (o más) posiciones seleccionadas de las Tablas 3a y/o 3b.

Para las posiciones anteriores, es decir, las posiciones indicadas en las Tablas 3a y/o 3b, podría observarse la mayor probabilidad de resistencia a al menos un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, un antibiótico, con valores de p inferiores a  $10^{-160}$ , particularmente inferiores a  $10^{-190}$ , indicando la alta significancia de los valores ( $n = 985$ ;  $\alpha = 10^{-9}$ ). Los detalles con respecto a las Tablas 3a y 3b se pueden tomar de la Tabla 4, particularmente las Tablas 4a-d con respecto a la Tabla 3a y las Tablas 4e-h con respecto a la Tabla 3b, divulgadas en los Ejemplos. Teniendo al menos dos posiciones con variaciones genéticas determinadas, se podría determinar una alta probabilidad de resistencia a un medicamento antimicrobiano, p. ej., un antibiótico. Los genes de la Tabla 3a representan por lo tanto los 50 mejores genes para los que se observó una mutación en los genomas de las especies de *Staphylococcus*, en particular *S. aureus*, en particular con respecto a la resistencia a los antibióticos que se describen a continuación, es decir, el grupo que consiste en amoxicilina/clavulanato, ampicilina, ampicilina/sulfactam, azitromicina, cefalotina, cefazolina,

5 cefepima, cefotaxima, ceftioxina, ceftriaxona, cefuroxima, cloranfenicol, ciprofloxacina, clindamicina, daptomicina, ertapenem, eritromicina, fosfomicina, ácido fusídico, gentamicina, imipenem, levofloxacina, linezolid, meropenem, moxifloxacina, mupirocina, nitrofurantoína, norfloxacina, ofloxacina, oxacilina, penicilina G, piperacilina/tazobactam, quinupristina/dalfopristina, rifampicina, teicoplanina, tetraciclina, tigeciclina, tobramicina, trimetoprim/sulfametoxazol y vancomicina, mientras que los genes de la Tabla 3b representan los 50 mejores genes para los que se podría observar para el medicamento antimicrobiano, p. ej., antibiótico, una prueba de susceptibilidad, particularmente con respecto a la resistencia a los antibióticos como se indica arriba con respecto a la Tabla 3a, para especies de *Staphylococcus*, particularmente *S. aureus*, como se describe a continuación.

10 De acuerdo con ciertas realizaciones, la obtención o suministro de una muestra que contiene o se sospecha que contiene al menos un *Staphylococcus* del paciente en este método, así como los otros métodos de la enseñanza, puede comprender lo siguiente:

15 Una muestra de un vertebrado, p. ej., un ser humano, p. ej., se proporciona u obtiene y las secuencias de ácido nucleico, p. ej., las secuencias de ADN o ARN se registran mediante un método conocido para registrar ácidos nucleicos, que no está particularmente limitado. Por ejemplo, el ácido nucleico se puede registrar mediante un método de secuenciación, en el que cualquier método de secuenciación es apropiado, en particular los métodos de secuenciación en los que una multitud de componentes de la muestra, como p. ej., en una muestra de sangre, pueden analizarse en busca de ácidos nucleicos y/o fragmentos de ácidos nucleicos y/o partes de los mismos contenidos en un corto período de tiempo, incluidos los ácidos nucleicos y/o fragmentos de ácidos nucleicos y/o partes de los mismos de la especie *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*. Por ejemplo, la secuenciación se puede llevar a cabo usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), particularmente PCR multiplex, o secuenciación de alto rendimiento o secuenciación de próxima generación, preferiblemente usando secuenciación de alto rendimiento. Para la secuenciación, preferiblemente se utiliza una muestra *in vitro*.

Los datos obtenidos por la secuenciación pueden estar en cualquier formato, y luego pueden analizarse como se describe con respecto del primer al cuarto aspecto de la presente enseñanza.

25 En un noveno aspecto, la presente enseñanza se refiere a un método para seleccionar un tratamiento de un paciente que padece una infección por una cepa de *Staphylococcus* potencialmente resistente, particularmente *Staphylococcus aureus*, que comprende las etapas de:

- a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;
- 30 b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos dos posiciones del grupo de posiciones anotadas con los Nos. 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en las Tablas 3a y/o 3b, en particular con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en la Tabla 3b, en los que la presencia de dichas al menos dos variaciones genéticas es indicativa de una resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos, en los que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia;
- 35 c) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos; y
- d) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos diferentes de los identificados en la etapa c) y que son adecuados para el tratamiento de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*.

40 En este método, las etapas a) de obtener o proporcionar una muestra y b) de determinar la presencia de al menos una variación genética son como en el método del octavo aspecto.

La identificación de al menos uno o más medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, en la etapa c) se basa entonces en los resultados obtenidos en la etapa b) y corresponde al medicamento o medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibiótico, que se correlaciona o correlacionan con las variaciones genéticas. Una vez que se descartan estos medicamentos antimicrobianos, p. ej., los antibióticos, los restantes medicamentos antimicrobianos, p.ej., medicamentos antibióticos/antibióticos, pueden seleccionarse en la etapa d) como adecuados para el tratamiento.

En la descripción, las referencias al octavo y noveno aspecto también se aplican a los 15<sup>avo</sup>, 16<sup>avo</sup>, 17<sup>avo</sup> y 18<sup>avo</sup> aspecto, refiriéndose a las mismas posiciones, a menos que quede claro por el contexto que no se aplican.

50 De acuerdo con ciertas realizaciones del octavo y/o noveno aspecto, el medicamento antimicrobiano, por ejemplo, un antibiótico, en el método del octavo o noveno aspecto, así como en los otros métodos de la enseñanza, es al menos uno del grupo que consiste en  $\beta$ -lactamas, inhibidores de  $\beta$ -lactama, quinolonas y derivados de los mismos, por ejemplo, fluoroquinolonas, aminoglucósidos, glicopéptidos, lincosamidas, macrólidos, nitrofuranos, policétidos de oxazolidinonas, respectivamente tetraciclinas e inhibidores de la síntesis de folato, por ejemplo, antibióticos derivados de benceno/sulfonamida, particularmente del grupo que consiste de amoxicilina/clavulanato, ampicilina, ampicilina/sulbactam, azitromicina, cefalotina, cefazolina, cefepima, cefotaxima, ceftioxina, ceftriaxona, cefuroxima, cloranfenicol, ciprofloxacina, clindamicina, daptomicina, ertapenem, eritromicina, fosfomicina, ácido fusídico, gentamicina, imipenem, levofloxacina, linezolid, meropenem, metilicina, moxifloxacina, mupirocina, nitrofurantoína, norfloxacina, ofloxacina, oxacilina, penicilina G, piperacilina/tazobactam, quinupristina/dalfopristina, rifampicina,

teicoplanina, tetraciclina, tigeciclina, tobramicina, trimetoprim/sulfametoxazol y vancomicina. En el octavo y/o noveno aspecto, así como en el decimoquinto al decimooctavo aspecto, el medicamento antimicrobiano, p. ej., el antibiótico es preferiblemente al menos uno del grupo que consiste en  $\beta$ -lactamas, inhibidores de  $\beta$ -lactama, quinolinas y derivados de los mismos, p. ej., fluoroquinolonas, aminoglucósidos, glicopéptidos, lincosamidas, macrólidos, nitrofuranos, policétidos de oxazolidinonas, respectivamente tetraciclinas e inhibidores de la síntesis de folato, p. ej., antibióticos derivados del benceno/sulfonamida, particularmente del grupo que consiste en amoxicilina/clavulanato, ampicilina, ampicilina/sulfactam, azitromicina, cefalotina, cefazolina, cefepima, cefotaxima, ceftioxitina, ceftriaxona, cefuroxima, cloranfenicol, ciprofloxacina, clindamicina, daptomicina, ertapenem, eritromicina, fosfomicina, ácido fusídico, gentamicina, imipenem, levofloxacina, linezolid, meropenem, moxifloxacina, mupirocina, nitrofurantoína, norfloxacina, ofloxacina, oxacilina, penicilina G, piperacilina/tazobactam, quinupristina/dalfopristina, rifampicina, teicoplanina, tetraciclina, tigeciclina, tobramicina, trimetoprim/sulfametoxazol y vancomicina.

En los métodos de enseñanza, la resistencia de una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, a uno o más medicamentos antimicrobianos, por ejemplo antibióticos, puede determinarse de acuerdo con ciertas realizaciones.

De acuerdo con ciertas realizaciones del octavo y/o noveno aspecto de la enseñanza, determinar la información de secuencia de ácido nucleico o la presencia de una variación genética comprende determinar la presencia de un solo nucleótido en una sola posición. Por lo tanto, la enseñanza comprende métodos en los que se detecta la presencia de un polimorfismo o mutación de un solo nucleótido en una posición de un solo nucleótido.

De acuerdo con ciertas realizaciones del octavo y/o noveno aspecto de la enseñanza, se determina la resistencia de una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, contra 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16, 17, 18, 19, 20 o más antibióticos.

De acuerdo con ciertas realizaciones del octavo y/o noveno aspecto de la enseñanza, una variación genética detectada es una variación genética que conduce a una secuencia de aminoácidos alterada, por ejemplo, en un polipéptido derivado de un gen respectivo, en el que se ubica la variación genética detectada. De acuerdo con este aspecto, la variación genética detectada puede dar lugar a una versión truncada del polipéptido (donde la mutación crea un nuevo codón de terminación) o una versión mutada del polipéptido que tiene un intercambio de aminoácidos en la posición respectiva.

De acuerdo con ciertas realizaciones del octavo y/o noveno aspecto de la enseñanza, determinar la información de la secuencia de ácido nucleico con las posiciones que tienen una variación genética o la presencia de una variación genética comprende determinar una secuencia parcial o una secuencia completa que comprende la posición con la variación genética.

De acuerdo con ciertas realizaciones del octavo y/o noveno aspecto de la enseñanza, determinar la información de secuencia de ácido nucleico con las posiciones que tienen una variación genética o la presencia de una variación genética comprende usar un método de secuenciación de próxima generación o secuenciación de alto rendimiento. De acuerdo con realizaciones preferidas del octavo y/o noveno aspecto de la enseñanza, una secuencia genómica parcial o completa de una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, se determina usando un método de secuenciación de próxima generación o secuenciación de alto rendimiento.

De acuerdo con ciertas realizaciones del octavo y/o noveno aspecto, determinar la información de la secuencia de ácido nucleico o la presencia de una variación genética comprende determinar una secuencia parcial o completa del genoma de la especie *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, en donde dicha secuencia parcial o completa del genoma comprende al menos una de las posiciones con la variación genética.

De acuerdo con ciertas realizaciones del octavo y/o noveno aspecto de la enseñanza, así como 15<sup>avo</sup>, 16<sup>avo</sup>, 17<sup>avo</sup> y/o 18<sup>avo</sup> aspecto, la posición es de la Tabla 3a, y la clase de antibiótico es al menos uno de los (columna: clase de fenotipos con significancia) proporcionados para la posición respectiva en la Tabla 4a y/o el antibiótico es al menos uno de los (columna: fenotipos con significancia) proporcionados para la posición respectiva en la Tabla 4a.

De acuerdo con ciertas realizaciones del octavo y/o noveno aspecto de la enseñanza, así como 15<sup>avo</sup>, 16<sup>avo</sup>, 17<sup>avo</sup> y/o 18<sup>avo</sup> aspecto, la posición es de la Tabla 3a, y la clase de antibiótico es de la clase de antibiótico (columna: best\_pheno\_class) proporcionado para la posición respectiva en la Tabla 4d y/o al menos un antibiótico es el antibiótico (columna: best\_pheno) proporcionado para la posición respectiva en la Tabla 4d.

