



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 329 202**

51 Int. Cl.:  
**C12Q 1/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **97911094 .7**

96 Fecha de presentación : **04.11.1997**

97 Número de publicación de la solicitud: **0943009**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.09.1999**

54 Título: **Sondas de DNA y cebadores de amplificación específicos de especie, específicos de género y universales para la detección e identificación rápidas de patógenos bacterianos y fúngicos comunes y genes de resistencia a antibióticos asociados de especímenes clínicos para el diagnóstico en laboratorios de microbiología.**

30 Prioridad: **04.11.1996 US 743637**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**23.11.2009**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**23.11.2009**

73 Titular/es: **GENEOHM SCIENCES CANADA Inc.**  
**2050, boulevard René Lévesque Ouest 4eme étage**  
**Sainte-Foy, QC G1V 2K8, CA**

72 Inventor/es: **Bergeron, Michel, G.;**  
**Picard, François, J.;**  
**Ouellette, Marc y**  
**Roy, Paul, H.**

74 Agente: **Aznárez Urbieto, Pablo**

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

Sondas de DNA y cebadores de amplificación específicos de especie, específicos de género y universales para la detección e identificación rápidas de patógenos bacterianos y fúngicos comunes y genes de resistencia a antibióticos asociados de especímenes clínicos para el diagnóstico en laboratorios de microbiología.

**Antecedentes de la invención***Métodos clásicos para la identificación y el análisis de la sensibilidad de bacterias*

Habitualmente, las bacterias se identifican por su capacidad para utilizar diferentes sustratos como fuente de carbono y nitrógeno mediante el uso de análisis bioquímicos tales como el sistema API20E™ (bioMérieux). Para el análisis de la sensibilidad, los laboratorios clínicos de microbiología utilizan métodos entre los que se incluyen la difusión en disco, la dilución en agar y la microdilución en caldo. Aunque la identificación basada en un análisis bioquímico y de sensibilidad antibacteriana es rentable, se requieren como mínimo dos días para obtener los resultados preliminares ya que son necesarias dos incubaciones nocturnas sucesivas para identificar las bacterias a partir de muestras clínicas, así como para determinar su sensibilidad a agentes antimicrobianos. Existen diversos sistemas automatizados comerciales (por ejemplo el sistema MicroScan de Dade Diagnostics Corp. y el sistema Vitek de bioMérieux), los cuales utilizan equipos caros y sofisticados para lograr una mayor rapidez en la identificación microbiana y en el análisis de sensibilidad (Stager y Davis, 1992, Clin. Microbiol. Rev. 5:302-327). Estos sistemas requieren períodos de incubación más cortos, haciendo así posible realizar la mayoría de las identificaciones bacterianas y los análisis de sensibilidad en menos de 6 horas. Sin embargo, estos sistemas más rápidos requieren siempre el aislamiento primario de las bacterias como cultivo puro, un proceso que requiere como mínimo 18 horas para un cultivo puro o 2 días para un cultivo mixto. El sistema de identificación más rápido existente, el sistema autoSCAN-Walk-Away™ (Dade Diagnostics Corp.) identifica especies bacterianas tanto gram-negativas como gram-positivas a partir de inóculos normalizados en tan sólo 2 horas y proporciona patrones de sensibilidad a la mayoría de los antibióticos en 5,5 horas. Sin embargo, este sistema tiene un porcentaje particularmente alto (del 3,3 al 40,5%) de identificaciones no concluyentes en especies bacterianas distintas a *Enterobacteriaceae* (Croizé J., 1995, Lett. Infectiol. 10: 109-113; York y col., 1992, J. Clin. Microbiol. 30:2903-2910). Para *Enterobacteriaceae*, el porcentaje de identificaciones no concluyentes está entre un 2,7 y un 11,4%.

En los laboratorios de microbiología se aísla e identifica de forma rutinaria una gran variedad de bacterias y hongos a partir de muestras clínicas. Las tablas 1 y 2 indican la incidencia de los patógenos bacterianos y fúngicos más frecuentemente aislados a partir de diversos tipos de muestras clínicas. Con frecuencia estos patógenos se asocian a infecciones humanas nosocomiales y de origen comunitario y, por tanto, se consideran de una gran importancia clínica.

*Muestras clínicas analizadas en laboratorios clínicos de microbiología*

La mayor parte de las muestras clínicas que se reciben en los laboratorios clínicos de microbiología son muestras de orina y sangre. En el laboratorio de microbiología del Centre Hospitalier de l'Université Laval (CHUL), la orina y la sangre representan alrededor de un 55% y un 30%, respectivamente, de las muestras recibidas (tabla 3). El 15% restante de muestras clínicas consiste en diversos fluidos biológicos, entre los que se incluyen esputos, pus, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial y otros (tabla 3). Las infecciones del aparato urinario, las vías respiratorias y la corriente sanguínea son normalmente de etiología bacteriana y requieren una terapia antimicrobiana. De hecho, todas las muestras clínicas recibidas en el laboratorio clínico de microbiología se analizan de forma rutinaria para la identificación de bacterias y el análisis de la sensibilidad.

*Identificación convencional de patógenos a partir de muestras clínicas**Muestras de orina*

La búsqueda de patógenos en muestras de orina es tan mayoritaria habitualmente en un laboratorio de microbiología que se ha desarrollado un sinnúmero de análisis. Sin embargo, el principal estándar sigue siendo el método clásico de cultivo semicuantitativo en placas, en el que se extiende 1 µl de orina en líneas sobre placas y se incuba durante 18-24 horas. A continuación, se cuentan las colonias para determinar el número total de unidades formadoras de colonias (UFC) por litro de orina. Una infección urinaria (IU) bacteriana se asocia normalmente a un recuento bacteriano de 10<sup>7</sup> UFC/l o más en orina. Sin embargo, son posibles las infecciones con menos de 10<sup>7</sup> UFC/l en orina, especialmente en pacientes con un gran incidencia de enfermedades o en aquellos cateterizados (Stark y Maki, 1984, N. Engl. J. Med. 311:560-564). Es importante el hecho de que aproximadamente un 80% de las muestras de orina analizadas en los laboratorios clínicos de microbiología se consideran negativas (es decir, un recuento bacteriano inferior a 10<sup>7</sup> UFC/l; tabla 3). Las muestras de orina que dan positivo en cultivo se caracterizan además mediante análisis bioquímicos estándar para identificar el patógeno bacteriano y se analizan también en cuanto a la sensibilidad a los antibióticos. El análisis bioquímico y de sensibilidad requiere normalmente 18-24 horas de incubación.

La existencia de métodos de screening de orina precisos y rápidos permitiría una identificación más rápida de las muestras negativas y un tratamiento y una gestión de la asistencia al paciente más eficaces. Se han comparado algunos métodos de identificación rápida (sondas de DNA Flash Track™, UTIscreen™, Uriscree™ y otros) con

métodos bioquímicos estándar más lentos, basados en el cultivo de los patógenos bacterianos. Aunque son mucho más rápidos, estos análisis rápidos presentaban una baja sensibilidad y una mala especificidad, así como un gran número de resultados falso negativo y falso positivo (Koenig y col., 1992, J. Clin. Microbiol. 30:342-345; Pezzio y col., 1992, J. Clin. Microbiol. 30:640-684).

#### *Muestras de sangre*

Las muestras de sangre recibidas en el laboratorio de microbiología se envían siempre para su cultivo. Los sistemas de cultivo de sangre pueden ser manuales, semiautomatizados o completamente automatizados. El sistema BACTEC (de Becton Dickinson) y el sistema BacTAlert (de Organon Teknika Corporation) son los dos sistemas de cultivo de sangre automatizados de uso más extendido. En estos sistemas se incuban frascos de cultivo de sangre en condiciones óptimas para el crecimiento bacteriano. El crecimiento bacteriano se observa de forma continua para detectar positivos anticipados mediante detectores de crecimiento bacteriano de alta sensibilidad. Una vez detectado el crecimiento, se realiza una tinción Gram directamente a partir del cultivo de sangre y a continuación se utiliza para inocular placas de agar nutrientes. Posteriormente se realizan, con sistemas automatizados como los arriba descritos, una identificación bacteriana y un análisis de sensibilidad a partir de las colonias bacterianas aisladas. Normalmente, los frascos se consideran negativos si no se detecta crecimiento después de 6 a 7 días de incubación. Normalmente, la inmensa mayoría de los cultivos de sangre dan negativo. Por ejemplo, el porcentaje de cultivos de sangre negativos en el laboratorio de microbiología del CHUL durante el período de febrero de 1994 a enero de 1995 fue de un 93,1% (tabla 3).

#### *Otras muestras clínicas*

Al recibirse en el laboratorio clínico de microbiología, todos los fluidos corporales que no son ni sangre ni orina y proceden de sitios normalmente estériles (por ejemplo líquido cefalorraquídeo, sinovial, pleural, pericárdico y otros) se procesan para su examen microscópico directo y cultivo subsiguiente. De nuevo, la mayoría de las muestras clínicas dan negativo en el cultivo (tabla 3).

En lo que se refiere a las muestras clínicas que no proceden de sitios estériles, tales como muestras de esputo o heces, el diagnóstico de laboratorio mediante cultivo es más problemático debido a la contaminación por la flora habitual. Los patógenos bacterianos potencialmente asociados a la infección se purifican eliminando los contaminantes y a continuación se identifican como se describe más arriba. Está claro que la detección universal de bacterias no sería útil para el diagnóstico de infecciones bacterianas en estos sitios no estériles. Por otra parte, los ensayos basados en DNA para la detección e identificación de especies o géneros, así como para la detección de genes de resistencia a los antibióticos, a partir de estas muestras resultarían muy útiles y ofrecerían diversas ventajas en comparación con los métodos de identificación y análisis de sensibilidad clásicos.

#### *Ensayos basados en DNA con cualesquiera muestras clínicas*

Existe una clara necesidad de análisis de diagnóstico rápidos y precisos para la detección e identificación bacterianas directamente a partir de muestras clínicas. Las tecnologías basadas en DNA son rápidas y precisas y ofrecen un gran potencial para mejorar el diagnóstico de enfermedades infecciosas (Persing y col., 1993, Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications, American Society for Microbiology, Washington, D.C.). Las sondas de DNA y los cebadores de amplificación objeto de la presente invención son aplicables para la detección y la identificación de bacterias y hongos directamente a partir de cualesquiera muestras clínicas, tales como cultivos de sangre, sangre, orina, esputo, líquido cefalorraquídeo, pus y muestras de otro tipo (tabla 3). Los análisis basados en DNA propuestos en esta invención son superiores, tanto en rapidez como en precisión, a los métodos bioquímicos estándar utilizados actualmente para el diagnóstico rutinario de cualesquiera muestras clínicas en los laboratorios de microbiología. Dado que estos análisis se realizan en aproximadamente sólo una hora, proporcionan a los clínicos nuevas herramientas de diagnóstico que deberían contribuir a aumentar la eficacia de las terapias con agentes antimicrobianos. Con estos ensayos pueden analizarse también muestras clínicas de organismos que no son humanos (por ejemplo otros primates, aves, plantas, mamíferos, animales de granja, ganado y otros).

#### *Un alto porcentaje de muestras negativas en cultivo*

De todas las muestras clínicas recibidas para el diagnóstico de rutina, aproximadamente un 80% de las muestras de orina e incluso más (alrededor de un 95%) de otros tipos de muestras clínicas dan negativo en lo que se refiere a la presencia de patógenos bacterianos (tabla 3). Sería también deseable, además de identificar bacterias a nivel de especie o de género en una muestra dada, cribar la alta proporción de muestras clínicas negativas con un análisis que detectase la presencia de cualquier bacteria (es decir detección bacteriana universal). Un análisis de screening de este tipo podría basarse en la amplificación de DNA mediante PCR de una diana genética hallada en todas las bacterias. Con este ensayo, no se amplificarían las muestras negativas para las bacterias. Por otra parte, con este ensayo, las que diesen positivo para las bacterias proporcionarían una señal de amplificación positiva.

#### *Hacia el desarrollo de un rápido análisis de diagnóstico basado en DNA*

Un análisis de diagnóstico rápido debería tener una repercusión considerable en la gestión de infecciones. La tecnologías de sonda de DNA y amplificación de DNA ofrecen diversas ventajas en comparación con los métodos

convencionales para la identificación de patógenos y genes de resistencia a los antibióticos a partir de muestras clínicas (Persing y col., 1993, Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications, American Society for Microbiology, Washington, D.C.; Ehrlich and Greenberg, 1994, PCR-based Diagnostics in Infectious Disease, Blackwell Scientific Publications, Boston, MA). No es necesario cultivar los patógenos bacterianos, por lo que los organismos pueden detectarse directamente a partir de las muestras clínicas, reduciendo así el tiempo correspondiente al aislamiento y la identificación de patógenos. Además, los ensayos basados en DNA tienen una mayor precisión en la identificación bacteriana que los sistemas de identificación fenotípicos utilizados actualmente, basados en análisis bioquímicos. En los laboratorios clínicos de microbiología se utilizan actualmente tecnologías basadas en DNA comerciales, principalmente para la detección y la identificación de patógenos bacterianos exigentes, tales como *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, así como para la detección de diversos virus (Podzurski y Persing, Molecular detection and identification of microorganisms. En: P. Murray y col., 1995, Manual of Clinical Microbiology, ASM press, Washington D.C.). Existen también otros ensayos basados en DNA comerciales que se utilizan para ensayos de confirmación de cultivo.