De acuerdo con ciertas realizaciones del octavo y/o noveno aspecto de la enseñanza, así como 15<sup>avo</sup>, 16<sup>avo</sup>, 17<sup>avo</sup> y/o 18<sup>avo</sup> aspecto, la posición es de la Tabla 3b, y la clase de antibiótico es al menos una de los (columna: clase de fenotipos con significancia) proporcionados para la posición respectiva en la Tabla 4e y/o el antibiótico es al menos uno de los (columna: fenotipos con significancia) proporcionados para la posición respectiva en la Tabla 4e.

De acuerdo con ciertas realizaciones del octavo y/o noveno aspecto de la enseñanza, así como 15<sup>avo</sup>, 16<sup>avo</sup>, 17<sup>avo</sup> y/o 18<sup>avo</sup> aspecto, la posición es de la Tabla 3b, y al menos un antibiótico es de la clase de antibióticos (columna:

best\_pheno\_class) proporcionado para la posición respectiva en la Tabla 4h y/o al menos un antibiótico es el antibiótico (columna: best\_pheno) proporcionado para la posición respectiva en la Tabla 4h.

5 Un decimoquinto aspecto de la presente enseñanza se dirige a un método para tratar a un paciente que sufre de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, resistente a un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, antibiótico que comprende las etapas de:

- a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;
- 10 b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos dos posiciones del grupo de posiciones anotadas con los Nos. 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en las Tablas 3a y/o 3b, en particular con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en la Tabla 3b, en los que la presencia de dichas al menos dos variaciones genéticas es indicativa de una resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos, en los que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia;
- 15 c) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos;
- d) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos diferentes de los identificados en la etapa c) y que sean adecuados para el tratamiento de la infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*; y
- e) tratar al paciente con dicho uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos.

20 En el presente documento, las etapas a) a d) pueden llevarse a cabo como se describe con respecto al noveno aspecto. La etapa e) puede llevarse a cabo de manera suficiente sin restricciones y puede realizarse, p. ej., de forma no invasiva.

Un decimosexto aspecto de la presente enseñanza divulga un método de diagnóstico para determinar una infección de un paciente con una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, potencialmente resistente al tratamiento con medicamentos antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, que comprende las etapas de:

- 25 a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;
- b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos una posición del grupo de posiciones anotadas con los números 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en las Tablas 3a y/o 3b, en particular con respecto a los genomas de referencia con los nombres de
- 30 genoma proporcionados en la Tabla 3b, en los que la presencia de dicha al menos una variación genética es indicativa de una infección con una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, resistente a un medicamento antimicrobiano, por ejemplo, antibiótico en dicho paciente, en el que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia.

35 En un decimoséptimo aspecto, la presente enseñanza se refiere a un método para seleccionar un tratamiento de un paciente que padece una infección con una cepa de *Staphylococcus* potencialmente resistente, particularmente *Staphylococcus aureus*, que comprende las etapas de:

- a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;
- 40 b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos una posición del grupo de posiciones anotadas con los números 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en las Tablas 3a y/o 3b, en particular con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en la Tabla 3b, en los que la presencia de dicha al menos una variación genética es indicativa de una resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos, en los que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia;
- 45 c) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos; y
- d) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos diferentes de los identificados en la etapa c) y que son adecuados para el tratamiento de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*.

50 De nuevo, en el aspecto decimosexto y decimoséptimo las etapas corresponden a los del octavo o noveno aspecto, aunque sólo se determina una mutación en al menos un gen.

Un decimoctavo aspecto de la presente enseñanza se dirige a un método para tratar a un paciente que sufre de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, resistente a un medicamento antimicrobiano p. ej., antibiótico que comprende las etapas de:

- 55 a) obtener o proporcionar una muestra que contenga o se sospeche que contenga al menos una cepa de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, del paciente;
- b) determinar la presencia de al menos una variación genética en al menos una posición del grupo de posiciones anotadas con los números 1 - 50 con respecto a los genomas de referencia con los nombres de genoma proporcionados en las Tablas 3a y/o 3b, en particular con respecto a los genomas de referencia con los nombres de

genoma proporcionados en la Tabla 3b, en los que la presencia de dicha al menos una variación genética es indicativa de una resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos, en los que para algunas posiciones se anota más de una posición en diferentes genomas de referencia;

c) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos;

5 d) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos diferentes de los identificados en la etapa c) y que son adecuados para el tratamiento de una infección por *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*; y

e) tratar al paciente con dicho uno o más medicamentos antimicrobianos, p. ej., antibióticos.

10 También en el decimoctavo aspecto de la enseñanza, las etapas a) a d) son análogas a las etapas del método del decimoquinto aspecto de la presente invención. La etapa e) puede volver a llevarse a cabo suficientemente sin restricciones y puede realizarse, p. ej., de forma no invasiva.

#### Ejemplos

La presente enseñanza se describirá ahora en detalle con referencia a varios ejemplos de la misma. Sin embargo, estos ejemplos son ilustrativos y no limitan el alcance de la enseñanza.

15 Ejemplo 1: Determinación del perfil de resistencia genética para el fenotipo de MRSA/MSSA

Se llevó a cabo la secuenciación del genoma completo además de las pruebas clásicas de susceptibilidad antimicrobiana de los mismos aislamientos para una cohorte de 1001 especímenes de *S. aureus*, de los cuales 995 tenían un ensamblaje y 987 tenían un ensamblaje y un fenotipo de MRSA/MSSA. Estas 987 muestras se utilizaron para análisis posteriores. La secuenciación del genoma completo permitió realizar estudios de correlación de todo el genoma para encontrar variantes genéticas (por ejemplo, mutaciones puntuales, pequeñas inserciones y eliminaciones, variantes estructurales más grandes, aumento del número de copias de plásmidos, efectos de dosis de genes) en el genoma y los plásmidos que están significativamente correlacionados con la resistencia contra uno o varios medicamentos. El enfoque también permitió comparar los sitios relevantes en el genoma entre sí.

20 En el enfoque se cubrieron las diferentes fuentes de resistencia genética, así como las diferentes formas en que las bacterias pueden volverse resistentes. Al medir los aislamientos clínicos recolectados en un área geográfica amplia y a lo largo de un amplio período de tiempo de tres décadas, se trató de generar una imagen completa que iba mucho más allá de la etapa bastante artificial de los mecanismos de resistencia generados en el laboratorio.

El procedimiento detallado se presenta a continuación:

#### Cepas bacterianas

30 Los inventores seleccionaron 1001 especímenes de *S. aureus* de la colección de cepas de microbiología de Siemens Healthcare Diagnostics (West Sacramento, CA) para pruebas de susceptibilidad y secuenciación del genoma completo, de las cuales 987 se analizaron más, como se indicó anteriormente. Para incluir datos sobre las diferentes formas en que se adquieren los mecanismos de resistencia, se analizaron aislados de *Staphylococcus aureus* recolectados durante más de tres décadas, de modo que también se podría descubrir la transferencia horizontal de genes.

35 La determinación de la resistencia/susceptibilidad a la meticilina de las cepas de MRSA y MSSA se realizó mediante cultivo de acuerdo con procedimientos estándar, determinando el fenotipo de las cepas y confirmadas mediante pruebas adicionales utilizando, por ejemplo, la información genética.

#### Extracción de ADN

40 La extracción y purificación de ADN se llevó a cabo usando el procedimiento con el kit de ADN de HMW MagAttract (Qiagen) con los siguientes cambios. Después de centrifugar hasta  $2 \times 10^9$  bacterias (cultivo de 1ml) en un tubo de 2 ml (10 min,  $5000 \times g$ ) y descargar el sobrenadante, se volvió a centrifugar 1 min y se tomó la muestra. El sedimento resultante se dispersó en 160  $\mu$ l de P1, se añadieron y mezclaron 20  $\mu$ l de lisozima (100 mg/ml) y 4  $\mu$ l de lisostafina, y la suspensión se incubó a 37 °C a 900 rpm durante 30 min en un mezclador térmico. Posteriormente se añadieron 300  $\mu$ l de tampón de lisis y proteinasa K (30  $\mu$ l) (ambos del kit de sangre para Maxwell de Promega) y se incubó todo de nuevo durante 30 min a 56 °C y 900 rpm. A continuación, las muestras en su conjunto (~ 510  $\mu$ l) se transfirieron a los cartuchos Maxwell para su posterior procesamiento, utilizando el kit de ARN total Tissue LEV AS1220 o el kit personalizado XAS1220 (Promega).

#### Secuenciación de próxima generación

50 Antes de la preparación de la biblioteca, se realizó un control de calidad del ADN bacteriano aislado con un fluorómetro Qubit 2.0 (Kit de ensayo Qubit dsDNA BR, Life Technologies) y una TapeStation Agilent 2200 (Genomic DNA ScreenTape, Agilent Technologies). Las bibliotecas de NGS se prepararon en formato de 96 pocillos con el kit de preparación de muestras de ADN NexteraXT y el kit de índice NexteraXT para 96 índices (Illumina) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las bibliotecas de secuenciación resultantes se cuantificaron en un enfoque basado en qPCR

utilizando el kit KAPA SYBR FAST qPCR MasterMix (Peqlab) en un sistema de PCR en tiempo real ViiA 7 (Life Technologies). Se agruparon 96 muestras por carril para la secuenciación de extremos pareados (2x 100 pb) en secuenciadores Illumina HiSeq2000 o HiSeq2500 utilizando la química de secuenciación TruSeq PE Cluster v3 y TruSeq SBS v3 (Illumina). Los parámetros básicos de calidad de secuenciación se determinaron utilizando la herramienta de control de calidad FastQC para datos de secuencia de alto rendimiento (Babraham Bioinformatics Institute).

Análisis de los datos

Trimmomatic (versión 0.32, Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014; 30(15):2114-2120. doi:10.1093/bioinformatics/btu170) se usó para el adaptador y el recorte de calidad de las lecturas sin procesar con los siguientes parámetros ILLUMINACLIP:NexteraPE-PE.fa:1:50:30 LEADING:3 TRAILING:3 SLIDINGWINDOW:4:15 MINLEN:36. Nuevamente se construyeron los ensamblajes utilizando SPAdes (versión 3.0.0, Bankevich A, Nurk S, Antipov D, et al. SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing. *Journal of Computational Biology*. 2012; 19(5): 455-477. doi:10.1089/cmb.2012.0021) con los parámetros -t 20-m 256 -k 21,33,55,77 --careful -1 fp.fastq.gz -2 rp.fastq.gz. Para determinar la calidad de los ensamblajes, se ejecutó QUAST (versión 2.3) con un umbral de longitud mínimo de 500 pb. Se resaltaron los valores métricos resultantes que no coincidían con los criterios de calidad del ensamblaje de RefSeq (N50 > 5000, L50 < 20, # cóntigos < 1000).

Llamando al SNP:

La llamada al SNP sin referencia se realizó utilizando la herramienta kSNP3 que aplica el análisis k-mer, es decir, la herramienta considera todos los k-mers posibles encontrados en los datos dados. La base central de un k-mer es el SNP (ejemplo k=21 "AAAGTTTCGCAGTTGGTAATA", SNP=A), las bases en su sitio izquierdo y derecho son el contexto de SNP.

- URL de la herramienta: <http://sourceforge.net/projects/ksnp/files/>

Se utilizó la siguiente entrada:

- 49 genomas terminados de *S. aureus* del NCBI, incluido el cromosoma y los plásmidos disponibles
- 995 *S. aureus* de nuevos ensamblajes (véase más arriba)
- En total: 995+49 = 1044 muestras

Los genomas terminados se usaron para elegir el parámetro k, el valor elegido fue 21, de acuerdo con lo determinado por la herramienta.