Otros han desarrollado ensayos basados en DNA para la detección y la identificación de patógenos bacterianos que son objeto de la presente invención: *Staphylococcus* spp. (patente US 5 437 978), *Neisseria* spp. (patente US 5 162 199 y publicación de patente europea nº EP 0 337 896 131) y *Listeria monocytogenes* (patentes US 5 389 513 y 5 089 386). Sin embargo, los análisis de diagnóstico descritos en estas patentes están basados o bien en genes de rRNA o bien en dianas genéticas diferentes de las descritas en la presente invención.

Aunque existen kits o métodos de diagnóstico ya utilizados en los laboratorios clínicos de microbiología, aún existe la necesidad de una alternativa ventajosa en relación con los métodos de identificación en cultivo convencionales, con el fin de mejorar la precisión y la rapidez del diagnóstico de las infecciones bacterianas comunes. Además de ser mucho más rápidos, los análisis de diagnóstico basados en DNA son más precisos que los análisis bioquímicos estándar utilizados en la actualidad para el diagnóstico, ya que el genotipo bacteriano (por ejemplo nivel de DNA) es más estable que el fenotipo bacteriano (por ejemplo nivel metabólico).

El conocimiento de las secuencias genómicas de las especies bacterianas y fúngicas aumenta continuamente, como atestigua el número de secuencias disponibles en las bases de datos. A partir de las secuencias asequibles en las bases de datos no pueden obtenerse indicios de su potencial con fines diagnósticos. Para determinar quiénes son buenos candidatos con fines de diagnóstico podrían seleccionarse secuencias para ensayos basados en DNA con el fin de (i) la detección y la identificación específicas de especies de patógenos bacterianos o fúngicos comunes, (ii) la detección y la identificación específicas de género de patógenos bacterianos o fúngicos comunes, (iii) la detección universal de patógenos bacterianos o fúngicos y/o (iv) la detección y la identificación específicas de genes de resistencia de los antibióticos. Todos los tipos anteriores de ensayos basados en DNA pueden realizarse directamente a partir de cualquier tipo de muestra clínica o a partir de un cultivo microbiano.

En la publicación de patente WO 96/08502 describíamos secuencias de DNA adecuadas para (i) la detección y la identificación específicas de especie de 12 patógenos bacterianos clínicamente importantes, (ii) la detección universal de bacterias y (iii) la detección de 17 genes de resistencia a los antibióticos. Esta solicitud de patente en tramitación junto con la presente describía secuencias de DNA patentadas y secuencias de DNA seleccionadas de bases de datos (en ambos casos fragmentos de como mínimo 100 pares de bases), así como sondas de oligonucleótidos y cebadores de amplificación procedentes de estas secuencias. Todas las secuencias de ácidos nucleicos descritas en esta solicitud de patente entran en la composición de kits y métodos de diagnóstico capaces de a) detectar la presencia de bacterias, b) detectar específicamente la presencia de 12 especies bacterianas y 17 genes de resistencia a los antibióticos. Sin embargo, estos métodos y kits requieren una mejora, dado que el kit y el método ideales deberían ser capaces de diagnosticar casi el 100% de los patógenos microbianos y de los genes de resistencia a los antibióticos. Por ejemplo, las infecciones causadas por *Enterococcus faecium* se han convertido en un problema clínico debido a su resistencia a muchos antibióticos. Es deseable tanto la detección de estas bacterias como la evaluación de sus perfiles de resistencia. Conviene señalar que la publicación de patente francesa FR-A-2,699,539 describe la secuencia del gen de la vancomicina B, gen que puede obtenerse de cepas de *Enterococcus faecium* resistentes a este antibiótico. Además de esto, también son deseables nuevas secuencias de DNA (sondas y cebadores) capaces de reconocer los mismos patógenos microbianos y otros adicionales, o los mismos genes de resistencia a los antibióticos y otros adicionales, con el fin de detectar más genes diana y complementar nuestra solicitud de patente anterior.

El documento US-A-5,523,205 revela la detección de *Listeria monocytogenes* empleando cebadores obtenidos del gen hlyA tomado de la secuencia que codifica Listeriolisina O.I.

El documento FR-A-2 699 539 revela el gen de la vancomicina B y la proteína de *Enterococcus faecalis* V583.

## Descripción de la invención

Un objeto de la presente invención es proporcionar un método específico, ubicuo y sensible que utiliza sondas y/o cebadores de amplificación para determinar la presencia y/o la cantidad de ácidos nucleicos según se define en las reivindicaciones 1 a 16.

En una forma de realización específica, el método hace uso de fragmentos de DNA (fragmentos patentados y fragmentos obtenidos de bases de datos) seleccionados por su capacidad para detectar de forma sensible, específica y ubicua los ácidos nucleicos bacterianos o fúngicos establecidos como objetivo.

- 5 En una forma de realización especialmente preferente se han derivado de los fragmentos de DNA más largos oligonucleótidos de como mínimo 12 nucleótidos de longitud, que se han utilizado en el presente método como sondas o cebadores de amplificación.

Los oligonucleótidos patentados (sondas y cebadores) son también otro objeto de la invención.

10

También son objeto de la presente invención kits de diagnóstico que comprenden sondas o cebadores de amplificación para la detección de una especie o género microbiano seleccionado(a) del grupo consistente en especies de *Streptococcus*, *Streptococcus agalactiae*, especies de *Staphylococcus*, *Staphylococcus saprophyticus*, especies de *Enterococcus*, *Enterococcus faecium*, especies de *Neisseria*, *Neisseria meningitidis*, *Listeria monocytogenes*, especies de *Candida* y *Candida albicans*.

15

También son objeto de esta invención kits de diagnóstico que comprenden además sondas o cebadores de amplificación para la detección de un gen de resistencia a los antibióticos seleccionado del grupo consistente en *bla<sub>tem</sub>*, *bla<sub>rob</sub>*, *bla<sub>shv</sub>*, *bla<sub>oxa</sub>*, *bla<sub>Z</sub>*, *aadB*, *aacC1*, *aacC2*, *aacC3*, *aacA4*, *aac6'-IIa*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *mecA*, *vanA*, *vanB*, *vanC*, *sat4*, *aac(6')-aph(2'')*, *aad(6')*, *vat*, *vga*, *msrA*, *sul* e *int*.

20

También son objeto de esta invención kits de diagnóstico que comprenden además sondas o cebadores de amplificación para la detección de cualquier especie bacteriana o fúngica, además comprendiendo o no comprendiendo sondas y cebadores para los genes de resistencia a los antibióticos arriba enumerados.

25

En una forma de realización preferente, dicho kit permite la detección y la identificación, por separado o simultáneamente, de las especies o géneros microbianos y los genes de resistencia a los antibióticos arriba enumerados y la detección de cualquier bacteria.

30

En los métodos y kits arriba indicados, las reacciones de amplificación pueden incluir a) reacción en cadena de la polimerasa (PCR), b) reacción en cadena de la ligasa, c) amplificación basada en secuencias de ácido nucleico, d) replicación de secuencia autosostenida, e) amplificación de desplazamiento de cadena, f) amplificación de señal de DNA ramificado, g) amplificación mediada por transcripción, h) tecnología de sonda de ciclo (CPT), i) PCR anidada o j) PCR multiplex.

35

En una forma de realización preferente se utiliza un protocolo PCR como reacción de amplificación.

En una forma de realización especialmente preferente se proporciona un protocolo PCR que comprende, para cada ciclo de amplificación, una etapa de emparejamiento de 30 segundos a 45-55°C y una etapa de desnaturalización de sólo un segundo a 95°C, sin dejar tiempo específico para la etapa de elongación. Este protocolo PCR se ha normalizado para que sea adecuado en reacciones PCR con todos los pares de cebadores seleccionados, lo que facilita enormemente el análisis, ya que todas las muestras clínicas pueden analizarse con cebadores PCR universales, específicos de especie, específicos de género y de gen de resistencia a los antibióticos bajo condiciones de ciclo uniformes. Además, en los ensayos PCR multiplex pueden utilizarse diversas combinaciones de pares de cebadores.

45

Nuestro objetivo es desarrollar un análisis o kit rápido para descartar rápidamente todas las muestras negativas en lo que se refiere a células bacterianas y posteriormente detectar e identificar las especies y géneros bacterianos y/o fúngicos arriba indicados y determinar rápidamente la resistencia bacteriana a antibióticos. Aunque las secuencias de los genes de resistencia a los antibióticos seleccionados están disponibles en bases de datos y se han utilizado para desarrollar análisis basados en DNA para su detección, nuestro planteamiento es único porque representa una mejora de enorme importancia en relación con los métodos de diagnóstico basados en cultivos bacterianos, actualmente el principal estándar. Utilizando un método de amplificación para la detección e identificación bacterianas simultáneas y la detección de genes de resistencia a los antibióticos, no es necesario cultivar la muestra clínica antes de analizarla. Además, se ha desarrollado un protocolo PCR modificado para detectar todas las secuencias de DNA diana en aproximadamente una hora bajo condiciones de amplificación uniformes. Este procedimiento salvará vidas gracias a la optimización del tratamiento, disminuirá la resistencia a los antibióticos porque se recetarán menos antibióticos, reducirá el uso de antibióticos de amplio espectro, que son caros, disminuirá los gastos globales de asistencia sanitaria, evitando o acortando las hospitalizaciones, y disminuirá el tiempo y los gastos asociados al análisis de los laboratorios clínicos.

60

En los métodos y kits descritos más abajo, las sondas de oligonucleótido y los cebadores de amplificación se han obtenido de secuencias más grandes (es decir fragmentos de DNA de como mínimo 100 pares de bases). Todos los fragmentos de DNA se han obtenido bien de fragmentos patentados o bien de bases de datos. Los fragmentos de DNA seleccionados de bases de datos se utilizan por vez primera en un método de detección según la presente invención, dado que se han seleccionado por su potencial para el diagnóstico.

65

Para el experto en la materia es evidente que de los fragmentos patentados o las secuencias de base de datos seleccionadas pueden obtenerse otras secuencias de oligonucleótidos apropiadas para (i) la detección bacteriana universal,

(ii) la detección e identificación de las especies y los géneros microbianos arriba indicados y (iii) la detección de genes de resistencia a antibióticos distintos a los enumerados en el anexo VI. Por ejemplo, las sondas o los cebadores de oligonucleótidos pueden ser más cortos o más largos que los elegidos; también pueden seleccionarse en alguna otra parte de los fragmentos de DNA patentados o de las secuencias seleccionadas de bases de datos; también pueden ser variantes del mismo oligonucleótido. Si el DNA diana o una variante del mismo se hibrida con un oligonucleótido determinado, o si el DNA diana o una variante del mismo puede amplificarse mediante un par de cebadores de PCR de oligonucleótidos determinados, la proposición recíproca también es verdad: un DNA diana determinado puede hibridarse con una variante de sonda de oligonucleótido o amplificarse mediante una variante de cebador PCR de oligonucleótido. Como alternativa, los oligonucleótidos pueden diseñarse a partir de cualesquiera secuencias de fragmentos de DNA para su uso en métodos de amplificación distintos a PCR. Por consiguiente, la esencia de esta invención es la identificación de fragmentos de DNA genómicos o no genómicos universales, específicos de especie, específicos de género y específicos de gen de resistencia, que se utilizan como fuente de sondas de oligonucleótido y/o cebadores de amplificación específicos(as) y ubicuos(as). Aunque la selección y evaluación de los oligonucleótidos adecuados para fines de diagnóstico requiere mucho esfuerzo, para el experto en la materia es muy posible obtener, a partir de los fragmentos de DNA seleccionados, oligonucleótidos distintos a los enumerados en el anexo VI adecuados para fines de diagnóstico. Si un fragmento patentado o una secuencia de base de datos se selecciona por su especificidad y ubicuidad, aumenta la probabilidad de que los subconjuntos del mismo o de la misma sean también específicos y ubicuos.

Dado que un gran porcentaje de las muestras clínicas dan negativo en lo que se refiere a las bacterias (tabla 3), se seleccionaron, a partir de secuencias patentadas y procedentes de bases de datos, fragmentos de DNA con un alto potencial para la selección de sondas o cebadores de oligonucleótido universales. Los cebadores de amplificación se seleccionan a partir de un gen altamente conservado en bacterias y hongos y se utilizan para detectar la presencia de cualquier patógeno bacteriano en muestras clínicas con el fin de determinar rápidamente (aproximadamente en una hora) si la muestra en cuestión da positivo o negativo en cuanto a bacterias. El gen seleccionado, designado *tuf*, codifica una proteína (EF-Tu) involucrada en el proceso de traducción durante la síntesis proteínica. En las alineaciones de secuencias del gen *tuf* utilizadas para obtener los cebadores universales se incluyen secuencias tanto patentadas como procedentes de bases de datos (ejemplo 1 y anexo I). Esta estrategia permite el cribado rápido de las numerosas muestras clínicas negativas (alrededor de un 80% de las muestras recibidas, véase la tabla 3) presentadas para su análisis bacteriológico. Las tablas 4, 5 y 6 proporcionan una lista de las especies bacterianas o fúngicas utilizadas para analizar la especificidad de los cebadores PCR y las sondas de DNA. La tabla 7 incluye una breve descripción de todos los ensayos específicos de especie, específicos de género y universales objeto de la presente invención. Las tablas 8, 9 y 10 proporcionan información importante sobre las secuencias patentadas y procedentes de bases de datos seleccionadas con fines de diagnóstico.