Resultados de llamadas del SNP:

El resultado contenía 487,415 SNP anotados utilizando genomas terminados dados, lo que resultó en 9,419,797 anotaciones en total.

Los SNP pueden tener los siguientes valores: bases A/T/C/G o "-" (ausente), esto último significa que falta la parte genómica considerada (por ejemplo, ausencia de gen). Con los resultados, se obtuvieron las anotaciones utilizadas en la Tabla 2 junto con otras anotaciones (véase la Tabla 2 y las anotaciones para más detalles).

Extracción de las anotaciones del SNP:

Para reducir el número de anotaciones similares, se filtraron y agregaron de la siguiente manera:

- Solo se mantuvieron las anotaciones para las que el SNP considerado se encuentra en una proteína.
- Solo se mantuvieron las anotaciones cuya entrada de "producto" y entrada de "nota" no contienen "proteína hipotética".
- Las anotaciones se ordenaron por la ID del SNP ("Número del Lugar") y producto génico ("producto")
- Para cada par único de ID del SNP y producto génico, solo se mantuvo la primera línea.

Prueba de asociación:

Además, no se consideraron los siguientes SNP:

- No se consideraron los SNP sin ninguna anotación o los SNP cuyas anotaciones contenían un indicador "sinónimo" → solo se consideraron los SNP con al menos una anotación no sinónima
- SNP constantes, es decir, el mismo valor para todas las muestras tampoco se consideraron
- SNP casi constantes: SNP cuyos valores más frecuentes tuvieron una frecuencia  $\geq 95\%$ , es decir mínimo 95% de todas las muestras tienen el mismo valor de SNP, no se consideraron tampoco
- También se eliminaron los SNP con valor faltante ("-") para más del 10 % de las muestras.

## ES 2 949 439 T3

En total, se guardaron 14,856 SNP para las pruebas de asociación. Se aplicó la prueba bilateral exacta de Fisher con el ajuste posterior del valor de p usando FDR y el umbral del valor de p de  $10^{-9}$ . En total, 7,925 SNP tienen un valor de p ajustado significativo, 7101 de ellos tienen al menos una anotación.

Anotación:

- 5 La anotación de los SNP encontrados se llevó a cabo utilizando 49 genomas de referencia disponibles en el NCBI, con los nombres de los genomas y la ID de la secuencia de referencia en el NCBI (para cromosomas; plásmidos respectivamente) que se presentan en la siguiente Tabla 5.

Nombre del genoma	ID de RefSeq del Cromosoma; plásmidos
04_02981	NC_017340.fna;
08BA02176	NC_018608.fna;
11819_97	NC_017351.fna; NC_017350.fna
55 2053	NC_022113.fna; NC_022126.fna
6850	NC_022222.fna;
71193	NC_017673.fna;
Bmb9393	NC_021670.fna; NC_021657.fna
CC45	NC_021554.fna; NC_021552.fna
CN1	NC_022226.fna; NC_022227.fna, NC_022228.fna
COL	NC_002951.fna; NC_006629.fna
ECT_R_2	NC_017343.fna; NC_017346.fna, NC_017344.fna
ED133	NC_017337.fna;
ED98	NC_013450.fna; NC_013451.fna, NC_013452.fna, NC_013453.fna
HO_5096_0412	NC_017763.fna;
JH1	NC_009632.fna; NC_009619.fna
JH9	NC_009487.fna; NC_009477.fna
JKD6008	NC_017341.fna;
JKD6159	NC_017338.fna; NC_017339.fna
LGA251	NC_017349.fna; NC_017348.fna
M013	NC_016928.fna;
M1	NC_021059.fna; NC_021060.fna
SARM252	NC_002952.fna;
MSHR1132	NC_016941.fna; NC_016942.fna
MSSA476	NC_002953.fna; NC_005951.fna
Mu3	NC_009782.fna;
Mu50	NC_002758.fna; NC_002774.fna
MW2	NC_003923.fna;
N315	NC_002745.fna; NC_003140.fna
NCTC 8325	NC_007795.fna;
Newman	NC_009641.fna;
RF122	NC_007622.fna;
SA40	NC_022443.fna;
SA957	NC_022442.fna;
ST228_10388	NC_020529.fna; NC_020530.fna

## ES 2 949 439 T3

Nombre del genoma	ID de RefSeq del Cromosoma; plásmidos
ST228 10497	NC_020564.fna; NC_020531.fna
ST228 15532	NC_020532.fna; NC_020565.fna
ST228_16035	NC_020533.fna; NC_020534.fna
ST228 18412	NC_020537.fna; NC_020538.fna
ST398	NC_017333.fna; NC_017335.fna, NC_017334.fna, NC_017336.fna
T0131	NC_017347.fna;
TCH60	NC_017342.fna; NC_017345.fna
TW20	NC_017331.fna; NC_017332.fna, NC_017352.fna
uid193758	NC_020566.fna; NC_020535.fna
uid193759	NC_020536.fna; NC_020567.fna
uid193761	NC_020568.fna; NC_020539.fna
US300 FPR3757	NC_007793.fna; NC_007792.fna, NC_007791.fna, NC_007790.fna
USA300 TCH1516	NC_010079.fna; NC_010063.fna, NC_012417.fna
VC40	NC_016912.fna;
Z172	NC_022604.fna; NC_022610.fna, NC_022605.fna

A partir de los datos, se eligieron los 50 genes con el mejor valor de p para la lista de variantes genéticas con respecto a la resistencia a la meticilina.

5 En la Tabla 2, las Tablas 2a y 2b respectivamente, se proporciona una lista completa de todas las posiciones, valores de p, genes afectados, etc., que corresponde a la Tabla 1 y representa los genes que tienen los valores de p más bajos después de correlacionar las variaciones genéticas con resistencia al antibiótico.

10 En la Tabla 2, Tablas 2a y 2b respectivamente, las posiciones se numeran de acuerdo con los mejores resultados del valor de p, que van de 1 a 50. Además, las posiciones también se anotan con respecto a uno o más genomas de referencia de los 49 genomas de *S. aureus* terminados del NCBI, en los que los genomas de referencia encontrados son los siguientes anotados en el NCBI:

15 NC\_017340, NC\_010079, NC\_022222, NC\_021670, NC\_017351,  
 NC\_002953, NC\_017337, NC\_018608, NC\_007795, NC\_021059,  
 NC\_021554, NC\_016912, NC\_022226, NC\_022113  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_017340](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_017340)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_010079](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_010079)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_022222](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_022222)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_021670](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_021670)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_017351](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_017351)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_002953](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_002953)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_017337](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_017337)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_018608](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_018608)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_007795](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_007795)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_021059](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_021059)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_021554](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_021554)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_016912](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_016912)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_022226](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_022226)  
[http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?refseq+NC\\_022113](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?refseq+NC_022113)

20 En la Tabla 2, Tablas 2a y 2b respectivamente, es posible más de una anotación por SNP para varias posiciones con respecto a los genomas de referencia por la siguiente razón: los SNP se anotaron utilizando todos los genomas terminados dados, por lo que un SNP puede tener múltiples anotaciones incluso después de la agregación de anotaciones, que se mencionó anteriormente. Las razones por las que un SNP puede tener más de una anotación después de la agregación pueden ser las siguientes:

35 ◦ Los productos génicos tienen información muy similar pero no igual, por ejemplo, "cadena de ATPasa A transportadora de potasio" y "subunidad A de ATPasa transportadora de potasio". En este caso, puede que no sea posible aplicar un enfoque directo para eliminar dichos duplicados.

## ES 2 949 439 T3

◦ Las anotaciones pueden diferir en los genes/productos génicos, entonces puede que no sea posible no decir cuál de las anotaciones es la correcta.

Tabla 2a: Listado de posiciones (correspondientes a la Tabla 1)

No.	valor de p (FDR)	Nombre del genoma	Encabezado de fasta	Posición del SNP en el Genoma	gen
1	2,8455E-163	04_02981 US300_TCH1516	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 161508266 ref NC_010079.1	534953 M 543821 M	
2	2,8455E-163	6850 04_02981 US300_TCH1516	gi 537441500 ref NC_022222.1  gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 161508266 ref NC_010079.1	210528 R 267448 R 269814 R	
3	3,348E-163	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1362060 F	
4	3,348E-163	Bmb9393 11819_97 04_02981	gi 521210823 ref NC_021670.1  gi 385780298 ref NC_017351.1  gi 387149188 ref NC_017340.1	1252703 R 1520285 F 1523326 M	
5	3,5068E-163	04_02981 US300_TCH1516	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 161508266 ref NC_010079.1	1619285 R 1661238 R	
6	4,5499E-163	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1641150 R	
7	4,5499E-163	MSSA476 ED133	gi 49484912 ref NC_002953.3  gi 384546269 ref NC_017337.1	170059 F 142263 M	
8	4,5499E-163	04_02981 08BA02176	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 404477334 ref NC_018608.1	517571 M 554542 M	
9	6,182E-163	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	978538 M	
10	6,182E-163	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1434811 R	
11	6,182E-163	6850 US300_TCH1516	gi 537441500 ref NC_022222.1  gi 161508266 ref NC_010079.1	953696 R 1010027 R	rluA1
12	6,182E-163	04_02981 NCTC_8325	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 88193823 ref NC_007795.1	208285 R 161011 R	argC argC
13	6,182E-163	11819_97 04_02981 08BA02176	gi 385780298 ref NC_017351.1  gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 404477334 ref NC_018608.1	2179136 R 2149064 R 2107689 R	
14	6,182E-163	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2358535 F	
15	6,182E-163	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2023012 R	
16	6,182E-163	NCTC_8325 04_02981	gi 88193823 ref NC_007795.1  gi 387149188 ref NC_017340.1	2777211 F 2779170 F	
17	6,182E-163	08BA02176 04_02981	gi 404477334 ref NC_018608.1  gi 387149188 ref NC_017340.1	1801995 R 1790672 R	
18	7,2093E-163	04_02981 NCTC_8325	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 88193823 ref NC_007795.1	976788 F 878040 F	
19	7,2093E-163	Bmb9393 04_02981	gi 521210823 ref NC_021670.1  gi 387149188 ref NC_017340.1	2101899 R 1972149 R	
20	1,1926E-162	6850 US300_TCH1516 04_02981	gi 537441500 ref NC_022222.1  gi 161508266 ref NC_010079.1  gi 387149188 ref NC_017340.1	1875550 F 2006001 F 1959494 F	bcp
21	1,2012E-162	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	705667 R	
22	1,2012E-162	US300_TCH1516 04_02981	gi 161508266 ref NC_010079.1  gi 387149188 ref NC_017340.1	2268723 F 2221448 F	
23	1,2797E-162	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1814108 R	
24	2,0719E-162	04_02981 11819_97	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 385780298 ref NC_017351.1	531649 R 531398 R	