### Descripción detallada de la invención

*Desarrollo de sondas de DNA y cebadores de amplificación específicos de especie, específicos de género, universales y específicos de gen de resistencia a antibióticos para microorganismos*

*Selección de secuencias adecuadas para fines de diagnóstico en bases de datos*

Con el fin de seleccionar las secuencias adecuadas para la detección y la identificación específicas de especie o específicas de género de bacterias y hongos o, como alternativa para la detección universal de bacterias, se seleccionaron secuencias de bases de datos (GenBank, EMBL y Swiss-Prot) en base a su potencial para fines de diagnóstico, según la información de las secuencias y los análisis informáticos realizados con estas secuencias. Inicialmente se analizaron cuidadosamente todos los datos de secuencias disponibles para las especies o los géneros microbianos establecidos como objetivo. Se seleccionaron para el análisis PCR las secuencias génicas que, en base a la información de las secuencias y la comparación de las secuencias con el gen correspondiente de otras especies o géneros microbianos, realizada con los programas del Genetics Computer Group (GCG, Wisconsin), parecían ser las más prometedoras para fines diagnósticos. De las secuencias de bases de datos seleccionadas se eligieron los cebadores de amplificación PCR óptimos mediante el software de análisis de cebadores Oligo™ 4.0 (National Biosciences Inc., Plymouth, Minn.). Los cebadores elegidos se analizaron en ensayos PCR en cuanto a su especificidad y ubicuidad para las especies o los géneros microbianos diana. En general, la identificación de las secuencias de bases de datos a partir de las cuales se seleccionaron los cebadores de amplificación adecuados para la detección e identificación específicas de especie o específicas de género supuso un análisis informático y un análisis PCR de diversas secuencias génicas candidatas antes de obtener un par de cebadores específico y ubicuo para las especies o los géneros microbianos diana. El anexo VI muestra la lista de pares de cebadores PCR específicos y ubicuos seleccionados. Los anexos I a V y los ejemplos 1 a 4 ilustran la estrategia utilizada para seleccionar cebadores PCR específicos de género, específicos de especie y universales a partir de las secuencias de *tuf* o a partir del gen *recA*.

*Cebadores de oligonucleótido y diseño y síntesis de sondas*

Los fragmentos de DNA secuenciados por nosotros o seleccionados de bases de datos (GenBank y EMBL) se utilizaron como fuente de oligonucleótidos con fines de diagnóstico. Para esta estrategia se analizó, en cuanto a su especificidad y ubicuidad, por PCR y ensayos de hibridación descritos más abajo, una serie de sondas o cebadores de oligonucleótido adecuados procedentes de diversos fragmentos de DNA genómicos (tamaño superior a 100 pb) seleccionados de bases de datos. Es importante señalar que las secuencias de bases de datos se seleccionaron en base a

su potencial para ser específicas de especie, específicas de género o universales para la detección de bacterias u hongos, de acuerdo con la información disponible de las secuencias y exhaustivos análisis y que, en general, se tuvieron que analizar varias secuencias de base de datos candidatas para obtener la especificidad, ubicuidad y sensibilidad deseadas.

Las sondas y los cebadores de amplificación de oligonucleótidos procedentes de fragmentos específicos de especie seleccionados de secuencias de bases de datos se sintetizaron con un sintetizador de DNA automatizado (Perkin-Elmer Corp., Applied Biosystems Division). Antes de la síntesis, se evaluaron todos los oligonucleótidos (sondas para hibridación y cebadores para la amplificación de DNA) en cuanto a su idoneidad para la hibridación o la amplificación de DNA mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) por medio de análisis informáticos, en los que se utilizaron programas estándar (esto es programas de Genetics Computer Group (GCG) y el software de análisis de cebadores Oligo™ 4.0). La idoneidad potencial de los pares de cebadores de PCR se evaluó también antes de la síntesis, comprobando la ausencia de características no deseadas tales como elongaciones grandes de un nucleótido y una gran proporción de residuos de G o C en el extremo 3' (Persing y col. 1993, Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications, American Society for Microbiology, Washington, D.C.).

Los cebadores o las sondas de oligonucleótidos pueden proceder de cualquiera de las dos cadenas del DNA de doble hebra. Los cebadores o las sondas pueden constar de las bases A, G, C o T o análogas y pueden degenerarse en una o más posiciones de nucleótido escogidas. Los cebadores o las sondas pueden tener cualquier longitud adecuada y pueden seleccionarse en cualquier parte de las secuencias de DNA procedentes de fragmentos patentados o de secuencias de bases de datos seleccionadas, adecuadas para (i) la detección universal de bacterias, (ii) la detección y la identificación específicas de especie de *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae* y *Candida albicans*, (iii) la detección específica de género de especies de *Streptococcus*, especies de *Enterococcus*, especies de *Staphylococcus* y especies de *Neisseria* o (iv) la detección de los 26 genes de resistencia a los antibióticos clínicamente relevantes arriba mencionados.

Las variantes para un gen bacteriano diana determinado se dan de forma natural y son atribuibles a la variación de secuencias dentro del gen en cuestión durante la evolución (Watson y col., 1987, Molecular Biology of the Gene, 4ª ed., The Benjamin/Cummings Publishing Company, Menlo Park, CA; Lewin, 1989, Genes IV, John Wiley & Sons, Nueva York, NY). Por ejemplo, distintas cepas de la misma especie bacteriana pueden tener una o más variaciones de nucleótidos en el sitio de hibridación del oligonucleótido. El técnico en la materia conoce bien la existencia de variantes de secuencias de DNA bacterianas o fúngicas para un gen específico y el hecho de que la frecuencia de las variaciones en las secuencias depende de la presión selectiva durante la evolución sobre un producto génico determinado. La detección de una secuencia variante para una región entre dos cebadores PCR puede comprobarse secuenciando el producto de amplificación. Para demostrar la presencia de variantes de secuencia en el sitio de hibridación del cebador se ha de amplificar una diana de DNA mayor con cebadores PCR fuera de dicho sitio de hibridación. La secuenciación de este fragmento de mayor tamaño permitirá detectar la variación de secuencia en este sitio. Una estrategia similar puede aplicarse para comprobar variantes en el sitio de hibridación de una sonda. En la medida en que la divergencia entre las secuencias diana o una parte de las mismas no afecta a la especificidad y a la ubicuidad de los cebadores de amplificación o las sondas, el DNA bacteriano variante se halla dentro del alcance de esta invención. Las variantes de las sondas o cebadores seleccionados pueden utilizarse también para amplificar o hibridar un DNA variante.

#### *Secuenciación de secuencias de tuf a partir de diversas especies bacterianas y fúngicas*

Se determinó la secuencia de nucleótidos de una porción de genes *tuf* para diversas especies bacterianas y fúngicas. Para la secuenciación de las secuencias de *tuf* bacteriano se utilizaron los cebadores de amplificación SEQ ID NOs: 107 y 108, que amplifican una porción del gen *tuf* de aproximadamente 890 pb. Para la secuenciación de secuencias de *tuf* fúngico se utilizaron los cebadores de amplificación SEQ ID NOs: 109 y 172, que amplifican una porción del gen *tuf* de aproximadamente 830 pb. Ambos pares de cebadores pueden amplificar genes *tufA* y *tufB*. Esto no es sorprendente, puesto que estos dos genes son casi idénticos. Por ejemplo, los genes *tufA* y *tufB* completos de *E. coli* difieren en sólo 13 posiciones de nucleótidos (Neidhardt y col., 1996, *Escherichia coli* and Salmonella: Cellular and Molecular Biology, 2ª ed., American Society for Microbiology Press, Washington, D.C.). Estos cebadores de amplificación están degenerados en varias posiciones de nucleótido y contienen inosinas para permitir la amplificación de una gran variedad de secuencias de *tuf*. La estrategia utilizada para seleccionar estos cebadores de amplificación es similar a la ilustrada en el anexo I para la selección de cebadores universales. Los cebadores de amplificación SEQ ID NOs: 107 y 108 podrían utilizarse para amplificar los genes *tuf* de cualquier especie bacteriana. Los cebadores de amplificación SEQ ID NOs: 109 y 172 podrían utilizarse para amplificar los genes *tuf* de cualquier especie fúngica.

Los genes *tuf* se amplificaron directamente a partir de cultivos bacterianos o de levaduras mediante el siguiente protocolo de amplificación: se transfirió un  $\mu$ l de suspensión celular directamente a 19  $\mu$ l de una mezcla de reacción PCR que contenía KCl 50 mM, Tris-HCl 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%, MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM, 1  $\mu$ M de cada uno de los 2 cebadores, 200  $\mu$ M de cada uno de los cuatro dNTP, 0,5 unidades de *Taq* DNA polimerasa (Promega Corp., Madison, WI). Las reacciones PCR se sometieron a ciclación usando un termociclador MJ Research PTC-200 (MJ Research Inc., Watertown, Mass.) de la siguiente manera: 3 minutos a 96°C seguidos de 30-35 ciclos de 1 minuto a 95°C para la etapa de desnaturalización, 1 minuto a 30-50°C para la etapa de emparejamiento y 1 minuto a 72°C para la etapa de elongación. Posteriormente se resolvieron veinte microlitros de la mezcla amplificada por PCR mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1,5%. A continuación, se visualizó el gel mediante una tinción con azul de metileno (Flores y col., 1992 Biotechniques, 13: 203-205). El tamaño de los productos de amplificación se estimó mediante comparación con una escalera de peso molecular de 100 pb. La banda correspondiente al producto de amplificación

específico (es decir aproximadamente 890 u 830 pb para secuencias de *tuf* bacterianas o fúngicas respectivamente) se escindió del gel de agarosa y se purificó mediante el kit de extracción de gel OIAquick™ (QIAGEN Inc., Chatsworth, CA). A continuación se utilizó el fragmento de DNA purificado con gel directamente en el protocolo de secuenciación. Ambas cadenas del producto de amplificación de genes *tuf* se secuenciaron mediante el método de secuenciación de terminación de cadena de didesoxinucleótido utilizando un secuenciador de DNA automatizado de Applied Biosystems (modelo 373A) con su PRISM™ Sequenase® Terminator Double-stranded DNA Sequencing Kit (Perkin-Elmer Corp., Applied Biosystems Division, Foster City, CA). Todas las reacciones de secuenciación se realizaron usando los cebadores de amplificación (SEQ ID NO s: 107, 109 y 172) y 100 ng por reacción de amplicón purificado con gel. Para asegurar que la secuencia determinada no contuviese errores atribuibles a la secuenciación de los artefactos de PCR, se secuenciaron dos preparaciones del producto de amplificación de *tuf* purificado con gel procedentes de dos amplificaciones PCR independientes. Para todas las especies microbianas diana, las secuencias determinadas para ambas preparaciones de amplicón fueron idénticas. Además, las secuencias de ambas cadenas eran 100% complementarias, confirmando así la gran precisión de la secuencia determinada. Todas las secuencias de *tuf* determinadas mediante la estrategia anterior se encuentran en la lista de secuencias (es decir SEQ ID NO s: 118 a 146). La tabla 13 indica las especies microbianas de origen y la procedencia de cada secuencia de *tuf* de la lista de secuencias.

La alineación de las secuencias de *tuf* determinadas por nosotros o seleccionadas de bases de datos revela claramente que la longitud de la porción secuenciada de los genes *tuf* es variable. Puede haber inserciones o deleciones de varios aminoácidos. Esto explica por qué el tamaño del producto de amplificación de *tuf* secuenciado era variable tanto para las especies bacterianas como para las especies fúngicas. Entre las secuencias de *tuf* determinadas por nuestro grupo encontramos inserciones y deleciones que sumaban hasta 5 aminoácidos o 15 nucleótidos. Por consiguiente, las posiciones de nucleótido indicadas en la parte superior de cada uno de los anexos I a V no se corresponden con secuencias de *tuf* con inserciones o deleciones.

Habría que señalar también que las diversas secuencias de *tuf* por nosotros determinadas contenían ocasionalmente degeneraciones. Estos nucleótidos degenerados corresponden a variaciones de secuencia entre los genes *tufA* y *tufB*, ya que los cebadores de amplificación amplifican ambos genes *tuf*. Estas variaciones de nucleótidos no son atribuibles a errores de incorporación de nucleótidos por la *taq* DNA polimerasa, ya que las secuencias de ambas cadenas eran idénticas y también porque las secuencias determinadas con ambas preparaciones de los amplicones de *tuf* purificados con gel eran idénticas.

#### *Selección de cebadores de amplificación a partir de secuencias de tuf*

Las secuencias de *tuf* determinadas por nosotros o seleccionadas de bases de datos se utilizaron para seleccionar cebadores de PCR para (i) la detección universal de bacterias, (ii) la detección y la identificación específicas de género de *Enterococcus* spp. y *Staphylococcus* spp. y (iii) la detección y la identificación específicas de la especie *Candida albicans*. La estrategia utilizada para seleccionar estos cebadores PCR estaba basada en el análisis de alineaciones múltiples de diversas secuencias de *tuf*. Para más detalles sobre la selección de los cebadores PCR a partir de las secuencias de *tuf*, consultar los ejemplos 1 a 3 y a los anexos I a IV.

#### *Selección de cebadores de amplificación a partir de recA*

La comparación de la secuencia de nucleótidos para el gen *recA* de diversas especies bacterianas, entre las que se incluían 5 especies de estreptococos, permitió la selección de cebadores PCR específicos para *Streptococcus*. Para más detalles sobre la selección de cebadores de PCR a partir de *recA*, consultar el ejemplo 4 y el anexo V.

#### *Aislamiento de fragmentos de DNA de Staphylococcus saprophyticus mediante PCR con cebado aleatorio*

Se obtuvieron secuencias de DNA con un potencial de codificación desconocido para la detección e identificación específicas de la especie *Staphylococcus saprophyticus* mediante el método de PCR con cebado aleatorio (AP-PCR).

La AP-PCR es un método que puede utilizarse para generar sondas de DNA específicas para microorganismos (Fani y col., 1993, Mol. Ecol. 2:243-250). A continuación se expone una descripción del protocolo AP-PCR utilizado para aislar, a partir de *Staphylococcus saprophyticus*, un fragmento de DNA genómico específico de la especie. Se analizaron sistemáticamente veinte cebadores de oligonucleótidos diferentes de 10 nucleótidos de longitud (incluidos todos ellos en el kit para AP-PCR OPAD (Operon Technologies Inc., Alameda, CA)) con DNA de 3 cepas bacterianas de *Staphylococcus saprophyticus* (todas obtenidas de la American Type Culture Collection (ATCC): números 15305, 35552 y 43867), así como con DNA de otras cuatro especies de estafilococo (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Staphylococcus haemolyticus* ATCC 29970 y *Staphylococcus hominis* ATCC 35982). Para todas las especies bacterianas se realizó la amplificación a partir de una suspensión bacteriana ajustada a un estándar 0,5 McFarland, que corresponde a aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  bacterias/ml. Se transfirió un  $\mu$ l de la suspensión bacteriana normalizada directamente a 19  $\mu$ l de una mezcla de reacción PCR que contenía KCl 50 mM, Tris-HCl 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%,  $MgCl_2$  2,5 mM, 1,2  $\mu$ M de sólo uno de los 20 cebadores de AP-PCR OPAD diferentes, 200  $\mu$ M de cada uno de los cuatro dNTP y 0,5 unidades de *Taq* DNA polimerasa (Promega Corp., Madison, WI). Las reacciones PCR se sometieron a una ciclación en un termociclador MJ Research PTC-200 (MJ Research Inc.) de la siguiente manera: 3 minutos a 96°C seguidos de 35 ciclos de 1 minuto a 95°C para la etapa de desnaturalización, 1 minuto a 32°C para la etapa de emparejamiento y 1 minuto a 72°C para la etapa de elongación. Se realizó una etapa final de extensión de 7 minutos a 72°C después de los 35 ciclos para asegurar la extensión completa



de los productos PCR. Posteriormente se resolvieron veinte microlitros de la mezcla amplificada por PCR mediante electroforesis en un gel de agarosa al 2% que contenía 0,25 µg/ml de bromuro de etidio. El tamaño de los productos de amplificación se estimó mediante comparación con una escalera de peso molecular de 50 pb.

- 5 Se observaron patrones de amplificación específicos para *Staphylococcus saprophyticus* con el cebador de AP-PCR OPAD-9 (SEQ ID NO: 25). La amplificación con este cebador mostraba sistemáticamente una banda correspondiente a un fragmento de DNA de aproximadamente 450 pb para todas las cepas de *Staphylococcus saprophyticus* analizadas, pero en ningún caso para las otras cuatro especies de estafilococo analizadas. Este patrón específico de especie se confirmó analizando 10 aislados clínicos más de *S. saprophyticus* seleccionados de la colección de cultivos del laboratorio de microbiología del CHUL, así como cepas seleccionadas de las especies bacterianas gram-positivas indicadas en la tabla 5.

- 15 La banda correspondiente al amplicón de aproximadamente 450 pb, que era específica y ubicua para *S. saprophyticus* en base a la AP-PCR, se escindió del gel de agarosa y se purificó con el kit de extracción de gel OIAquick™ (QIAGEN Inc.). El fragmento de DNA purificado con gel se clonó en el sitio de clonación T/A del vector plásmido pCR 2.1™ (Invitrogen Inc.) usando T4 DNA-ligasa (New England BioLabs). Los plásmidos recombinantes se transformaron en células competentes de *E. coli* DH5α mediante procedimientos estándar. El aislamiento del DNA plásmido se realizó por el método de Bimboim y Doly (Nucleic Acids Res. 7:1513-1523) para preparaciones a pequeña escala. Todas las preparaciones de DNA plásmido se digirieron con la endonucleasa de restricción *EcoRI* para asegurar la presencia del inserto de AP-PCR de aproximadamente 450 pb en los plásmidos recombinantes. Posteriormente se realizó una preparación de DNA plásmido a gran escala y altamente purificado a partir de dos clones seleccionados, que según se había comprobado llevaban el inserto de AP-PCR, por medio del kit de purificación de plásmidos QIAGEN. Estas preparaciones plasmídicas se utilizaron para la secuenciación de DNA automatizada.

- 25 Las dos cadenas del inserto de AP-PCR procedente de los dos clones seleccionados se secuenciaron por el método de secuenciación de terminación de cadena de dideoxinucleótido con los cebadores de secuenciación SP6 y T7, mediante un secuenciador de DNA automatizado de Applied Biosystems según se describe más arriba. El análisis de las secuencias obtenidas reveló que las secuencias de DNA para ambas cadenas de cada clon eran 100% complementarias. Además, demostró que las secuencias completas determinadas para cada clon eran ambas idénticas. Estos datos de secuenciación confirman el 100% de precisión para la secuencia de 438 pb determinada (SEQ ID NO: 29). Mediante el software de análisis de cebadores Oligo™ 4.0, se seleccionaron cebadores de amplificación óptimos a partir del fragmento de DNA de *Staphylococcus saprophyticus* de AP-PCR secuenciado. Las secuencias de cebador seleccionadas se analizaron en ensayos PCR para comprobar su especificidad y ubicuidad (tabla 7). Estos cebadores de PCR eran específicos, ya que no había amplificación con DNA de especies bacterianas distintas de las *S. saprophyticus* seleccionadas de las tablas 4 y 5. Además, este ensayo por PCR fue ubicuo, ya que con el mismo se amplificaron eficazmente 245 de 260 cepas de *S. saprophyticus*. Utilizado en combinación con otro ensayo de PCR específico de *S. saprophyticus*, que es objeto de nuestra solicitud de patente pendiente U.S. (N.S. 08/526,840) y PCT (PCT/CA/95/00528) junto con la presente, la ubicuidad alcanza el 100% para estas 260 cepas.

#### 40 Amplificación de DNA

- Para la amplificación de DNA por el ampliamente utilizado método de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), se obtuvieron pares de cebadores a partir de fragmentos de DNA patentados o de secuencias procedentes de bases de datos. Antes de la síntesis, se analizaron los pares de cebadores potenciales con el software Oligo™ 4.0 con el fin de comprobar que fueran buenos candidatos para la amplificación por PCR.

- 50 Durante la amplificación del DNA por PCR se utilizan dos cebadores de oligonucleótido que se unen respectivamente a cada cadena del DNA diana desnaturalizado con calor procedente del genoma bacteriano, con el fin de amplificar *in vitro*, de manera exponencial, el DNA diana mediante ciclos térmicos sucesivos que permiten la desnaturalización del DNA, el emparejamiento de los cebadores y la síntesis de nuevas dianas en cada ciclo (Persing y col., 1993, Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications, American Society for Microbiology, Washington, D.C.).

- En resumen, los protocolos de PCR fueron como sigue: se amplificaron muestras clínicas tratadas o suspensiones bacterianas o fúngicas normalizadas (véase más abajo) en 20 µl de una mezcla de reacción PCR que contenía KCl 50 mM, Tris-HCl 10 mM (pH 9,0), MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM, 0,4 µM de cada cebador, 200 µM de cada uno de los cuatro dNTP y 0,5 unidades de *Taq* DNA-polimerasa (Promega), combinada con el anticuerpo TaqStart™ (Clontech Laboratories Inc., Palo Alto, CA). El anticuerpo TaqStart™, que es un anticuerpo monoclonal neutralizador de la *Taq* DNA-polimerasa, se añadió a todas las reacciones PCR para aumentar la especificidad y la sensibilidad de las amplificaciones (Kellogg y col., 1994, Biotechniques 16:1134-1137). El tratamiento de las muestras clínicas varía con el tipo de muestra analizada, dado que la composición y el nivel de sensibilidad requeridos son distintos para cada tipo de muestra. Consiste en un protocolo rápido para lisar las células bacterianas y eliminar los efectos de inhibición de la PCR (véase el ejemplo 11 de una preparación de muestra de orina). Para la amplificación a partir de cultivos bacterianos o fúngicos, las muestras se añadieron directamente a la mezcla de amplificación PCR sin ninguna etapa de tratamiento previo (véase el ejemplo 10). Se utilizaron secuencias de cebador obtenidas de regiones altamente conservadas del gen de RNA ribosómico 16S bacteriano con el fin de proporcionar un control interno para todas las reacciones PCR. Como alternativa, el control interno se obtuvo de secuencias que no se hallan en microorganismos ni en el genoma humano. El control interno se integró en todas las reacciones de amplificación para comprobar la eficacia de los ensayos PCR y asegurar la ausencia

de una inhibición de PCR significativa. El control interno obtenido de rRNA resultó útil también para controlar la eficacia de los protocolos de lisis bacteriana.

A continuación, se sometieron las reacciones PCR a una ciclación térmica (3 minutos a 95°C, seguidos de 30 ciclos de 1 segundo a 95°C para la etapa de desnaturalización y 30 segundos a 55°C para la etapa de emparejamiento-extensión) con un termociclador PTC-200 (MJ Research Inc.) y posteriormente se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio estándar. El número de ciclos realizados para los ensayos PCR varía según el nivel de sensibilidad requerido. Por ejemplo, el nivel de sensibilidad requerido para la detección microbiana directamente a partir de muestras clínicas es mayor para las muestras de sangre que para las muestras de orina, ya que la concentración de microorganismos asociada a la septicemia puede ser mucho menor que la asociada a una infección del aparato urinario. Por consiguiente, para la detección directa en muestras de sangre se requieren ensayos PCR más sensibles con más ciclos térmicos. De modo similar, los ensayos PCR realizados directamente a partir de cultivos bacterianos o fúngicos pueden ser menos sensibles que los ensayos PCR realizados directamente a partir de muestras clínicas, ya que el número de organismos diana es normalmente mucho menor en las muestras clínicas que en los cultivos microbianos.

Es evidente que pueden utilizarse otros métodos para la detección de productos de amplificación específica, que pueden ser más rápidos y prácticos para el diagnóstico de rutina. Tales métodos pueden estar basados en la detección de fluorescencia después de la amplificación (por ejemplo sistema TaqMan™ de Perkin Elmer o Amplisensor™ de Bionics). Los métodos basados en la detección de fluorescencia son particularmente prometedores para la utilización en diagnósticos de rutina, ya que son muy rápidos, cuantitativos y pueden automatizarse (ejemplo 14).

La detección y la identificación de patógenos microbianos pueden realizarse también mediante una hibridación en soporte sólido o en líquido, utilizando sondas de DNA internas específicas de especie que hibriden un producto de amplificación. Tales sondas pueden generarse a partir de cualesquiera productos de amplificación de DNA específicos de especie o específicos de género objeto de la presente invención. Como alternativa, las sondas internas para la detección e identificación de especies o géneros pueden obtenerse de los amplicones producidos mediante el ensayo de amplificación universal. Las sondas de oligonucleótido pueden marcarse con biotina o con digoxigenina o con cualesquiera otras moléculas reporter.

Para asegurar la eficacia de la PCR puede utilizarse glicerol, dimetilsulfóxido (DMSO) u otros disolventes afines, con el fin de aumentar la sensibilidad de la PCR y superar los problemas asociados a la amplificación de un DNA diana con un alto contenido en GC o que forma fuertes estructuras secundarias (Dieffenbach y Dveksier, 1995, PCR Primer: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, Nueva York). Los rangos de concentración para el glicerol y el DMSO son 5-15% (v/v) y 3-10% (v/v) respectivamente. Para la mezcla de reacción PCR, los rangos de concentración para los cebadores de amplificación y MgCl<sub>2</sub> son 0,1-1,5 μM y 1,5-3,5 mM respectivamente. También pueden utilizarse modificaciones del protocolo de PCR estándar utilizando cebadores externos y anidados (es decir PCR anidada) o utilizando más de un par de cebadores (es decir PCR multiplex) (Persing y col., 1993, Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications, American Society for Microbiology, Washington, D.C.). Para más detalles sobre los protocolos PCR y de detección de amplicones, véanse los ejemplos 9 a 14.

El técnico en la amplificación de DNA ya conoce la existencia de otros procedimientos de amplificación rápidos, tales como la reacción en cadena de la ligasa (LCR), la amplificación mediada por transcripción (TMA), la replicación de secuencia autosostenida (3SR), la amplificación basada en secuencias de ácido nucleico (NASBA), la amplificación de desplazamiento de cadena (SDA), DNA ramificado (bdNA) y la tecnología de sonda de ciclo (CPT) (Lee y col., 1997 Nucleic Acid Amplification Technologies: Application to Disease Diagnosis, Eaton Publishing, Boston, MA; Persing y col., 1993, Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications, American Society for Microbiology, Washington, D.C.). El alcance de esta invención no está limitado al uso de la amplificación PCR, sino que incluye el uso de cualquier método de amplificación de ácido nucleico rápido o cualquier otro procedimiento que pueda utilizarse para aumentar la rapidez y la sensibilidad de los análisis. También se hallan dentro del alcance de esta invención todos los oligonucleótidos adecuados para la amplificación de ácidos nucleicos mediante planteamientos distintos a la PCR y obtenidos a partir de los fragmentos de DNA específicos de especie, específicos de género y universales, así como a partir de las secuencias de genes de resistencia a los antibióticos seleccionados incluidos(as) en este documento.