ES 2 949 439 T3

No.	valor de p (FDR)	Nombre del genoma	Encabezado de fasta	Posición del SNP en el Genoma	gen
25	2,0719E-162	04_02981 NCTC_8325	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 88193823 ref NC_007795.1	1754561 M 1691742 M	
26	2,0719E-162	04_02981 US300_TCH1516	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 161508266 ref NC_010079.1	1958403 R 2004910 R	
27	2,2505E-162	6850 US300_TCH1516 04_02981	gi 537441500 ref NC_022222.1  gi 161508266 ref NC_010079.1  gi 387149188 ref NC_017340.1	1242653 R 1294527 R 1299554 R	ribC
28	2,5515E-162	04_02981 USA300 TCH1516	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 161508266 ref NC_010079.1	2590222 R 2637689 R	gntP
29	8,302E-162	US300_TCH1516 M1 6850 08BA02176 CC45 Bmb9393	gi 161508266 ref NC_010079.1  gi 479328021 ref NC_021059.1  gi 537441500 ref NC_022222.1  gi 404477334 ref NC_018608.1  gi 514064966 ref NC_021554.1  gi 521210823 ref NC_021670.1	1881161 R 1871101 R 1759861 R 1855493 R 1858794 R 1964828 R	fmtB1
30	1,7865E-161	NCTC_8325 04_02981	gi 88193823 ref NC_007795.1  gi 387149188 ref NC_017340.1	1050123 R 1147277 R	
31	9,7283E-147	VC40 6850 US300_TCH1516	gi 379013365 ref NC_016912.1  gi 537441500 ref NC_022222.1  gi 161508266 ref NC_010079.1	2005634 F 2039052 F 2187801 F	rsbU
32	2,0972E-146	6850 04_02981 NCTC_8325	gi 537441500 ref NC_022222.1  gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 88193823 ref NC_007795.1	350202 F 402479 F 352104 M	
33	6,9539E-146	M1 08BA02176 04_02981 NCTC_8325	gi 479328021 ref NC_021059.1  gi 404477334 ref NC_018608.1  gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 88193823 ref NC_007795.1	920768 F 956878 F 956978 F 858255 F	rocD rocD rocD rocD
34	8,7237E-146	04_02981 NCTC_8325	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 88193823 ref NC_007795.1	1121847 R 1024692 R	
35	1,2342E-145	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	429303 M	
36	2,7651E-145	US300_TCH1516 04_02981 NCTC_8325	gi 161508266 ref NC_010079.1  gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 88193823 ref NC_007795.1	1812380 R 1775835 R 1714993 R	dnaE2
37	2,9677E-145	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1928346 M	
38	1,6935E-144	CN1	gi 537459744 ref NC_022226.1	1388095 R	
39	1,7849E-144	04_02981 NCTC_8325	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 88193823 ref NC_007795.1	559072 R 504007 R	
40	1,8015E-144	US300_TCH1516 04_02981	gi 161508266 ref NC_010079.1  gi 387149188 ref NC_017340.1	2719339 R 2668764 R	
41	4,3308E-144	04_02981 US300_TCH1516	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 161508266 ref NC_010079.1	1124668 M 1121585 F	
42	5,541E-144	CN1 M1 6850 US300_TCH1516 04_02981	gi 537459744 ref NC_022226.1  gi 479328021 ref NC_021059.1  gi 537441500 ref NC_022222.1  gi 161508266 ref NC_010079.1  gi 387149188 ref NC_017340.1	158073 M 193628 F 138357 M 196480 F 189192 M	
43	6,1938E-144	04_02981 55_2053 US300_TCH1516	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 532358222 ref NC_022113.1  gi 161508266 ref NC_010079.1	1187805 M 1078815 F 1182930 M	

ES 2 949 439 T3

No.	valor de p (FDR)	Nombre del genoma	Encabezado de fasta	Posición del SNP en el Genoma	gen
44	1,7019E-143	US300_TCH1516 6850 CN1 04_02981 Bmb9393	gi 161508266 ref NC_010079.1  gi 537441500 ref NC_022222.1  gi 537459744 ref NC_022226.1  gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 521210823 ref NC_021670.1	1376396 R 1323236 R 1315892 R 1379143 R 1399306 M	sbcC
45	2,694E-143	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2398505 R	
46	3,3496E-143	04_02981 US300_TCH1516	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 161508266 ref NC_010079.1	2753541 M 2803165 M	
47	3,5029E-143	04_02981 08BA02176 NCTC_8325 US300_TCH1516 M1	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 404477334 ref NC_018608.1  gi 88193823 ref NC_007795.1  gi 161508266 ref NC_010079.1  gi 479328021 ref NC_021059.1	1415365 R 1428821 R 1318646 R 1412563 R 1381147 R	femB
48	3,5029E-143	04_02981 USA300 TCH1516	gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 161508266 ref NC_010079.1	1678734 R 1720315 R	
49	8,2809E-143	NCTC_8325 04_02981 USA300 TCH1516	gi 88193823 ref NC_007795.1  gi 387149188 ref NC_017340.1  gi 161508266 ref NC_010079.1	854815 R 953539 R 948900 R	prsA1
50	8,2809E-143	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1675156 R	

Tabla 2b: listado de posiciones (correspondientes a la Tabla 1, continuación)

No.	Aminoácidos	Codones	GI del Genoma	GI de la proteína
1	F_L F_L	TTA_TTT TTA_TTT	387149188 161508266	446874184 161508745
2	A_V A_V A_V	GCA_GTA GCA_GTA GCA_GTA	537441500 387149188 161508266	537465126 447077358 161508491
3	I_N	AAT_ATT	387149188	447178207
4	L_S L_S L_S	TCA_TTA TCA_TTA TCA_TTA	521210823 385780298 387149188	521258120 446060496 446060495
5	N_S N_S	AAT_AGT AAT_AGT	387149188 161508266	446940596 161509778
6	E_K	AAA_GAA	387149188	446032753
7	G_R G_R	AGA_GGA AGA_GGA	49484912 384546269	487756815 446093782
8	K_R K_R	AAA_AGA AAA_AGA	387149188 404477334	446973880 446973883
9	I_M	ATC_ATG	387149188	446312722
10	A_S	GCA_TCA	387149188	446180863
11	L_P L_P	CCT_CTT CCT_CTT	537441500 161508266	537465549 161509205
12	K_T K_T	AAA_ACA AAA_ACA	387149188 88193823	446556386 88193961
13	M_V M_V M_V	ATG_GTG ATG_GTG ATG_GTG	385780298 387149188 404477334	446324804 446324797 446324791
14	K_N	AAA_AAC	387149188	445930822
15	E_V	GAA_GTA	387149188	446943955

ES 2 949 439 T3

No.	Aminoácidos	Codones	GI del Genoma	GI de la proteína
16	F_L F_L	TTG_TTT TTG_TTT	88193823 387149188	88196623 446800117
17	Q_R Q_R	CAG_CGG CAG_CGG	404477334 387149188	446795417 446795407
18	F_L F_L	TTA_TTT TTA_TTT	387149188 88193823	447047252 88194665
19	M_V M_V	ATG_GTG ATG_GTG	521210823 387149188	752533903 446753128
20	D_Y D_Y D_Y	GAT_TAT GAT_TAT GAT_TAT	537441500 161508266 387149188	537465893 161510081 446862272
21	E_K	AAG_GAG	387149188	446725640
22	L_S L_S	TCA_TTA TCA_TTA	161508266 387149188	161510359 446293068
23	A_V	GCG_GTG	387149188	446784840
24	N_T N_T	AAT_ACT AAT_ACT	387149188 385780298	446076361 446076373
25	L_V L_V	GTA_TTA GTA_TTA	387149188 88193823	446028277 88195494
26	A_T A_T	ACA_GCA ACA_GCA	387149188 161508266	446792191 161510080
27	I_T I_T I_T	ACC_ATC ACC_ATC ACC_ATC	537441500 161508266 387149188	537465687 161509438 446786934
28	K_T K_T	AAA_ACA AAA_ACA	387149188 161508266	446403560 161510698
29	K_T K_T K_T K_T K_T K_T	AAG_ACG AAG_ACG AAG_ACG AAG_ACG AAG_ACG AAG_ACG	161508266 479328021 537441500 404477334 514064966 521210823	161509974 505394769 537465850 446973259 514074897 521258173
30	F_L F_L	TTA_TTT TTA_TTT	88193823 387149188	88194836 446593607
31	I_V I_V I_V	ATA_GTA ATA_GTA ATA_GTA	379013365 537441500 161508266	487720346 537465949 161510279
32	K_T K_T K_T	AAA_ACA AAA_ACA AAA_ACA	537441500 387149188 88193823	537465192 446129782 88194138
33	E_K E_K E_K E_K	AAA_GAA AAA_GAA AAA_GAA AAA_GAA	479328021 404477334 387149188 88193823	505394709 446089469 446089454 88194651
34	I_T I_T	ACA_ATA ACA_ATA	387149188 88193823	446104798 88194808
35	G_V	GGA_GTA	387149188	446343556
36	D_E D_E D_E	GAA_GAT GAA_GAT GAA_GAT	161508266 387149188 88193823	161509916 446149063 88195511
37	A_G	GCA_GGA	387149188	446506832

ES 2 949 439 T3

No.	Aminoácidos	Codones	GI del Genoma	GI de la proteína
38	C_Y	TAT_TGT	537459744	686312170
39	A_V A_V	GCC_GTC GCC_GTC	387149188 88193823	446804811 88194284
40	P_T P_T	ACA_CCA ACA_CCA	161508266 387149188	161510779 446083969
41	I_L I_L	ATA_TTA ATA_TTA	387149188 161508266	446710589 161509291
42	I_V I_V I_V I_V I_V	ATT_GTT ATT_GTT ATT_GTT ATT_GTT ATT_GTT	537459744 479328021 537441500 161508266 387149188	537467717 505394663 537465062 161508437 446513509
43	I_T I_T I_T	ACA_ATA ACA_ATA ACA_ATA	387149188 532358222 161508266	446462960 532479591 161509351
44	I_T I_T I_T	ACT_ATT ACT_ATT ACT_ATT	161508266 537441500 537459744	161509514 537465718 537467986
	I_T I_T	ACT_ATT ACT_ATT	387149188 521210823	446725826 521258127
45	G_S	AGT_GGT	387149188	446921498
46	S_Y S_Y	TAT_TCT TAT_TCT	387149188 161508266	446080575 161510854
47	L_S L_S L_S L_S L_S	TCA_TTA TCA_TTA TCA_TTA TCA_TTA TCA_TTA	387149188 404477334 88193823 161508266 479328021	446595763 446595752 88195101 161509542 505394733
48	I_L I_L	ATT_CTT ATT_CTT	387149188 161508266	446059917 161509840
49	A_V A_V A_V	GCA_GTA GCA_GTA GCA_GTA	88193823 387149188 161508266	88194648 445957208 161509155
50	D_N	AAT_GAT	387149188	446305320

En la Tabla 2, Tablas 2a y 2b respectivamente, las anotaciones obtenidas por el análisis contienen la siguiente información:

- 5 • No.: número consecutivo
- Valor de p (FDR): valor de la significancia calculado para MRSA-MSSA utilizando la prueba exacta de Fisher y ajustada por FDR (método de Benjamini Hochberg (Benjamini Hochberg, 1995))
- Nombre del genoma: Nombre del genoma de referencia utilizado para la anotación
- Encabezado de fasta: Encabezado del archivo fasta del genoma de referencia (incluidos GI y la ID de RefSeq del NCBI)
- 10 • Posición del SNP en el genoma: Posición del SNP en el genoma de referencia (F = directo; R = inverso)
- Aminoácidos: Aminoácidos codificados por el codón en el que se produce el SNP (solo un valor para los SNP sinónimos, de lo contrario al menos 2), separados por "\_"
- Codones: Todos los codones encontrados para el SNP, separados por "\_"
- 15 • GI del genoma: Número GI de la secuencia del genoma
- GI de la proteína: Número GI de la secuencia de la proteína
- gen: símbolo del gen (si corresponde)
- producto: producto génico
- id de la proteína: Acceso a GenBank de la proteína

Además, en la Tabla 2, todos los SNP no son sinónimos (1 = sí, 0 = no) y los SNP se encuentran dentro de una región de codificación (están "en la proteína").