#### Ensayos de hibridación con sondas de oligonucleótido

En los experimentos de hibridación, los oligonucleótidos de cadena simple (tamaño inferior a 100 nucleótidos) tienen algunas ventajas en relación con las sondas de fragmentos de DNA para la detección de bacterias, tales como la facilidad de síntesis en grandes cantidades, la uniformidad de los resultados de un lote a otro y la estabilidad química. En resumen, para las hibridaciones, los oligonucleótidos se marcaron en el extremo 5' con el radionucleótido γ-<sup>32</sup>P (dATP) utilizando T4 polinucleótido-quinasa (Pharmacia) (Sambrook y col., 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY). El radionucleótido no incorporado se eliminó haciendo pasar el oligonucleótido marcado a través de una columna Sephadex G-50™. Como alternativa, los oligonucleótidos se marcaron con biotina bien enzimáticamente en sus extremos 3' o bien incorporada directamente durante la síntesis en sus extremos 5', o con digoxigenina. El técnico en la materia comprenderá que es posible utilizar medios de marcado distintos a los tres marcadores anteriores.

A continuación se analizó cada sonda de oligonucleótido en cuanto a su especificidad mediante hibridación a DNA de diversas especies bacterianas y fúngicas seleccionadas de las tablas 4, 5 y 6. Todas las especies bacterianas o fúngicas analizadas tenían probabilidad de ser patógenos asociados a infecciones comunes o contaminantes potenciales que pueden aislarse de muestras clínicas. Todos los DNA diana se liberaron de células bacterianas utilizando tratamientos químicos estándar para lisar las células (Sambrook y col., 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY). Posteriormente se desnaturizó el DNA por métodos convencionales y a continuación se fijó de forma irreversible a un soporte sólido (por ejemplo membranas de nailon o nitrocelulosa) o se dejó libre en solución. Los DNA diana de cadena simple fijados se hibridaron a continuación con las células de sonda de oligonucleótido (Sambrook y col., 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY). Las condiciones de prehibridación fueron: en NaCl 1 M + sulfato de dextrano al 10% + SDS al 1% + 100 µg/ml de DNA de esperma de salmón, a 65°C, durante 15 minutos. La hibridación se realizó en una solución de prehibridación fresca que contenía la sonda marcada a 65°C durante la noche. Las condiciones del lavado poshibridación fueron las siguientes: dos veces en 3X SSC que contenía SDS al 1%, dos veces en 2X SSC que contenía SDS al 1% y dos veces en 1X SSC que contenía SDS al 1% (todos estos lavados se realizaron a 65°C durante 15 minutos) y un lavado final en 0,1X SSC que contenía SDS al 1% a 25°C durante 15 minutos. Una autorradiografía de los filtros lavados permitió la detección de sondas hibridadas de forma selectiva. La hibridación de la sonda a un DNA diana específico indicaba un alto grado de similitud entre las secuencias de nucleótidos de estos dos DNA, debido al gran rigor de los lavados.

Una sonda de oligonucleótido se consideraba específica sólo si hibridaba únicamente DNA de las especies o géneros de los que había sido aislada. Posteriormente, las sondas de oligonucleótido que resultaron ser específicas se analizaron en cuanto a su ubicuidad (es decir, las sondas ubicuas reconocían todos o la mayor parte de los aislados de la especie o el género diana) mediante hibridación a DNA microbiano procedente de aislados clínicos de las especies o géneros de interés, incluyendo cepas de ATCC. Los DNA de las cepas de especies o géneros diana se desnaturizaron, se fijaron a membranas de nailon y se hibridaron como se describe más arriba. Las sondas se consideraban ubicuas si hibridaban específicamente el DNA de como mínimo un 80% de los aislados de las especies o géneros diana.

#### *Análisis de especificidad y ubicuidad para cebadores y sondas de oligonucleótido*

La especificidad de cebadores y sondas de oligonucleótido, bien obtenidos de los fragmentos de DNA secuenciados por nosotros o bien seleccionados de bases de datos, se analizó mediante amplificación de DNA o mediante hibridación con especies bacterianas o fúngicas seleccionadas de las enumeradas en las tablas 4, 5 y 6, según se describe en las dos secciones anteriores. Posteriormente, los oligonucleótidos que resultaron ser específicos se analizaron en cuanto a su ubicuidad mediante amplificación (para los cebadores) o mediante hibridación (para las sondas) con DNA bacteriano procedente de aislados de las especies o géneros diana. En la tabla 7 se resumen los resultados de los análisis de especificidad y ubicuidad con los cebadores de oligonucleótido. La especificidad y la ubicuidad de los ensayos PCR realizados utilizando los pares de cebadores de amplificación seleccionados se analizaron directamente a partir de cultivos (véanse los ejemplos 9 y 10) de especies bacterianas o fúngicas.

Los diversos ensayos PCR específicos de especie y específicos de género objeto de la presente invención son todos específicos. Para los ensayos PCR específicos de especie o género bacteriano, esto quiere decir que no fue posible amplificar DNA aislado de una gran variedad de especies bacterianas distintas a la especie o el género bacteriano(a) diana y seleccionadas de las tablas 4 y 5. Para el ensayo PCR específico de *Candida albicans*, esto quiere decir que no hubo amplificación con DNA genómico de las especies fúngicas enumeradas en la tabla 6, así como con diversas especies bacterianas seleccionadas de las tablas 4 y 5.

Los diversos ensayos de PCR específicos de especie y específicos de género objeto de la presente invención son también todos ubicuos (tabla 7). (i) Los ensayos PCR específicos de especie para *E. faecium*, *L. monocytogenes*, *S. saprophyticus*, *S. agalactiae* y *C. albicans* amplificaron DNA genómico de todas o la mayor parte de las cepas de las especies diana analizadas, que se habían obtenido de diversas fuentes y que son representativas de la diversidad dentro de cada especie diana (tabla 7). La identificación de especie de todas estas cepas estaba basada en métodos bioquímicos clásicos utilizados de forma rutinaria en los laboratorios clínicos de microbiología. (ii) Los ensayos PCR específicos de género para *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. y *Neisseria* spp. amplificaron DNA genómico de todas o la mayor parte de las cepas de los géneros diana analizados, que representan todas las especies bacterianas de importancia clínica para cada género diana. Estas cepas se obtuvieron de diversas fuentes y son representativas de la diversidad dentro de cada género diana. De nuevo, la identificación de especie de todas estas cepas estaba basada en métodos bioquímicos clásicos utilizados de forma rutinaria en los laboratorios clínicos de microbiología. Más concretamente, los cuatro ensayos PCR específicos de género amplificaron las siguientes especies: (1) El ensayo específico de enterococo amplificó eficazmente DNA de las 11 especies de enterococo analizadas, incluyendo *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. flavescens*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. mundtii* y *E. raffinosus*. (2) El ensayo específico de *Neisseria* amplificó eficazmente DNA de las 12 especies de neisseria analizadas, incluyendo *N. canis*, *N. cinerea*, *N. elongata*, *N. flavescens*, *N. gonorrhoeae*, *N. lactamica*, *N. meningitidis*, *N. mucosa*, *N. polysaccharea*, *N. sicca*, *N. subflava* y *N. weaveri*. (3) El ensayo específico de *Staphylococcus* amplificó eficazmente DNA de 13 de las 14 especies de estafilococo analizadas, incluyendo *S. aureus*, *S. auricularis*, *S. capitis*, *S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*, *S. saprophyticus*, *S. schleiferi*, *S. simulans*, *S. warneri* y *S. xylosus*. La especie de estafilococo que no pudo ser identificada es *S. sciuri*. (4) Finalmente, el ensayo específico de *Streptococcus* amplificó eficazmente DNA de las 22 especies de estreptococo analizadas, incluyendo *S. agalactiae*, *S. anginosus*, *S. bovis*, *S. constellatus*, *S. crista*, *S. dysgalactiae*, *S. equi*, *S. gordonii*, *S. intermedius*, *S.*

*mitis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. parasanguis*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. sabrinus*, *S. suis*, *S. uberis*, *S. vestibularis* y *S. viridans*. Por otra parte, el ensayo específico de *Streptococcus* no amplificó 3 de 9 cepas de *S. mutans* y 1 de 23 cepas de *S. salivarius*, presentando así una ligera falta de ubicuidad para estas dos especies de estreptococo.

En el anexo VI se enumeran todos los cebadores de amplificación específicos y ubicuos para cada especie o género microbiano diana o gen de resistencia a los antibióticos investigado. Pueden existir divergencias en los fragmentos de DNA secuenciados, en la medida en que la divergencia de estas secuencias o de una parte de las mismas no afecta a la especificidad de las sondas o los cebadores de amplificación. El DNA bacteriano variante se halla dentro del alcance de la invención.

Todos los cebadores de amplificación de PCR enumerados en el anexo VI se analizaron en cuanto a su especificidad y ubicuidad utilizando cepas de referencia y aislados clínicos procedentes de diversos lugares geográficos. Las 351 cepas de referencia utilizadas para analizar la amplificación y para los ensayos de hibridación (tablas 4, 5 y 6) se obtuvieron de (i) la American Type Culture Collection (ATCC): 85%, (ii) el Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ): 10%, (iii) los Centers for Disease Control and Prevention (CDC): 3%, (iv) la National Culture Type Collection (NCTC): 1% y (v) otros laboratorios de referencia de todo el mundo: 1%. Estas cepas de referencia son representativas de (i) 90 especies bacterianas gram-negativas (169 cepas; tabla 4), (ii) 97 especies bacterianas gram-positivas (154 cepas; tabla 5) y (iii) 12 especies fúngicas (28 cepas; tabla 6).

#### *Genes de resistencia a los antibióticos*

La resistencia a los antibióticos complica el tratamiento y con frecuencia lleva a errores terapéuticos. Además, el uso excesivo de antibióticos conlleva inevitablemente a la aparición de una resistencia bacteriana. Nuestro objetivo es proporcionar a los clínicos, en aproximadamente una hora, la información necesaria para recetar tratamientos óptimos. Además de la identificación rápida de muestras clínicas negativas con análisis basados en DNA para la detección bacteriana universal y la identificación de la presencia de un patógeno específico en las muestras positivas con análisis basados en DNA específicos de especie y/o específicos de género, los clínicos necesitan también información oportuna sobre la capacidad del patógeno bacteriano para resistir a los tratamientos con antibióticos. Creemos que la estrategia más eficaz para evaluar rápidamente la resistencia bacteriana a los antimicrobianos es detectar directamente, a partir de las muestras clínicas, los genes de resistencia a los antibióticos más comunes y clínicamente relevantes (es decir análisis basados en DNA para la detección de genes de resistencia a los antibióticos). Dado que las secuencias de los genes bacterianos de resistencia a los antibióticos más importantes y comunes están disponibles en las bases de datos, nuestra estrategia era utilizar la secuencia de una porción o de la totalidad del gen de resistencia para diseñar cebadores o sondas de oligonucleótido específicos, los cuales se utilizarán como base para el desarrollo de análisis rápidos basados en DNA. En la lista de secuencias se indica la secuencia de cada uno de los genes bacterianos de resistencia a los antibióticos seleccionados en base a su relevancia clínica (es decir gran incidencia e importancia). Las tablas 9 y 10 resumen algunas características de los genes de resistencia a los antibióticos seleccionados. Nuestro planteamiento es único, ya que la detección de genes de resistencia a los antibióticos y la detección e identificación de bacterias se lleva a cabo simultáneamente en ensayos multiplex en condiciones de amplificación PCR uniformes (ejemplo 13).

El anexo VI proporciona una lista de todos los cebadores de amplificación seleccionados de 26 genes de resistencia a los antibióticos clínicamente relevantes analizados en ensayos PCR. Los diversos ensayos PCR para la detección e identificación de genes de resistencia a los antibióticos se validaron analizando varios aislados bacterianos resistentes de los que se sabía llevaban el gen establecido como objetivo y que se habían obtenido de diversos países. Se analizó también un gran número de cepas que no llevaban el gen de resistencia establecido como objetivo, para asegurar que todos los ensayos fuesen específicos. Hasta aquí, todos los ensayos de PCR para genes de resistencia a los antibióticos son altamente específicos y han detectado todas las cepas bacterianas resistentes de control de las que se sabe llevan el gen establecido como objetivo. En las tablas 11 y 12 se presentan los resultados de algunos estudios clínicos para validar la serie de ensayos PCR para la detección e identificación de genes de resistencia a los antibióticos y correlacionar estos ensayos basados en DNA con métodos estándar de análisis de sensibilidad a los antimicrobianos.

#### *Detección bacteriana universal*

En el laboratorio de microbiología rutinario, un alto porcentaje de las muestras clínicas enviadas para la identificación bacteriana dan negativo en cultivo (tabla 4). Por tanto, el análisis de muestras clínicas con cebadores de amplificación universales o sondas universales para detectar la presencia de bacterias antes de la identificación específica y el cribado de las numerosas muestras negativas resulta útil, puesto que ahorra gastos y puede orientar rápidamente la gestión clínica de los pacientes. Por consiguiente, se sintetizaron varios cebadores de amplificación y varias sondas a partir de porciones altamente conservadas de secuencias bacterianas de los genes *tuf* (tabla 8). La selección de cebadores universales se basó en una alineación múltiple de secuencias construida con secuencias determinadas por nosotros o seleccionadas de secuencias disponibles en bases de datos según se describe en el ejemplo 1 y el anexo 1.

Para la identificación de secuencias procedentes de bases de datos adecuadas para la detección universal de bacterias, aprovechamos el hecho de que están disponibles las secuencias genómicas completas de dos microorganismos

distantes (esto es *Mycoplasma genitalium* y *Haemophilus influenzae*). Una comparación de la secuencia de aminoácidos para todas las proteínas codificadas por el genoma de estos dos microorganismos distantes llevó a la identificación de proteínas altamente homólogas. Un análisis de estas proteínas homólogas permitió seleccionar algunos candidatos prometedores para el desarrollo de ensayos universales basados en DNA para la detección de bacterias. Dado que actualmente está disponible en bases de datos la secuencia de nucleótidos completa de varios otros genomas microbianos, el técnico en la materia podría llegar a las mismas conclusiones comparando secuencias genómicas distintas a las de *Mycoplasma genitalium* y *Haemophilus influenzae*. El gen *tuf* seleccionado codifica una proteína (EF-Tu) involucrada en el proceso de traducción durante la síntesis proteínica. Posteriormente se realizó un análisis exhaustivo de secuencia de nucleótidos con las secuencias del gen *tuf* disponibles en bases de datos, así como con nuevas secuencias de *tuf* por nosotros determinadas según se describe más arriba. Todos los análisis informáticos de aminoácidos y secuencias de nucleótidos se realizaron con los programas del GCG. Posteriormente se seleccionaron cebadores de PCR óptimos para la amplificación universal de bacterias por medio del programa Oligo™. Los cebadores seleccionados estaban degenerados en varias posiciones de nucleótidos y contenían diversas inosinas para permitir la amplificación de todas las especies bacterianas clínicamente relevantes (anexo I). La inosina es un análogo de nucleótido capaz de unirse específicamente a cualquiera de los cuatro nucleótidos A, C, G o T. Los oligonucleótidos degenerados consisten en una mezcla de oligonucleótidos con dos o más de los cuatro nucleótidos A, C, G o T en el sitio de apareamiento. La inclusión de inosina y/o de degeneraciones en los cebadores de amplificación permite una tolerancia de apareamiento, haciendo así posible la amplificación de una colección mayor de secuencias de nucleótidos diana (Dieffenbach y Dveksler, 1995 PCR Primer: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, NY).

Las condiciones de amplificación con los cebadores universales fueron idénticas a las utilizadas para los ensayos de amplificación específicos de especie y específicos de género, excepto porque la temperatura de emparejamiento fue de 50°C en lugar de 55°C. Este ensayo de PCR universal fue específico y casi ubicuo para la detección de bacterias. La especificidad para las bacterias se comprobó amplificando el DNA genómico aislado de las 12 especies fúngicas enumeradas en la tabla 6, así como el DNA genómico de *Leishmania donovani*, *Saccharomyces cerevisiae* y linfocitos humanos. Ninguna de las preparaciones de DNA eucariota arriba indicadas pudo amplificarse mediante el ensayo universal, lo que sugiere que este análisis es específico para bacterias. La ubicuidad del ensayo universal se comprobó amplificando DNA genómicos de 116 cepas de referencia que representan 95 de las especies bacterianas de mayor relevancia clínica. Estas especies se seleccionan de entre las especies bacterianas enumeradas en las tablas 4 y 5. Descubrimos que 104 de estas 116 cepas podían amplificarse. Las especies bacterianas que no fue posible amplificar pertenecen a los siguientes géneros: *Corynebacterium* (11 especies) y *Stenotrophomonas* (1 especie). Recientemente se ha llevado a cabo la secuenciación de los genes *tuf* de estas especies bacterianas. Estos datos de secuenciación se utilizan para seleccionar nuevos cebadores universales que puedan ser más ubicuos. Estos cebadores están en proceso de análisis. Observamos también que para varias especies era necesario bajar la temperatura de emparejamiento a 45°C con el fin de lograr una amplificación eficaz. Estas especies bacterianas incluyen *Gemella morbilbrum*, *Listeria* spp. (3 especies) y *Gardnerella vaginalis*. Es importante señalar que las 95 especies bacterianas seleccionadas de las tablas 4 y 5 con el fin de analizar la ubicuidad del ensayo universal incluyen todas las especies bacterianas de mayor relevancia clínica asociadas a diversas infecciones humanas de origen comunitario o adquiridas en hospitales (infecciones nosocomiales). En las tablas 1 y 2 se indican los patógenos bacterianos y fúngicos de mayor importancia clínica.

## Ejemplos y anexos

Los ejemplos y anexos siguientes tienen la finalidad de ilustrar los diversos métodos y compuestos de la invención y no la de limitar el alcance de la misma.

Los diversos anexos muestran las estrategias utilizadas para la selección de cebadores de amplificación a partir de secuencias de *tuf* o a partir del gen *recA*: (i) El anexo I ilustra la estrategia utilizada para la selección de los cebadores de amplificación universales a partir de secuencias de *tuf*. (ii) El anexo II muestra la estrategia utilizada para la selección de los cebadores de amplificación específicos para el género *Enterococcus* a partir de secuencias de *tuf*. (iii) El anexo III ilustra la estrategia utilizada para la selección de los cebadores de amplificación específicos para el género *Staphylococcus* a partir de secuencias de *tuf*. (iv) El anexo IV muestra la estrategia utilizada para la selección de los cebadores de amplificación específicos para la especie *Candida albicans* a partir de secuencias de *tuf*. (v) El anexo V ilustra la estrategia utilizada para la selección de los cebadores de amplificación específicos para el género *Streptococcus* a partir de secuencias de *recA*. (vi) El anexo VI contiene una lista de todos los pares de cebadores seleccionados. Como se muestra en estos anexos, los cebadores de amplificación seleccionados pueden contener inosinas y/o degeneraciones. La inosina es un análogo de nucleótido capaz de unirse específicamente a cualquiera de los cuatro nucleótidos A, C, G o T. Como alternativa se utilizaron oligonucleótidos degenerados, que consisten en una mezcla de oligonucleótidos con dos o más de los cuatro nucleótidos A, C, G o T en el sitio de apareamiento. La inclusión de inosina y/o degeneraciones en los cebadores de amplificación permite una tolerancia de apareamiento, haciendo así posible la amplificación de una colección mayor de secuencias de nucleótidos diana (Dieffenbach y Dveksler, 1995 PCR Primer: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, Nueva York).

## Ejemplos

## Ejemplo 1

5 Selección de cebadores de PCR universales a partir de secuencias de *tuf*

Como se muestra en el anexo I, la comparación de secuencias de *tuf* procedentes de diversas especies bacterianas y eucariotas permitió la selección de cebadores PCR universales para la detección de bacterias. La estrategia utilizada para diseñar los cebadores PCR se basó en el análisis de una alineación múltiple de diversas secuencias de *tuf*. Esta  
 10 alineación múltiple de secuencias incluye secuencias de *tuf* de 38 especies bacterianas y 3 especies eucariotas, bien determinadas por nosotros o bien seleccionadas de bases de datos (tabla 13). Un análisis meticuloso de esta alineación múltiple de secuencias permitió la selección de las secuencias de cebador que se conservan dentro de las eubacterias pero que discriminan secuencias de eucariotas, haciendo así posible la detección universal de bacterias. Como se  
 15 muestra en el anexo I, los cebadores seleccionados contienen diversas inosinas y degeneraciones. Esto era necesario ya que existe un polimorfismo relativamente alto entre las secuencias de *tuf* bacterianas, a pesar del hecho de que este gen está altamente conservado. De hecho, entre las secuencias de *tuf* determinadas por nosotros encontramos muchas variaciones de nucleótidos, así como algunas deleciones y/o inserciones de aminoácidos. Los cebadores universales seleccionados eran específicos y ubicuos para las bacterias (tabla 7). De las 95 especies bacterianas de mayor  
 20 importancia clínica analizadas, 12 no se amplificaron. Estas especies pertenecen a los géneros *Corynebacterium* (11 especies) y *Stenotrophomonas* (1 especie). Los cebadores universales no amplificaron DNA de origen no bacteriano, incluyendo DNA humano y otros tipos de DNA eucariota.

## Ejemplo 2

25 Selección de cebadores de PCR específicos de género a partir de secuencias de *tuf*

Como se muestra en los anexos 2 y 3, la comparación de secuencias de *tuf* procedentes de diversas especies bacterianas permitió la selección de cebadores PCR específicos para *Enterococcus* spp. ó *Staphylococcus* spp. La estrategia  
 30 utilizada para diseñar los cebadores PCR se basó en el análisis de una alineación múltiple de diversas secuencias de *tuf*. Estas alineaciones múltiples de secuencias incluyen las secuencias de *tuf* de cuatro especies bacterianas representativas seleccionadas de cada género diana, así como secuencias de *tuf* de especies de otros géneros bacterianos estrechamente relacionados. Un análisis meticuloso de estas alineaciones permitió la selección de secuencias de oligonucleótido que se conservan dentro del género diana pero que discriminan secuencias de otros géneros estrechamente relacionados,  
 35 haciendo así posible la detección y la identificación específicas de género y ubicuas del género bacteriano diana.

Para la selección de cebadores específicos para *Enterococcus* spp. (anexo II), hemos secuenciado una porción de aproximadamente 890 pb de los genes *tuf* de *Enterococcus avium*, *E. faecalis*, *E. faecium* y *E. gallinarum*. Todas las demás secuencias de *tuf* utilizadas en la alineación fueron secuenciadas por nosotros o bien seleccionadas de bases  
 40 de datos. El análisis de esta alineación de secuencias llevó a la selección de un par de cebadores específico y ubicuo para *Enterococcus* spp. (tabla 7). Todas las 11 especies de enterococo analizadas se amplificaron eficazmente sin excepciones y no se produjo amplificación con DNA genómico de especies bacterianas de otros géneros.

Para la selección de cebadores específicos para *Staphylococcus* spp. (anexo III), hemos secuenciado también una  
 45 porción de aproximadamente 890 pb de los genes *tuf* de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* y *S. simulans*. Todas las demás secuencias de *tuf* utilizadas en la alineación fueron secuenciadas por nosotros o bien seleccionadas de bases de datos. El análisis de esta alineación de secuencias llevó a la selección de dos pares de cebadores específicos y ubicuos para *Staphylococcus* spp. (tabla 7). El anexo III muestra la estrategia utilizada para seleccionar uno de estos dos pares de cebadores PCR. Para seleccionar el otro par de cebadores se utilizó la misma  
 50 estrategia. De las 14 especies de estafilococo analizadas, una (*S. sciuri*) no pudo amplificarse mediante los ensayos PCR específicos de *Staphylococcus* realizados con cualquiera de estos dos pares de cebadores. En lo que se refiere a los ensayos PCR realizados con cualquiera de estos dos pares de cebadores, no se produjo amplificación con DNA de especies de otros géneros bacterianos.

## 55 Ejemplo 3

Selección, a partir de secuencias de *tuf*, de cebadores PCR específicos para *Candida albicans*

Como se muestra en el anexo IV, la comparación de secuencias de *tuf* procedentes de diversas especies bacterianas y eucariotas permitió la selección de cebadores PCR específicos para *Candida albicans*. La estrategia utilizada para diseñar los cebadores PCR se basó en el análisis de una alineación múltiple de diversas secuencias de *tuf*. Esta  
 60 alineación múltiple de secuencias incluye secuencias de *tuf* de cinco especies fúngicas representativas seleccionadas del género *Candida*, determinadas por nuestro grupo (esto es *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*), así como secuencias de *tuf* de otras especies fúngicas estrechamente relacionadas. Se incluyeron también secuencias de *tuf* de diversas especies bacterianas. Un análisis meticuloso de esta alineación de secuencias permitió la selección de cebadores a partir de la secuencia de *tuf* de *C. albicans*; estos cebadores discriminan secuencias de  
 65 otras especies de *Candida* estrechamente relacionadas y otras especies fúngicas, haciendo así posible la detección y

la identificación específicas de especie y ubicuas de *C. albicans* (tabla 7). Todas las 88 cepas de *Candida albicans* analizadas se amplificaron eficazmente sin excepciones y no se produjo amplificación con DNA genómico de otras especies fúngicas o bacterianas.

#### Ejemplo 4

(Comparativo)

#### *Selección de cebadores PCR específicos para Streptococcus a partir de recA*

Como se muestra en el anexo V, se utilizó la comparación de las diversas secuencias del gen *recA* bacteriano disponibles en bases de datos (GenBank y EMBL) como base para la selección de cebadores PCR específicos y ubicuos para el género bacteriano *Streptococcus*. Dado que las secuencias del gen *recA* están disponibles para muchas especies bacterianas, incluyendo cinco especies de estreptococos, fue posible elegir secuencias bien conservadas dentro del género *Streptococcus*, pero distintas a las secuencias de *recA* de otros géneros bacterianos. En los casos en que existían desapareamientos entre las secuencias del gen *recA* de las cinco especies de *Streptococcus*, se incorporó un residuo de inosina al cebador (anexo V). Los cebadores seleccionados, que contenían todos una inosina y ninguna degeneración, eran específicos y ubicuos para las especies de *Streptococcus* (tabla 7). Este ensayo PCR amplificó sin excepciones las 22 especies de estreptococo analizadas. Sin embargo, el ensayo específico de *Streptococcus* no amplificó DNA de 3 de las 9 cepas de *S. mutans* y de 1 de las 3 cepas de *S. salivarius*. No se produjo amplificación con DNA genómico de otros géneros bacterianos (tabla 7).