5 El valor de p se calculó mediante la prueba exacta de Fisher basada en una tabla de contingencia con 4 campos: # de muestras resistentes/tipo silvestre; # de muestras resistentes / mutantes; # de muestras no resistentes / tipo silvestre; #muestras no resistentes / mutantes.

La prueba se basa en la distribución de las muestras en los 4 campos. La distribución uniforme indica sin significancia, mientras que la agrupación en dos campos indica significancia.

Se obtuvieron los siguientes resultados

- 10 – Se detectó un total de 7.101 SNP no sinónimos asociados con los fenotipos de MRSA/MSSA (valor de p ajustado por FDR < 10<sup>-9</sup>).
- La mayor parte de estos fueron mutaciones puntuales (es decir, intercambios de una sola base)
- La mayor significancia alcanzada fue < 3\*10<sup>-163</sup>.

Ejemplo 2: Determinación del perfil de resistencia genética

15 Las mismas bacterias utilizadas en el Ejemplo 1, es decir, la cohorte de 1001 especímenes de *S. aureus*, se utilizaron en el Ejemplo 2. De esos 985 tenían un ensamblaje, una ID de Kiel NGS única (datos de NGS e ID del ensamblaje), un perfil de resistencia único (sin perfiles de resistencia diferentes con resultados diferentes, y al menos un medicamento con valor de resistencia no faltante, para que estos se analizaran más a fondo). Los experimentos se llevaron a cabo como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de una determinación de resistencia/susceptibilidad a la metilina, se determinó la resistencia/susceptibilidad para los siguientes antibióticos como se describe a continuación:

20 amoxicilina/clavulanato, ampicilina, ampicilina/sulbactam, azitromicina, cefalotina, cefazolina, cefepima, cefotaxima, ceftioxitina, ceftriaxona, cefuroxima, cloranfenicol, ciprofloxacina, clindamicina, daptomicina, ertapenem, eritromicina, fosfomicina, ácido fusídico, gentamicina, imipenem, levofloxacina, linezolid, meropenem, moxifloxacina, mupirocina, nitrofurantoina, norfloxacina, ofloxacina, oxacilina, penicilina G, piperacilina/tazobactam, quinupristina/dalfopristina, rifampicina, teicoplanina, tetraciclina, tigeciclina, tobramicina, trimetoprim/sulfametoxazol y vancomicina.

25 Para las pruebas se utilizaron procedimientos estándar, es decir, el sistema VITEK 2 y tarjetas AST (Biomerieux), sistema Microscan y paneles AST (Beckman Coulter).

El análisis de datos se llevó a cabo como en el Ejemplo 1.

30 Para los perfiles de resistencia solo se mantuvieron medicamentos con daga no faltante para al menos el 10% de las muestras, de manera que solo quedaron 16 medicamentos: Ampicilina, ampicilina/sulbactam, cefepima, cefotaxima, cefuroxima, ciprofloxacina, clindamicina, eritromicina, imipenem, levofloxacina, moxifloxacina, oxacilina, penicilina G, piperacilina/tazobactam, tetraciclina y tobramicina.

A partir de los datos, primero se eligieron los 50 genes con el mejor valor de p para el listado de mutaciones, así como el listado de resistencia correlacionada a antibióticos, que representan las Tablas 3a y 3b.

Para la correlación, los datos se filtraron por la siguiente relación de clase de medicamento y el producto de anotación:

35 
$$relación\ de\ clase\ de\ fármaco = \frac{\text{número de medicamentos significativos de esa clase}}{\text{número de medicamentos probados de esa clase}}$$

40 Los genes de la Tabla 3a representan por lo tanto los 50 mejores genes para los que se observó una mutación en los genomas de *S. aureus*, mientras que los genes de la Tabla 3b representan los 50 mejores genes para los que se pudo observar para la prueba de susceptibilidad al medicamento antimicrobiano, por ejemplo, antibiótico. Los detalles de la Tabla 3a se presentan en las Tablas 4a-d, y los detalles de las Tablas 3b en las Tablas 4e-h. Los genomas de referencia encontrados fueron como en el Ejemplo 1.

Tabla 4a: Listado de posiciones (correspondientes a la Tabla 3a)

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
1	1958403 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2004910 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
2	1641150 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima;	aminoglucósido; fluoroquinolona;

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
				ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	lactama; lincosamida; macrólido
3	978538 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
4	705667 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
5	1434811 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
6	953696 R	NC_022222.1	6850	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1010027 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
7	2101899 R	NC_021670.1	Bmb9393	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1972149 R	NC_017340.1	04_02981		
8	208285 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	161011 R	NC_007795.1	NCTC_8325		
9	2179136 R	NC_017351.1	11819_97	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2149064 R	NC_017340.1	04_02981		
	2107689 R	NC_018608.1	08BA02176		
10	2358535 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
11	2023012 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem;	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
				levofloxacin; moxifloxacin; oxacilina; penicilina G; tobramicina	
12	2777211 F	NC_007795.1	NCTC_8325	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacin; moxifloxacin; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2779170 F	NC_017340.1	04_02981		
13	1801995 R	NC_018608.1	08BA02176	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacin; moxifloxacin; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1790672 R	NC_017340.1	04_02981		
14	1754561 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacin; moxifloxacin; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1691742 F	NC_007795.1	NCTC_8325		
15	1362060 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacin; moxifloxacin; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
16	1242653 R	NC_022222.1	6850	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacin; moxifloxacin; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1294527 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
	1299554 R	NC_017340.1	04_02981		
17	1252703 R	NC_021670.1	Bmb9393	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacin; moxifloxacin; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1520285 F	NC_017351.1	11819_97		
	1523326 F	NC_017340.1	04_02981		
18	1619285 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacin; moxifloxacin; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1661238 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
19	1875550 F	NC_022222.1	6850	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacin; moxifloxacin; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2006001 F	NC_010079.1	US300_TCH1516		
	1959494 F	NC_017340.1	04_02981		
20	976788 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacin; moxifloxacin; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	878040 F	NC_007795.1	NCTC_8325		

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
21	2590222 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2637689 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
22	210528 R	NC_022222.1	6850	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	267448 R	NC_017340.1	04_02981		
	269814 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
23	1814108 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
24	170059 F	NC_002953.3	MSSA476	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	142263 F	NC_017337.1	ED133		
25	534953 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	543821 F	NC_010079.1	US300_TCH1516		
26	517571 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	554542 F	NC_018608.1	08BA02176		
27	531649 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	531398 R	NC_017351.1	11819_97		
28	1050123 R	NC_007795.1	NCTC_8325	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1147277 R	NC_017340.1	04_02981		
29	1881161 R	NC_010079.1	US300_TCH1516	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1871101 R	NC_021059.1	M1		
	1759861 R	NC_022222.1	6850		
	1855493 R	NC_018608.1	08BA02176		
	1858794 R	NC_021554.1	CC45		
	1964828 R	NC_021670.1	Bmb9393		

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
30	2268723 F	NC_010079.1	US300_TCH1516	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2221448 F	NC_017340.1	04_02981		
31	920768 F	NC_021059.1	M1	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	956878 F	NC_018608.1	08BA02176		
	956978 F	NC_017340.1	04_02981		
	858255 F	NC_007795.1	NCTC_8325		
32	2005634 F	NC_016912.1	VC40	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2039052 F	NC_022222.1	6850		
	2187801 F	NC_010079.1	US300_TCH1516		
33	429303 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
34	350202 F	NC_022222.1	6850	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	402479 F	NC_017340.1	04_02981		
	352104 F	NC_007795.1	NCTC_8325		
35	158073 F	NC_022226.1	CN1	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	193628 F	NC_021059.1	M1		
	138357 F	NC_022222.1	6850		
	196480 F	NC_010079.1	US300_TCH1516		
	189192 F	NC_017340.1	04_02981		
36	1121847 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1024692 R	NC_007795.1	NCTC_8325		
37	2719339 R	NC_010079.1	US300_TCH1516	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2668764 R	NC_017340.1	04_02981		
38	1388095 R	NC_022226.1	CN1	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
39	1415365 R	NC_017340.1	04_02981		

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
	1428821 R	NC_018608.1	08BA02176	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1318646 R	NC_007795.1	NCTC_8325		
	1412563 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
	1381147 R	NC_021059.1	M1		
40	1678734 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1720315 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
41	1928346 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
42	1376396 R	NC_010079.1	US300_TCH1516	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1323236 R	NC_022222.1	6850		
	1315892 R	NC_022226.1	CN1		
	1379143 R	NC_017340.1	04_02981		
	1399306 F	NC_021670.1	Bmb9393		
43	1338943 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
44	1124668 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1121585 F	NC_010079.1	US300_TCH1516		
45	559072 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	504007 R	NC_007795.1	NCTC_8325		
46	1675156 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
47	1187805 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1078815 F	NC_022113.1	55_2053		
	1182930 F	NC_010079.1	US300_TCH1516		
48	1356138 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima;	aminoglucósido; fluoroquinolona;

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
				ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	lactama; lincosamida; macrólido
49	854815 R	NC_007795.1	NCTC_8325	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	953539 R	NC_017340.1	04_02981		
	948900 R	NC_010079.1	US300_TCH1516	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
50	2459738 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2364478 F	NC_022222.1	6850		

Tabla 4b: Listado de posiciones (correspondientes a la Tabla 3a, continuación)

No.	mejor valor de p	Nombre del genoma	Encabezado de fasta	Posición del SNP en el Genoma	gen
1	6,0168E-193	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1958403 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	2004910 R	
2	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1641150 R	
3	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	978538 M	
4	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	705667 R	
5	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1434811 R	
6	1,4167E-189	6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	953696 R	rluA1
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1010027 R	
7	1,4167E-189	Bmb9393	gi 521210823 ref NC_021670.1	2101899 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1972149 R	
8	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	208285 R	argC
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	161011 R	argC
9	1,4167E-189	11819_97	gi 385780298 ref NC_017351.1	2179136 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2149064 R	
		08BA02176	gi 404477334 ref NC_018608.1	2107689 R	
10	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2358535 F	
11	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2023012 R	
12	1,4167E-189	NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	2777211 F	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2779170 F	
13	1,4167E-189	08BA02176	gi 404477334 ref NC_018608.1	1801995 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1790672 R	
14	3,0731E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1754561 M	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	1691742 M	
15	3.1179E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1362060 F	
16	3,7988E-189	6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	1242653 R	

ES 2 949 439 T3

No.	mejor valor de p	Nombre del genoma	Encabezado de fasta	Posición del SNP en el Genoma	gen
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1294527 R	ribC
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1299554 R	
17	3,9683E-189	Bmb9393	gi 521210823 ref NC_021670.1	1252703 R	
		11819_97	gi 385780298 ref NC_017351.1	1520285 F	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1523326 M	
18	3,9683E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1619285 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1661238 R	
19	3,9683E-189	6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	1875550 F	bcp
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	2006001 F	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1959494 F	
20	5,4236E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	976788 F	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	878040 F	
21	7,5452E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2590222 R	gntP
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	2637689 R	
22	9,5271E-189	6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	210528 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	267448 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	269814 R	
23	1,1093E-188	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1814108 R	
24	3,3279E-188	MSSA476	gi 49484912 ref NC_002953.3	170059 F	
		ED133	gi 384546269 ref NC_017337.1	142263 M	
25	3,3279E-188	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	534953 M	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	543821 M	
26	3,5518E-188	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	517571 M	
		08BA02176	gi 404477334 ref NC_018608.1	554542 M	
27	1,1492E-187	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	531649 R	
		11819_97	gi 385780298 ref NC_017351.1	531398 R	
28	1,1509E-187	NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	1050123 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1147277 R	
29	9,0648E-187	US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1881161 R	fmtB1
		M1	gi 479328021 ref NC_021059.1	1871101 R	
		6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	1759861 R	
		08BA02176	gi 404477334 ref NC_018608.1	1855493 R	
		CC45	gi 514064966 ref NC_021554.1	1858794 R	
		Bmb9393	gi 521210823 ref NC_021670.1	1964828 R	
30	1,5807E-186	US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	2268723 F	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2221448 F	
31	3,6257E-174	M1	gi 479328021 ref NC_021059.1	920768 F	rocD
		08BA02176	gi 404477334 ref NC_018608.1	956878 F	rocD
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	956978 F	rocD
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	858255 F	rocD