#### Ejemplo 5

#### *Secuenciación de nucleótidos de fragmentos de DNA*

Se determinó la secuencia de nucleótidos de una porción de los genes *tuf* de diversas especies bacterianas o fúngicas utilizando el método de secuenciación de terminación de cadena de didesoxinucleótido (Sanger y col., 1977, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 74:5463-5467). La secuenciación se realizó con un secuenciador de DNA automatizado de Applied Biosystems (modelo 373A) con su PRISM™ Sequenase® Terminator Double-stranded DNA Sequencing Kit (Perkin-Elmer Corp., Applied Biosystems Division, Foster City, CA). La estrategia de secuenciación no discrimina los genes *tufA* y *tufB* porque los cebadores de secuenciación hibridan eficazmente ambos genes *tuf* bacterianos. Estas secuencias de DNA se muestran en la lista de secuencias (SEQ ID NO s: 118 a 146). La presencia de varios nucleótidos degenerados en las diversas secuencias de *tuf* determinadas por nuestro grupo (tabla 13) corresponde a las variaciones de secuencia entre *tufA* y *tufB*.

#### *Selección de cebadores y sondas de oligonucleótido*

A partir de los fragmentos de DNA patentados indicados o de secuencias procedentes de bases de datos se seleccionaron, mediante el programa Oligo™, sondas y cebadores de amplificación de oligonucleótido que se sintetizaron con un sintetizador de DNA ABI automatizado (modelo 391, Perkin-Elmer Corp., Applied Biosystems Division) utilizando la química de la fosforamidita.

#### Ejemplo 6

#### *Marcado de oligonucleótidos para ensayos de hibridación*

Todos los oligonucleótidos se marcaron en el extremo 5' con  $\gamma$ -<sup>32</sup>P(dATP) con T4 polinucleótido-quinasa (Pharmacia) según se ha descrito anteriormente. El marcador podría ser también no radioactivo.

#### *Ensayo de especificidad para sondas de oligonucleótido*

Todas las sondas de oligonucleótido marcadas se analizaron en cuanto a su especificidad mediante hibridación DNA de diversas especies bacterianas y fúngicas seleccionadas de las tablas 4, 5 y 6 según se ha descrito anteriormente. Las sondas específicas de especie o específicas de género eran aquellas que hibridaban sólo a DNA de especies o géneros microbianos de los cuales habían sido aisladas. Las sondas de oligonucleótido que resultaron ser específicas se sometieron a análisis de ubicuidad como se explica a continuación.

#### *Análisis de ubicuidad para sondas de oligonucleótido*

A continuación se utilizaron sondas de oligonucleótido específicas en los análisis de ubicuidad con cepas de las especies o géneros diana, incluyendo cepas de referencia y otras cepas obtenidas de diversos países y que son representativas de la diversidad dentro de cada especie o género diana. Se transfirieron DNAs cromosómicos de los aislados a membranas de nailon y se hibridaron con sondas de oligonucleótido marcadas, como se ha descrito para los análisis de especificidad. Las baterías de aislados construidas para cada especie o género diana contienen cepas ATCC de

## ES 2 329 202 T3

referencia así como una variedad de aislados clínicos obtenidos de diversas fuentes. Las sondas ubicuas eran aquellas que hibridaban a como mínimo un 80% de los DNA de la batería de aislados clínicos de las especies o géneros diana.

### 5 Ejemplo 7

Igual que el Ejemplo 6, excepto que se utiliza para la identificación microbiana un pool de sondas de oligonucleótido específicas, (i) con el fin de aumentar la sensibilidad y asegurar un 100% de ubicuidad o (ii) con el fin de identificar simultáneamente más de una especie y/o género microbiano. La identificación microbiana podría llevarse a cabo a partir de cultivos microbianos o directamente a partir de cualquier muestra clínica.

### Ejemplo 8

Igual que el Ejemplo 6, excepto que las bacterias o los hongos se detectaron directamente a partir de muestras clínicas. Toda muestra biológica se cargó directamente en un aparato de transferencia puntual y las células se lisaron *in situ* para la detección y la identificación de bacterias u hongos. Las muestras de sangre debían heparinizarse para evitar que la coagulación afectara a la carga apropiada de las mismas en un aparato de transferencia puntual.

### 20 Ejemplo 9

#### *Amplificación PCR*

Se utilizó la técnica PCR para aumentar la sensibilidad y la rapidez de los ensayos. Los grupos de cebadores se analizaron en ensayos PCR realizados directamente a partir de colonias bacterianas o a partir de una suspensión bacteriana normalizada (véase el ejemplo 10) para determinar su especificidad y ubicuidad (tabla 7). En el anexo VI se dan ejemplos de pares de cebadores de PCR específicos y ubicuos.

### 30 *Análisis de especificidad y ubicuidad para cebadores de amplificación*

La especificidad de todos los pares de cebadores de PCR seleccionados se analizó contra DNA de diversas especies bacterianas y fúngicas seleccionadas de las tablas 4, 5 y 6, como se ha descrito anteriormente. A continuación, los pares de cebadores que resultaron ser específicos para cada especie o género se analizaron en cuanto a su ubicuidad para asegurar que cada grupo de cebadores pudiera amplificar como mínimo un 90% de los DNA de una batería de aislados de las especies o géneros diana. Las baterías de aislados construidas para cada especie contenían cepas ATCC de referencia y diversos aislados clínicos procedentes de todo el mundo, que son representativos de la diversidad dentro de cada especie o género.

Deberían tomarse las precauciones habituales para evitar resultados falso positivo de la PCR (Kwok e Higuchi, 1989, Nature, 239:237-238). Para controlar el arrastre de la PCR pueden utilizarse métodos destinados a inactivar productos de amplificación de PCR, tales como inactivación mediante uracil-N-glucosilasa.

### 45 Ejemplo 10

#### *Amplificación directamente a partir de cultivos de bacterias o levaduras*

Se realizaron ensayos PCR directamente a partir de una colonia bacteriana o bien a partir de una suspensión bacteriana, estando esta última ajustada a un estándar McFarland de 0,5 (que corresponde a aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  bacterias/ml). En el caso de la amplificación directa a partir de una colonia, se transfirió una porción de una colonia mediante una barra de plástico directamente a 20  $\mu$ l de una mezcla de reacción PCR que contenía KCl 50 mM, Tris-HCl 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%,  $MgCl_2$  2,5 mM, 0,4  $\mu$ M de cada cebador, 200  $\mu$ M de cada uno de los cuatro dNTP y 0,5 unidades de *Taq* DNA polimerasa (Promega) combinada con el anticuerpo TaqStart™ (Clontech Laboratories Inc.). Para la suspensión bacteriana se añadió 1  $\mu$ l de la suspensión celular a 19  $\mu$ l de la misma mezcla de reacción PCR. Para la identificación a partir de cultivos de levaduras se añadió directamente a la reacción PCR 1  $\mu$ l de un estándar McFarland 1,0 (que corresponde a aproximadamente  $3,0 \times 10^8$  bacterias/ml) concentrado 100 veces mediante centrifugación. Esta etapa de concentración para las células de levadura se llevó a cabo debido a que un McFarland 0,5 para células de levadura tiene aproximadamente 200 veces menos células que un McFarland 0,5 para células bacterianas.

A continuación se sometieron las reacciones PCR a una ciclación térmica (3 minutos a 95°C, seguidos de 30 ciclos de 1 segundo a 95°C para la etapa de desnaturalización y 30 segundos a 55°C para la etapa de emparejamiento-extensión) con un termociclador PTC-200. Después se analizaron los productos de amplificación de PCR mediante electroforesis en gel de agarosa estándar (2%). Los productos de amplificación se visualizaron en geles de agarosa que contenían 0,25  $\mu$ g/ml de bromuro de etidio bajo UV a 254 nm. Todo el ensayo PCR puede completarse en aproximadamente una hora.



## ES 2 329 202 T3

Se utilizaron secuencias de cebador obtenidas de regiones altamente conservadas del gen de RNA ribosómico 16S bacteriano para proporcionar un control interno para todas las reacciones PCR. Como alternativa, el control interno se obtuvo de secuencias que no se hallaban en microorganismos ni en el genoma humano. El control interno se integró en todas las reacciones de amplificación para comprobar la eficacia de los ensayos PCR y asegurar la ausencia de una inhibición de PCR significativa. El control interno obtenido de rRNA resultó útil también para controlar la eficacia de los protocolos de lisis bacteriana. El control interno y las amplificaciones específicas de especie o específicas de género se realizaron simultáneamente en ensayos PCR multiplex.

### Ejemplo 11

#### *Amplificación directamente a partir de muestras de orina*

Para la amplificación PCR realizada directamente a partir de muestras de orina, se mezcló 1  $\mu$ l de orina con 4  $\mu$ l de una solución de lisis que contenía KCl 500 mM, tris-HCl 100 mM (pH 9,0), triton X-100 al 1%. Después de una incubación de como mínimo 15 minutos a temperatura ambiente, se añadió directamente a 19  $\mu$ l de la mezcla de reacción PCR 1  $\mu$ l de la muestra de orina tratada. La concentración final de los reactivos de PCR era KCl 50 mM, tris 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%,  $MgCl_2$  2,5 mM, 0,4  $\mu$ M de cada cebador, 200  $\mu$ M de cada uno de los cuatro dNTP. Además, cada 20  $\mu$ l de reacción contenían 0,5 unidades de Taq DNA-polimerasa (Promega) combinada con el anticuerpo TaqStart™ (Clontech Laboratories Inc.).

Las estrategias para el control interno, la amplificación por PCR y la detección de los amplicones en gel de agarosa son las descritas anteriormente en el Ejemplo 10.

### Ejemplo 12

#### *Detección de genes de resistencia a antibióticos*

La presencia de genes de resistencia a antibióticos específicos de aparición frecuente y clínicamente relevantes se identifica mediante los protocolos de amplificación PCR o hibridación arriba descritos. Los oligonucleótidos específicos utilizados como base para los análisis basados en DNA se seleccionan de las secuencias de genes de resistencia a los antibióticos. Estos análisis, que permiten una evaluación rápida de la resistencia bacteriana a agentes antimicrobianos, pueden realizarse directamente a partir de muestras clínicas, a partir de una suspensión bacteriana normalizada o a partir de una colonia bacteriana y su fin es complementar el análisis de diagnóstico para la detección universal de bacterias, así como para la detección y la identificación microbianas específicas de especie y específicas de género.

### Ejemplo 13

Igual que los Ejemplos 10 y 11, excepto que los ensayos se realizaron por PCR multiplex (esto es utilizando varios pares de cebadores en una única reacción PCR) con el fin de alcanzar una ubicuidad del 100% para el o los patógenos específicos establecidos como objetivo. Para especies o géneros más heterogéneos, puede ser necesaria una combinación de pares de cebadores de PCR para detectar e identificar todos los representantes de las especies o géneros diana.

Los ensayos PCR multiplex podrían utilizarse también para (i) detectar simultáneamente varias especies y/o géneros microbianos(as) o, como alternativa, (ii) para detectar e identificar simultáneamente patógenos bacterianos y/o fúngicos y detectar genes de resistencia a antibióticos específicos, bien directamente a partir de una muestra clínica o bien a partir de cultivos bacterianos.

En lo que se refiere a estas aplicaciones, los métodos de detección de amplicones deberían adaptarse para diferenciar los diversos amplicones producidos. Podría utilizarse una electroforesis en gel de agarosa estándar, ya que discrimina los amplicones en base a sus tamaños. Otra estrategia útil para este fin sería la detección con diversos colorantes fluorescentes que emiten a distintas longitudes de onda. Los colorantes fluorescentes pueden acoplarse cada uno a un oligonucleótido específico unido a un extintor de fluorescencia, que se degrada durante la amplificación, para liberar los colorantes fluorescentes (por ejemplo TaqMan™, Perkin Elmer).

### Ejemplo 14

#### *Detección de los productos de amplificación*

El técnico en la materia comprenderá que pueden utilizarse alternativas distintas a la electroforesis en gel de agarosa estándar (Ejemplo 10) para revelar los productos de amplificación. Tales métodos pueden estar basados en la polarización de fluorescencia o en la detección de fluorescencia después de la amplificación (por ejemplo Amplisensor™, Biotronics; TaqMan™, Perkin-Elmer Corp.) o en otros marcadores tales como biotina (sistema SHARP Signal™, Digene Diagnostics). Estos métodos son cuantitativos y pueden automatizarse. Uno de los cebadores de amplificación o una sonda de oligonucleótido interna específica del o los amplicones obtenidos de los fragmentos de DNA específicos

de especie, específicos de género o universales se acopla a los colorantes fluorescentes o a cualquier otro marcador. Los métodos basados en la detección de fluorescencia son particularmente adecuados para el análisis de diagnóstico, ya que son rápidos y flexibles, existiendo colorantes fluorescentes que emiten a distintas longitudes de onda.