ES 2 949 439 T3

No.	mejor valor de p	Nombre del genoma	Encabezado de fasta	Posición del SNP en el Genoma	gen
32	3,9753E-174	VC40	gi 379013365 ref NC_016912.1	2005634 F	rsbU
		6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	2039052 F	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	2187801 F	
33	7,1007E-174	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	429303 M	
34	1,8906E-173	6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	350202 F	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	402479 F	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	352104 M	
35	3,0713E-172	CN1	gi 537459744 ref NC_022226.1	158073 M	
		M1	gi 479328021 ref NC_021059.1	193628 F	
		6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	138357 M	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	196480 F	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	189192 M	
36	4,4332E-172	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1121847 R	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	1024692 R	
37	4,4332E-172	US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	2719339 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2668764 R	
38	5,5156E-172	CN1	gi 537459744 ref NC_022226.1	1388095 R	
39	1,2003E-171	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1415365 R	femB
		08BA02176	gi 404477334 ref NC_018608.1	1428821 R	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	1318646 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1412563 R	
		M1	gi 479328021 ref NC_021059.1	1381147 R	
40	1,2003E-171	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1678734 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1720315 R	
41	1,2491E-171	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1928346 M	
42	2,3661E-171	US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1376396 R	sbcC
		6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	1323236 R	
		CN1	gi 537459744 ref NC_022226.1	1315892 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1379143 R	
		Bmb9393	gi 521210823 ref NC_021670.1	1399306 M	
43	2,3661E-171	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1338943 R	
44	5,3408E-171	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1124668 M	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1121585 F	
45	1,0222E-170	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	559072 R	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	504007 R	
46	1,0498E-170	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1675156 R	
47	2,283E-170	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1187805 M	
		55_2053	gi 532358222 ref NC_022113.1	1078815 F	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1182930 M	
48	2,3666E-170	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1356138 F	

ES 2 949 439 T3

No.	mejor valor de p	Nombre del genoma	Encabezado de fasta	Posición del SNP en el Genoma	gen
49	4,1086E-170	NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	854815 R	prsA1
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	953539 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	948900 R	
50	4,2262E-169	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2459738 F	
		6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	2364478 F	

Tabla 4c: Listado de posiciones (correspondientes a la Tabla 3a, continuación)

No.	Aminoácidos	Codones	GI del genoma	GI de la proteína
1	A_T	ACA_GCA	387149188	446792191
	A_T	ACA_GCA	161508266	161510080
2	E_K	AAA_GAA	387149188	446032753
3	I_M	ATC_ATG	387149188	446312722
4	E_K	AAG_GAG	387149188	446725640
5	A_S	GCA_TCA	387149188	446180863
6	L_P	CCT_CTT	537441500	537465549
	L_P	CCT_CTT	161508266	161509205
7	M_V	ATG_GTG	521210823	752533903
	M_V	ATG_GTG	387149188	446753128
8	K_T	AAA_ACA	387149188	446556386
	K_T	AAA_ACA	88193823	88193961
9	M_V	ATG_GTG	385780298	446324804
	M_V	ATG_GTG	387149188	446324797
	M_V	ATG_GTG	404477334	446324791
10	K_N	AAA_AAC	387149188	445930822
11	E_V	GAA_GTA	387149188	446943955
12	F_L	TTG_TTT	88193823	88196623
	F_L	TTG_TTT	387149188	446800117
13	Q_R	CAG_CGG	404477334	446795417
	Q_R	CAG_CGG	387149188	446795407
14	L_V	GTA_TTA	387149188	446028277
	L_V	GTA_TTA	88193823	88195494
15	I_N	AAT_ATT	387149188	447178207
16	I_T	ACC_ATC	537441500	537465687
	I_T	ACC_ATC	161508266	161509438
	I_T	ACC_ATC	387149188	446786934
17	L_S	TCA_TTA	521210823	521258120
	L_S	TCA_TTA	385780298	446060496
	L_S	TCA_TTA	387149188	446060495
18	N_S	AAT_AGT	387149188	446940596
	N_S	AAT_AGT	161508266	161509778

ES 2 949 439 T3

No.	Aminoácidos	Codones	GI del genoma	GI de la proteína
19	D_Y	GAT_TAT	537441500	537465893
	D_Y	GAT_TAT	161508266	161510081
	D_Y	GAT_TAT	387149188	446862272
20	F_L	TTA_TTT	387149188	447047252
	F_L	TTA_TTT	88193823	88194665
21	K_T	AAA_ACA	387149188	446403560
	K_T	AAA_ACA	161508266	161510698
22	A_V	GCA_GTA	537441500	537465126
	A_V	GCA_GTA	387149188	447077358
	A_V	GCA_GTA	161508266	161508491
23	A_V	GCG_GTG	387149188	446784840
24	G_R	AGA_GGA	49484912	487756815
	G_R	AGA_GGA	384546269	446093782
25	F_L	TTA_TTT	387149188	446874184
	F_L	TTA_TTT	161508266	161508745
26	K_R	AAA_AGA	387149188	446973880
	K_R	AAA_AGA	404477334	446973883
27	N_T	AAT_ACT	387149188	446076361
	N_T	AAT_ACT	385780298	446076373
28	F_L	TTA_TTT	88193823	88194836
	F_L	TTA_TTT	387149188	446593607
29	K_T	AAG_ACG	161508266	161509974
	K_T	AAG_ACG	479328021	505394769
	K_T	AAG_ACG	537441500	537465850
	K_T	AAG_ACG	404477334	446973259
	K_T	AAG_ACG	514064966	514074897
	K_T	AAG_ACG	521210823	521258173
30	L_S	TCA_TTA	161508266	161510359
	L_S	TCA_TTA	387149188	446293068
31	E_K	AAA_GAA	479328021	505394709
	E_K	AAA_GAA	404477334	446089469
	E_K	AAA_GAA	387149188	446089454
	E_K	AAA_GAA	88193823	88194651
32	I_V	ATA_GTA	379013365	487720346
	I_V	ATA_GTA	537441500	537465949
	I_V	ATA_GTA	161508266	161510279
33	G_V	GGA_GTA	387149188	446343556
34	K_T	AAA_ACA	537441500	537465192
	K_T	AAA_ACA	387149188	446129782
	K_T	AAA_ACA	88193823	88194138

ES 2 949 439 T3

No.	Aminoácidos	Codones	GI del genoma	GI de la proteína
35	I_V	ATT_GTT	537459744	537467717
	I_V	ATT_GTT	479328021	505394663
	I_V	ATT_GTT	537441500	537465062
	I_V	ATT_GTT	161508266	161508437
	I_V	ATT_GTT	387149188	446513509
36	I_T	ACA_ATA	387149188	446104798
	I_T	ACA_ATA	88193823	88194808
37	P_T	ACA_CCA	161508266	161510779
	P_T	ACA_CCA	387149188	446083969
38	C_Y	TAT_TGT	537459744	686312170
39	L_S	TCA_TTA	387149188	446595763
	L_S	TCA_TTA	404477334	446595752
	L_S	TCA_TTA	88193823	88195101
	L_S	TCA_TTA	161508266	161509542
	L_S	TCA_TTA	479328021	505394733
40	I_L	ATT_CTT	387149188	446059917
	I_L	ATT_CTT	161508266	161509840
41	A_G	GCA_GGA	387149188	446506832
42	I_T	ACT_ATT	161508266	161509514
	I_T	ACT_ATT	537441500	537465718
	I_T	ACT_ATT	537459744	537467986
	I_T	ACT_ATT	387149188	446725826
	I_T	ACT_ATT	521210823	521258127
43	C_G	GGT_TGT	387149188	445990753
44	I_L	ATA_TTA	387149188	446710589
	I_L	ATA_TTA	161508266	161509291
45	A_V	GCC_GTC	387149188	446804811
	A_V	GCC_GTC	88193823	88194284
46	D_N	AAT_GAT	387149188	446305320
47	I_T	ACA_ATA	387149188	446462960
	I_T	ACA_ATA	532358222	532479591
	I_T	ACA_ATA	161508266	161509351
48	E_Q	CAA_GAA	387149188	446764090
49	A_V	GCA_GTA	88193823	88194648
	A_V	GCA_GTA	387149188	445957208
	A_V	GCA_GTA	161508266	161509155
50	H_Y	CAT_TAT	387149188	446198905
	H_Y	CAT_TAT	537441500	537466083

Tabla 4d: Listado de posiciones (correspondiente a la Tabla 3a, continuación)

No.	Mejor fenotipo	Clase del mejor fenotipo	Número del aminoglucósido	Número de la fluoroquinolona	Número de la lactama	Número de la lincosamida	Número del macróido	Número de la tetraciclina
1	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
2	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
3	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
4	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
5	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
6	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
7	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
8	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
9	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
10	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
11	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
12	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
13	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
14	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
15	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
16	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
17	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
18	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
19	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
20	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
21	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
22	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
23	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
24	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
25	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
26	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
27	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0

No.	Mejor fenotipo	Clase del mejor fenotipo	Número del aminoglucósido	Número de la fluoroquinolona	Número de la lactama	Número de la lincosamida	Número del macróido	Número de la tetraciclina
28	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
29	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
30	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
31	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
32	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
33	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
34	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
35	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
36	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
37	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
38	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
39	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
40	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
41	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
42	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
43	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
44	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
45	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
46	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
47	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
48	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
49	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
50	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0

Tabla 4e: Listado de posiciones (correspondientes a la Tabla 3b)

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
1	1958403 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2004910 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
2	1641150 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
3	978538 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
4	705667 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
5	1434811 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
6	953696 R	NC_022222.1	6850	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1010027 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
7	2101899 R	NC_021670.1	Bmb9393	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1972149 R	NC_017340.1	04_02981		
8	208285 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	161011 R	NC_007795.1	NCTC_8325		
9	2179136 R	NC_017351.1	11819_97		

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
	2149064 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2107689 R	NC_018608.1	08BA02176		
10	2358535 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
11	2023012 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
12	2777211 F	NC_007795.1	NCTC_8325	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2779170 F	NC_017340.1	04_02981		
13	1801995 R	NC_018608.1	08BA02176	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1790672 R	NC_017340.1	04_02981		
14	1754561 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1691742 F	NC_007795.1	NCTC_8325		
15	1362060 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
16	1242653 R	NC022222.1	6850	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1294527 R	_NC_010079.1	US300_TCH1516		
	1299554 R	NC_017340.1	04_02981		
17	1252703 R	NC_021670.1	Bmb9393		

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
	1520285 F	NC_017351.1	11819_97	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1523326 F	NC_017340.1	04_02981		
18	1619285 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1661238 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
19	1875550 F	NC_022222.1	6850	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2006001 F	NC_010079.1	US300_TCH1516		
	1959494 F	NC_017340.1	04_02981		
20	976788 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	878040 F	NC_007795.1	NCTC_8325		
21	2590222 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	2637689 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
22	210528 R	NC_022222.1	6850	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	267448 R	NC_017340.1	04_02981		
	269814 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
23	1814108 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
24	170059 F	NC_002953.3	MSSA476	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	142263 F	NC_017337.1	ED133		
25	534953 F	NC_017340.1	04_02981		



ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
33	429303 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
34	350202 F	NC_022222.1	6850	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	402479 F	NC_017340.1	04_02981		
	352104 F	NC_007795.1	NCTC_8325		
35	158073 F	NC_022226.1	CN1	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	193628 F	NC_021059.1 -	M1		
	138357 F	NC_022222.1	6850		
	196480 F	NC_010079.1	US300_TCH1516		
	189192 F	NC_017340.1	04_02981		
36	1121847 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1024692 R	NC_007795.1	NCTC_8325		
37	2719339 R	NC_010079.1	US300_TCH1516	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima;	aminoglucósido;
	2668764 R	NC_017340.1	04_02981	cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
38	1388095 R	NC_022226.1	CN1	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
39	1415365 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1428821 R	NC_018608.1	08BA02176		
	1318646 R	NC_007795.1	NCTC_8325		
	1412563 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
	1381147 R	NC_021059.1	M1		
40	1678734 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1720315 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
41	1928346 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
42	1376396 R	NC_010079.1	US300_TCH1516	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1323236 R	NC_022222.1	6850		
	1315892 R	NC_022226.1	CN1		
	1379143 R	NC_017340.1	04_02981		
	1399306 F	NC_021670.1	Bmb9393		
43	1124668 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1121585 F	NC_010079.1	US300_TCH1516		
44	559072 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	504007 R	NC_007795.1	NCTC_8325		
45	1675156 R	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
46	1187805 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1078815 F	NC_022113.1	55_2053		
	1182930 F	NC_010079.1	US300_TCH1516		
47	1356138 F	NC_017340.1	04_02981	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
48	854815 R	NC_007795.1	NCTC_8325	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	953539 R	NC_017340.1	04_02981		
	948900 R	NC_010079.1	US300_TCH1516		
49	2459738 F	NC_017340.1	04_02981		

ES 2 949 439 T3

No.	posición	genoma de referencia	nombre del genoma	fenotipos con significancia	clase de fenotipos con significancia
	2364478 F	NC_022222.1	6850	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
50	1812380 R	NC_010079.1	US300_TCH1516	ampicilina/sulbactam; cefepima; cefotaxima; cefuroxima; ciprofloxacina; clindamicina; eritromicina; imipenem; levofloxacina; moxifloxacina; oxacilina; penicilina G; tobramicina	aminoglucósido; fluoroquinolona; lactama; lincosamida; macrólido
	1775835 R	NC_017340.1	04_02981		
	1714993 R	NC_007795.1	NCTC_8325		

Tabla 4f: Listado de posiciones (correspondientes a la Tabla 3b, continuación)

No.	mejor valor de p	Nombre del genoma	Encabezado de fasta	Posición del SNP en el Genoma	gen
1	6,0168E-193	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1958403 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	2004910 R	
2	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1641150 R	
3	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	978538 M	
4	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	705667 R	
5	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1434811 R	
6	1,4167E-189	6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	953696 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1010027 R	rluA1
7	1,4167E-189	Bmb9393	gi 521210823 ref NC_021670.1	2101899 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1972149 R	
8	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	208285 R	argC
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	161011 R	argC
9	1,4167E-189	11819_97	gi 385780298 ref NC_017351.1	2179136 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2149064 R	
		08BA02176	gi 404477334 ref NC_018608.1	2107689 R	
10	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2358535 F	
11	1,4167E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2023012 R	
12	1,4167E-189	NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	2777211 F	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2779170 F	
13	1,4167E-189	08BA02176	gi 404477334 ref NC_018608.1	1801995 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1790672 R	
14	3,0731E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1754561 M	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	1691742 M	
15	3,1179E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1362060 F	
16	3,7988E-189	6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	1242653 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1294527 R	ribC
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1299554 R	

ES 2 949 439 T3

No.	mejor valor de p	Nombre del genoma	Encabezado de fasta	Posición del SNP en el Genoma	gen
17	3,9683E-189	Bmb9393	gi 521210823 ref NC_021670.1	1252703 R	
		11819_97	gi 385780298 ref NC_017351.1	1520285 F	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1523326 M	
18	3,9683E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1619285 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1661238 R	
19	3,9683E-189	6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	1875550 F	bcp
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	2006001 F	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1959494 F	
20	5,4236E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	976788 F	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	878040 F	
21	7,5452E-189	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2590222 R	gntP
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	2637689 R	
22	9,5271E-189	6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	210528 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	267448 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	269814 R	
23	1,1093E-188	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1814108 R	
24	3,3279E-188	MSSA476	gi 49484912 ref NC_002953.3	170059 F	
		ED133	gi 384546269 ref NC_017337.1	142263 M	
25	3,3279E-188	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	534953 M	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	543821 M	
26	3,5518E-188	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	517571 M	
		08BA02176	gi 404477334 ref NC_018608.1	554542 M	
27	1,1492E-187	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	531649 R	
		11819_97	gi 385780298 ref NC_017351.1	531398 R	
28	1,1509E-187	NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	1050123 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1147277 R	
29	9,0648E-187	US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1881161 R	fmtB1
		M1	gi 479328021 ref NC_021059.1	1871101 R	
		6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	1759861 R	
		08BA02176	gi 404477334 ref NC_018608.1	1855493 R	
		CC45	gi 514064966 ref NC_021554.1	1858794 R	
		Bmb9393	gi 521210823 ref NC_021670.1	1964828 R	
30	1,5807E-186	US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	2268723 F	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2221448 F	
31	3,6257E-174	M1	gi 479328021 ref NC_021059.1	920768 F	rocD
		08BA02176	gi 404477334 ref NC_018608.1	956878 F	rocD
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	956978 F	rocD
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	858255 F	rocD
32	3,9753E-174	VC40	gi 379013365 ref NC_016912.1	2005634 F	
		6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	2039052 F	

ES 2 949 439 T3

No.	mejor valor de p	Nombre del genoma	Encabezado de fasta	Posición del SNP en el Genoma	gen
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	2187801 F	rsbU
33	7,1007E-174	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	429303 M	
34	1,8906E-173	6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	350202 F	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	402479 F	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	352104 M	
35	3,0713E-172	CN1	gi 537459744 ref NC_022226.1	158073 M	
		M1	gi 479328021 ref NC_021059.1	193628 F	
		6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	138357 M	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	196480 F	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	189192 M	
36	4,4332E-172	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1121847 R	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	1024692 R	
37	4,4332E-172	US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	2719339 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2668764 R	
38	5,5156E-172	CN1	gi 537459744 ref NC_022226.1	1388095 R	
39	1,2003E-171	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1415365 R	
		08BA02176	gi 404477334 ref NC_018608.1	1428821 R	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	1318646 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1412563 R	femB
		M1	gi 479328021 ref NC_021059.1	1381147 R	
40	1,2003E-171	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1678734 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1720315 R	
41	1,2491E-171	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1928346 M	
42	2,3661E-171	US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1376396 R	sbcC
		6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	1323236 R	
		CN1	gi 537459744 ref NC_022226.1	1315892 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1379143 R	
		Bmb9393	gi 521210823 ref NC_021670.1	1399306 M	
43	5,3408E-171	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1124668 M	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1121585 F	
44	1,0222E-170	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	559072 R	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	504007 R	
45	1,0498E-170	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1675156 R	
46	2,283E-170	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1187805 M	
		55_2053	gi 532358222 ref NC_022113.1	1078815 F	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1182930 M	
47	2,3666E-170	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1356138 F	
48	4,1086E-170	NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	854815 R	
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	953539 R	
		US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	948900 R	prsA1

ES 2 949 439 T3

No.	mejor valor de p	Nombre del genoma	Encabezado de fasta	Posición del SNP en el Genoma	gen
49	4,2262E-169	04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	2459738 F	
		6850	gi 537441500 ref NC_022222.1	2364478 F	
50	1,3444E-168	US300_TCH1516	gi 161508266 ref NC_010079.1	1812380 R	dnaE2
		04_02981	gi 387149188 ref NC_017340.1	1775835 R	
		NCTC_8325	gi 88193823 ref NC_007795.1	1714993 R	

Tabla 4g: Listado de posiciones (correspondientes a la Tabla 3b, continuación)

No.	Aminoácidos	Codones	GI del Genoma	GI de la Proteína
1	A_T	ACA_GCA	387149188	446792191
	A_T	ACA_GCA	161508266	161510080
2	E_K	AAA_GAA	387149188	446032753
3	I_M	ATC_ATG	387149188	446312722
4	E_K	AAG_GAG	387149188	446725640
5	A_S	GCA_TCA	387149188	446180863
6	L_P	CCT_CTT	537441500	537465549
	L_P	CCT_CTT	161508266	161509205
7	M_V	ATG_GTG	521210823	752533903
	M_V	ATG_GTG	387149188	446753128
8	K_T	AAA_ACA	387149188	446556386
	K_T	AAA_ACA	88193823	88193961
9	M_V	ATG_GTG	385780298	446324804
	M_V	ATG_GTG	387149188	446324797
	M_V	ATG_GTG	404477334	446324791
10	K_N	AAA_AAC	387149188	445930822
11	E_V	GAA_GTA	387149188	446943955
12	F_L	TTG_TTT	88193823	88196623
	F_L	TTG_TTT	387149188	446800117
13	Q_R	CAG_CGG	404477334	446795417
	Q_R	CAG_CGG	387149188	446795407
14	L_V	GTA_TTA	387149188	446028277
	L_V	GTA_TTA	88193823	88195494
15	I_N	AAT_ATT	387149188	447178207
16	I_T	ACC_ATC	537441500	537465687
	I_T	ACC_ATC	161508266	161509438
	I_T	ACC_ATC	387149188	446786934
17	L_S	TCA_TTA	521210823	521258120
	L_S	TCA_TTA	385780298	446060496
	L_S	TCA_TTA	387149188	446060495
18	N_S	AAT_AGT	387149188	446940596
	N_S	AAT_AGT	161508266	161509778

ES 2 949 439 T3

No.	Aminoácidos	Codones	GI del Genoma	GI de la Proteína
19	D_Y	GAT_TAT	537441500	537465893
	D_Y	GAT_TAT	161508266	161510081
	D_Y	GAT_TAT	387149188	446862272
20	F_L	TTA_TTT	387149188	447047252
	F_L	TTA_TTT	88193823	88194665
21	K_T	AAA_ACA	387149188	446403560
	K_T	AAA_ACA	161508266	161510698
22	A_V	GCA_GTA	537441500	537465126
	A_V	GCA_GTA	387149188	447077358
	A_V	GCA_GTA	161508266	161508491
23	A_V	GCG_GTG	387149188	446784840
24	G_R	AGA_GGA	49484912	487756815
	G_R	AGA_GGA	384546269	446093782
25	F_L	TTA_TTT	387149188	446874184
	F_L	TTA_TTT	161508266	161508745
26	K_R	AAA_AGA	387149188	446973880
	K_R	AAA_AGA	404477334	446973883
27	N_T	AAT_ACT	387149188	446076361
	N_T	AAT_ACT	385780298	446076373
28	F_L	TTA_TTT	88193823	88194836
	F_L	TTA_TTT	387149188	446593607
29	K_T	AAG_ACG	161508266	161509974
	K_T	AAG_ACG	479328021	505394769
	K_T	AAG_ACG	537441500	537465850
	K_T	AAG_ACG	404477334	446973259
	K_T	AAG_ACG	514064966	514074897
	K_T	AAG_ACG	521210823	521258173
30	L_S	TCA_TTA	161508266	161510359
	L_S	TCA_TTA	387149188	446293068
31	E_K	AAA_GAA	479328021	505394709
	E_K	AAA_GAA	404477334	446089469
	E_K	AAA_GAA	387149188	446089454
	E_K	AAA_GAA	88193823	88194651
32	I_V	ATA_GTA	379013365	487720346
	I_V	ATA_GTA	537441500	537465949
	I_V	ATA_GTA	161508266	161510279
33	G_V	GGA_GTA	387149188	446343556
34	K_T	AAA_ACA	537441500	537465192
	K_T	AAA_ACA	387149188	446129782
	K_T	AAA_ACA	88193823	88194138

ES 2 949 439 T3

No.	Aminoácidos	Codones	GI del Genoma	GI de la Proteína
35	I_V	ATT_GTT	537459744	537467717
	I_V	ATT_GTT	479328021	505394663
	I_V	ATT_GTT	537441500	537465062
	I_V	ATT_GTT	161508266	161508437
	I_V	ATT_GTT	387149188	446513509
36	I_T	ACA_ATA	387149188	446104798
	I_T	ACA_ATA	88193823	88194808
37	P_T	ACA_CCA	161508266	161510779
	P_T	ACA_CCA	387149188	446083969
38	C_Y	TAT_TGT	537459744	686312170
39	L_S	TCA_TTA	387149188	446595763
	L_S	TCA_TTA	404477334	446595752
	L_S	TCA_TTA	88193823	88195101
	L_S	TCA_TTA	161508266	161509542
	L_S	TCA_TTA	479328021	505394733
40	I_L	ATT_CTT	387149188	446059917
	I_L	ATT_CTT	161508266	161509840
41	A_G	GCA_GGA	387149188	446506832
42	I_T	ACT_ATT	161508266	161509514
	I_T	ACT_ATT	537441500	537465718
	I_T	ACT_ATT	537459744	537467986
	I_T	ACT_ATT	387149188	446725826
	I_T	ACT_ATT	521210823	521258127
43	I_L	ATA_TTA	387149188	446710589
	I_L	ATA_TTA	161508266	161509291
44	A_V	GCC_GTC	387149188	446804811
	A_V	GCC_GTC	88193823	88194284
45	D_N	AAT_GAT	387149188	446305320
46	I_T	ACA_ATA	387149188	446462960
	I_T	ACA_ATA	532358222	532479591
	I_T	ACA_ATA	161508266	161509351
47	E_Q	CAA_GAA	387149188	446764090
48	A_V	GCA_GTA	88193823	88194648
	A_V	GCA_GTA	387149188	445957208
	A_V	GCA_GTA	161508266	161509155
49	H_Y	CAT_TAT	387149188	446198905
	H_Y	CAT_TAT	537441500	537466083
50	D_E	GAA_GAT	161508266	161509916
	D_E	GAA_GAT	387149188	446149063
	D_E	GAA_GAT	88193823	88195511

Tabla 4h: Listado de posiciones (correspondiente a la Tabla 3b, continuación)

No.	Mejor fenotipo	Clase del mejor fenotipo	Número del aminoglucósido	Número de la fluoroquinolona	Número de la lactama	Número de la lincosamida	Número del macróido	Número de la tetraciclina
1	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
2	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
3	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
4	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
5	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
6	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
7	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
8	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
9	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
10	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
11	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
12	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
13	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
14	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
15	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
16	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
17	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
18	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
19	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
20	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
21	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
22	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
23	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
24	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
25	Moxifloxacina	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0

No.	Mejor fenotipo	Clase del mejor fenotipo	Número del aminoglucósido	Número de la fluoroquinolona	Número de la lactama	Número de la incosamida	Número del macrólido	Número de la tetraciclina
26	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
27	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
28	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
29	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
30	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
31	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
32	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
33	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
34	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
35	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
36	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
37	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
38	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
39	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
40	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
41	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
42	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
43	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
44	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
45	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
46	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
47	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
48	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
49	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0
50	Moxifloxacin	fluoroquinolona	1	3	7	1	1	0

En las Tablas 4a-h, las anotaciones son las mismas que en el Ejemplo 1 para las Tablas 2a y 2b, con las siguientes anotaciones adicionales en las columnas:

- mejor fenotipo: Fenotipo (medicamento) con el valor de p ajustado más pequeño  
 clase de mejor fenotipo: clase de medicamento del mejor medicamento (si los fenotipos son medicamentos)
- 5 mejor valor de p: Valor de p ajustado del mejor fenotipo calculado mediante la prueba exacta de Fisher y ajustado por FDR (método de Benjamin Hochberg (Benjamini Hochberg, 1995))  
 fenotipos con significancia: nombres de todos los fenotipos con valor de p ajustado con significancia separado por "; "  
 clase de fenotipos con significancia: clases de medicamentos de todas los medicamentos con significancia (si los fenotipos son medicamentos)
- 10 Además, en las Tablas 4a-h, todos los SNP son nuevamente no sinónimos (1 = sí, 0 = no), y los SNP se encuentran dentro de una región de codificación (están "en la proteína")

Una prueba genética para la identificación combinada de patógenos y pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos directamente de la muestra del paciente puede reducir significativamente el tiempo para obtener un resultado procesable de varios días a horas, lo que permite un tratamiento dirigido. Además, este enfoque no se limitará a los laboratorios centrales, sino que se pueden desarrollar dispositivos de punto de atención que permitan las pruebas respectivas. Dicha tecnología, junto con los métodos actuales y los productos de programas informáticos, podría revolucionar la atención, p. ej., en unidades de cuidados intensivos o para ingresos a hospitales en general. Además, incluso aplicaciones como la monitorización de brotes en tiempo real pueden lograrse usando los métodos presentes.

En lugar de usar solo variantes individuales, una combinación de varias posiciones de variantes puede mejorar la precisión de la predicción y reducir aún más los falsos positivos que están influenciados por otros factores.

En comparación con los enfoques que utilizan MALDI-TOF MS, el presente enfoque tiene la ventaja de que cubre casi el genoma completo y, por lo tanto, nos permite identificar los sitios genómicos potenciales que podrían estar relacionados con la resistencia. Si bien MALDI-TOF MS también se puede usar para identificar mutaciones puntuales en proteínas bacterianas, esta tecnología solo detecta un subconjunto de proteínas y no todas están igualmente bien cubiertas. Además, la identificación y diferenciación de ciertas cepas relacionadas no siempre es factible.

El presente método permite calcular el mejor punto de corte para la separación de aislados en grupos resistentes y susceptibles. Los inventores diseñaron una herramienta de software flexible que permite considerar, además de los mejores puntos de corte, también valores definidos por diferentes directrices (por ejemplo, directrices europeas y estadounidenses), preparándose para una aplicación de GAST en diferentes países.

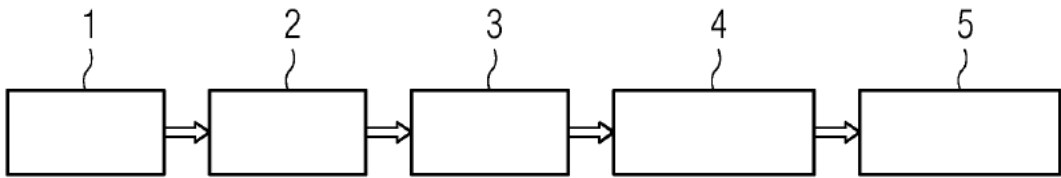
Los inventores demuestran que el presente enfoque es capaz de identificar mutaciones en genes que ya se conocen como dianas de medicamentos, así como detectar posibles nuevos sitios diana.

El enfoque actual permite

- a. Identificación y validación de marcadores para identificación genética y pruebas de susceptibilidad/resistencia dentro de una prueba de diagnóstico
- 35 b. Validación de dianas farmacológicas y modos de acción conocidos
- c. Detección de mecanismos de resistencia potencialmente novedosos que conducen a nuevos genes diana putativos /diana secundarios para nuevas terapias

## REIVINDICACIONES

1. Un método implementado por ordenador para determinar un perfil de resistencia para un medicamento antimicrobiano, p. ej., antibiótico, para un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, que comprende:
- 5 obtener o proporcionar un primer conjunto de datos de secuencias de genes de una pluralidad de aislados clínicos del microorganismo;  
 en el que se ensamblan al menos una parte de las secuencias de genes del primer conjunto de datos;  
 analizar las secuencias de genes del primer conjunto de datos para variantes genéticas para obtener un tercer conjunto de datos de variantes genéticas, en el que las variantes genéticas en las secuencias de genes del primer conjunto de datos se detectan sin alineamiento;
- 10 proporcionar un segundo conjunto de datos de resistencia y/o susceptibilidad al medicamento antimicrobiano, p. ej., antibiótico, de la pluralidad de aislados clínicos del microorganismo;  
 correlacionar el tercer conjunto de datos con el segundo conjunto de datos y analizar estadísticamente la correlación;  
 y
- 15 determinar los sitios genéticos en el genoma del microorganismo con resistencia al medicamento antimicrobiano, p. ej., antibiótico.
2. El método de la reivindicación 1, en el que las variantes genéticas en las secuencias de genes del primer conjunto de datos son polimorfismos de un solo nucleótido (SNP).
3. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el microorganismo es una especie de *Staphylococcus*, particularmente *Staphylococcus aureus*, opcionalmente en el que el medicamento antimicrobiano es metilicina.
- 20 4. Un método de diagnóstico implementado por ordenador para determinar una infección de un paciente con un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano potencialmente resistente al tratamiento con medicamentos antimicrobianos, que comprende determinar la presencia de al menos una variante genética en al menos una posición de al menos una secuencia genética del microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, contenido o sospechoso de estar contenido en una muestra obtenida de un paciente mediante la realización del método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la presencia de al menos una variante genética es indicativa de una infección con un microorganismo resistente a medicamentos antimicrobianos en dicho paciente.
- 25 5. Un método implementado por ordenador para seleccionar un tratamiento de un paciente que sufre una infección con un microorganismo potencialmente resistente, particularmente un microorganismo bacteriano, que comprende las etapas de:
- a) determinar la presencia de al menos una variante genética en al menos una posición de al menos una secuencia genética del microorganismo, en particular del microorganismo bacteriano, contenida o sospechosa de estar contenida en una muestra obtenida de un paciente mediante la realización del método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la presencia de al menos una variante genética es indicativa de una resistencia a uno o más medicamentos antimicrobianos;
- 35 b) identificar dicho al menos uno o más medicamentos antimicrobianos; y
- c) seleccionar uno o más medicamentos antimicrobianos diferentes a los identificados en la etapa b) y que sean adecuados para el tratamiento de la infección con el microorganismo, particularmente el microorganismo bacteriano.
- 40 6. Un método implementado por ordenador para adquirir, respectivamente determinar, un perfil de resistencia para un medicamento antimicrobiano, p. ej., antibiótico, para un aislado clínico de un microorganismo, particularmente un microorganismo bacteriano, que comprende:
- obtener o proporcionar al menos una secuencia de genes del aislado clínico del microorganismo, en particular del microorganismo bacteriano; y
- 45 determinar la presencia de variantes genéticas en al menos una secuencia de genes del aislado clínico del microorganismo, particularmente del microorganismo bacteriano, mediante la realización del método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
7. El método de la reivindicación 2, en el que los SNP se anotan en un pangenoma del microorganismo y/o se anotan en uno o más genomas de referencia.
- 50 8. Medio de almacenamiento legible por ordenador que almacena un código de programa que comprende instrucciones ejecutables por ordenador que, cuando se ejecutan, realizan un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.



**Fig. 1**