#### Ejemplo 15

Los cebadores de amplificación específicos de especie, específicos de género, universales y de genes de resistencia a los antibióticos pueden utilizarse en otros procedimientos de amplificación rápidos, tales como la reacción en cadena de la ligasa (LCR), la amplificación mediada por transcripción (TMA), la replicación de secuencia autosostenida (3SR), la amplificación basada en secuencias de ácido nucleico (NASBA), la amplificación de desplazamiento de cadena (SDA), la tecnología de sonda de ciclo (CPT) y el DNA ramificado (bDNA), o cualesquiera otros métodos para aumentar la sensibilidad del análisis. Las amplificaciones pueden realizarse a partir de cultivos bacterianos aislados o directamente a partir de cualquier muestra clínica. Por tanto, el alcance de esta invención no está limitado al uso de las secuencias de DNA de la lista de secuencias adjunta sólo para la PCR, sino que también incluye el uso de cualquier procedimiento para detectar específicamente DNA bacteriano y que pueda utilizarse para aumentar la rapidez y sensibilidad de los análisis.

#### Ejemplo 16

Un kit de análisis contendrá juegos de sondas específicos para cada especie o género microbiano(a), así como un juego de sondas universales. El kit se proporciona en forma de componentes de análisis, consistentes en el juego de sondas universales marcadas con marcadores no radioactivos, así como sondas específicas de especie o específicas de género para la detección de cada patógeno de interés en tipos específicos de muestras clínicas. El kit incluirá también reactivos de análisis necesarios para realizar la prehibridación, la hibridación, las etapas de lavado y la detección de híbridos. Por último, se incluirán componentes de análisis para la detección de genes de resistencia a los antibióticos conocidos (o derivados de los mismos). Por supuesto, el kit incluirá muestras estándar para su uso como controles negativos y positivos para cada análisis de hibridación.

Los componentes que han de incluirse en los kits estarán adaptados a cada tipo de muestra y para detectar patógenos de aparición frecuente en ese tipo de muestra. También se incluirán reactivos para la detección universal de bacterias. Basándose en los sitios de infección, pueden desarrollarse los siguientes kits para la detección específica de patógenos:

- Un kit para la detección universal de patógenos bacterianos o fúngicos a partir de toda muestra clínica conteniendo juegos de sondas específicos para regiones altamente conservadas de los genomas microbianos.
- Un kit para la detección de patógenos microbianos recuperados de muestras de orina que contiene 5 componentes de análisis específicos (juegos de sondas para la detección de *Enterococcus faecium*, especies de *Enterococcus*, *Staphylococcus saprophyticus*, especies de *Staphylococcus* y *Candida albicans*).
- Un kit para la detección de patógenos respiratorios que contiene 3 componentes de análisis específicos (juegos de sondas para la detección de especies de *Staphylococcus*, especies de *Enterococcus* y *Candida albicans*).
- Un kit para la detección de patógenos recuperados de muestras de orina que contiene 10 componentes de análisis específicos (juegos de sondas para la detección de especies de *Streptococcus*, *Streptococcus agalactiae*, especies de *Staphylococcus*, *Staphylococcus saprophyticus*, especies de *Enterococcus*, *Enterococcus faecium*, especies de *Neisseria*, *Neisseria meningitidis*, *Listeria monocytogenes* y *Candida albicans*). Este kit puede aplicarse también para la detección e identificación directas a partir de cultivos de sangre.
- Un kit para la detección de patógenos causantes de la meningitis que contiene 5 componentes de análisis específicos (juegos de sondas para la detección de especies de *Streptococcus*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, especies de *Neisseria* y especies de *Staphylococcus*).
- Un kit para la detección de genes de resistencia a los antibióticos clínicamente importantes que contiene juegos de sondas para la detección específica de como mínimo uno de los 26 genes siguientes asociados a la resistencia a los antibióticos: *bla<sub>tem</sub>*, *bla<sub>rob</sub>*, *bla<sub>shv</sub>*, *bla<sub>oxa</sub>*, *bla<sub>Z</sub>*, *aadB*, *aacC1*, *aacC2*, *aacC3*, *aacA4*, *aac6'-IIa*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *mecA*, *vanA*, *vanB*, *vanC*, *satA*, *aac(6')-aph(2'')*, *aad(6')*, *vat*, *vga*, *msrA*, *sul* e *int*.
- También pueden desarrollarse otros kits adaptados a la detección de patógenos de la piel, heridas abdominales o cualesquiera otras infecciones clínicamente relevantes.

#### Ejemplo 17

Igual que el Ejemplo 16, excepto que los kits de análisis contienen todos los reactivos y controles para realizar ensayos de amplificación de DNA. Los kits de diagnóstico estarán adaptados a la amplificación por PCR (u otros métodos de amplificación) directamente a partir de muestras clínicas o bien a partir de cultivos microbianos. Se incluirán

los componentes necesarios para (i) la detección bacteriana universal, (ii) la detección e identificación bacterianas y/o fúngicas específicas de especie y específicas de género y (iii) la detección de genes de resistencia a los antibióticos.

Los ensayos de amplificación podrían realizarse en tubos o bien en placas de microtitulación con múltiples pocillos. Para los ensayos en placas, los pocillos contendrán los cebadores de amplificación específicos y los DNA control y la detección de los productos de amplificación será automatizada. En los kits para análisis directamente a partir de muestras clínicas se incluirán reactivos y cebadores de amplificación para la detección bacteriana universal. En los kits para el análisis directo a partir de cultivos bacterianos o fúngicos, así como en los kits para el análisis directo a partir de cualquier tipo de muestra clínica, se incluirán los componentes necesarios para la detección e identificación bacterianas y/o fúngicas específicas de especie y específicas de género, así como para la detección simultánea de genes de resistencia a antibióticos.

Los kits estarán adaptados al uso con todo tipo de muestra según se describe en el Ejemplo 16 para los kits de diagnóstico basados en la hibridación.

#### Ejemplo 18

Se entiende que el uso de las sondas y los cebadores de amplificación descritos(as) en esta invención para la detección e identificación bacterianas y/o fúngicas no está limitado a las aplicaciones de microbiología clínica. De hecho, creemos que otros sectores podrían beneficiarse también de estas nuevas tecnologías. Por ejemplo, estos análisis podrían ser utilizados por las industrias para el control de calidad de alimentos, agua, aire, productos farmacéuticos u otros productos que requieran un control microbiológico. Estos análisis podrían aplicarse también para detectar e identificar bacterias u hongos en muestras biológicas de organismos que no sean humanos (por ejemplo otros primates, aves, plantas, mamíferos, animales de granja, ganado y otros). Estas herramientas de diagnóstico podrían ser también muy útiles para fines de investigación, incluyendo pruebas clínicas y estudios epidemiológicos.

En el texto precedente se ha descrito esta invención y es evidente que pueden realizarse modificaciones en la misma. Estas modificaciones se definen en las reivindicaciones adjuntas.

TABLA 1

*Distribución (%) de patógenos nosocomiales de diversas infecciones humanas en EEUU (1990-1992)<sup>1</sup>*

<b>Patógeno</b>	<b>ITU<sup>2</sup></b>	<b>ISQ<sup>3</sup></b>	<b>ICS<sup>4</sup></b>	<b>Neumonía</b>	<b>LCR<sup>5</sup></b>
<i>Escherichia coli</i>	27	9	5	4	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	21	17	21	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	6	20	0	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	16	12	9	2	0
<i>Enterococcus faecium</i>	1	1	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	9	3	18	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	3	4	9	0
<i>Proteus mirabilis</i>	5	3	1	2	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0	0	3	1	18
Grupo B <i>Streptococci</i>	1	1	2	1	6
Otros <i>Streptococci</i>	3	5	2	1	3
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	0	0	6	45
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	0	0	0	14

Patógeno	ITU <sup>2</sup>	ISQ <sup>3</sup>	ICS <sup>4</sup>	Neumonía	LCR <sup>5</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	0	0	0	3
Otros <i>Enterococci</i>	1	1	0	0	0
Otros <i>Staphylococci</i>	2		8	13	20
<i>Candida albicans</i>	9	3	5	5	0
Otros <i>Candida</i>	2		1	3	10
<i>Enterobacter</i> spp.	5	7	4	12	2
<i>Acinetobacter</i> spp.	1	1	2	4	2
<i>Citrobacter</i> spp.	2	1	1	1	0
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	1	3	1
Otros <i>Klebsiella</i>	1	1	1	2	1
Otros	0	6	4	5	0

<sup>1</sup> Datos registrados por la National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) de 80 hospitales (Emori y Gaynes, 1993, Clin. Microbiol. Rev., 6:428-442).

<sup>2</sup> Infección del tracto urinario.

<sup>3</sup> Infección de sitio quirúrgico.

<sup>4</sup> Infección de la corriente sanguínea.

<sup>5</sup> Líquido cefalorraquídeo.

TABLA 2

Distribución (%) de patógenos de infección de la corriente sanguínea en Quebec (1995), Canadá (1992), RU (1969-1988) y EEUU (1990-1992)

Organismo	Quebec <sup>1</sup>	Canadá <sup>2</sup>	RU <sup>3</sup>		EEUU <sup>4</sup>
			de origen comunitario	adq. en hospital	adq. en hospital
<i>E. coli</i>	15,6	53,8	24,8	20,3	5,0
<i>S. epidermidis</i>	25,8	NI <sup>6</sup>	0,5	7,2	31,0
y otros					
CoNS <sup>5</sup>					
<i>S. aureus</i>	9,6	NI	9,7	19,4	16,0
<i>S. pneumoniae</i>	6,3	NI	22,5	2,2	NC <sup>7</sup>
<i>E. faecalis</i>	3,0	NI	1,0	4,2	NC
<i>E. faecium</i>	2,6	NI	0,2	0,5	NC
<i>Enterococcus</i> spp.	NC	NI	NC	NC	9,0

Organismo	Quebec <sup>1</sup>	Canadá <sup>2</sup>	RU <sup>3</sup>		EEUU <sup>4</sup>
			de origen comunitario	adq. en hospital	adq. en hospital
<i>H. influenzae</i>	1,5	NC	3,4	0,4	NC
<i>P. aeruginosa</i>	1,5	8,2	1,0	8,2	3,0
<i>K. pneumoniae</i>	3,0	11,2	3,0	9,2	4,0
<i>P. mirabilis</i>	NC	3,9	2,8	5,3	1,0
<i>S. pyogenes</i>	NC	NI	1,9	0,9	NC
<i>Enterobacter</i> spp.	4,1	5,5	0,5	2,3	4,0
<i>Candida</i> spp.	8,5	NI	NC	1,0	8,0
Otros	18,5	17,4 <sup>8</sup>	28,7	18,9	19,0

<sup>1</sup> Datos obtenidos de 270 aislados recogidos en el Centre Hospitalier de l'Université Laval (CHUL) durante un período de 5 meses (mayo a octubre de 1995).

<sup>2</sup> Datos de 10 hospitales de todo Canadá que representan 941 aislados bacterianos gram-negativos. (Chamberland y col., 1992, Clin. Infect. Dis., 15:615-628).

<sup>3</sup> Datos de un estudio de 20 años (1969-1988) de casi 4.000 aislados (Eykyn y col., 1990, J. Antimicrob. Chemother., Suppl. C. 25:41-58).

<sup>4</sup> Datos registrados por la National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) de 80 hospitales (Emori y Gaynes, 1993, Clin. Microbiol. Rev., 6:428-442).

<sup>5</sup> Estafilococos coagulasa-negativos.

<sup>6</sup> NI, no incluida(s). Este estudio incluyó sólo especies gram-negativas.

<sup>7</sup> NC, incidencia no comunicada para estas especies o géneros.

<sup>8</sup> En este caso, 17,4 representa otras especies bacterianas gram-negativas.

TABLA 3

Distribución de muestras clínicas positivas y negativas analizadas en el laboratorio de microbiología del CHUL (febrero 1994 - enero 1995)

Muestras y/o sitios clínicos(as)	Nº de muestras analizadas (%)	% de muestras positivas	% de muestras negativas
Orina	17.981 (54,5)	19,4	80,6
Cultivo de sangre/médula	10.010 (30,4)	6,9	93,1
Espuito	1.266 (3,8)	68,4	31,6

ES 2 329 202 T3

Muestras y/o sitios clínicos(as)	Nº de muestras analizadas (%)	% de muestras positivas	% de muestras negativas
Pus superficial	1.136 (3,5)	72,3	27,7
Líquido cefalorraquídeo	553 (1,7)	1,0	99,0
Líquido sinovial	523 (1,6)	2,7	97,3
Vías respiratorias	502 (1,5)	56,6	43,4
Pus profundo	473 (1,4)	56,8	43,2
Oídos	289 (0,9)	47,1	52,9
Líquido pleural y pericárdico	132 (0,4)	1,0	99,0
Líquido peritoneal	101 (0,3)	28,6	71,4
<b>Total:</b>	<b>32.966 (100,0)</b>	<b>20,0</b>	<b>80,0</b>

TABLA 4

Especies bacterianas gram-negativas (90) utilizadas para analizar la especificidad de los cebadores PCR y las sondas de DNA

Especies bacterianas	Nº de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>	Especies bacterianas	Nº de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>
<i>Acinetobacter</i> <i>baumannii</i>	1	<i>Moraxella</i> <i>phenylpyruvica</i>	1
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	3	<i>Morganella</i> <i>morganii</i>	1
<i>Actinobacillus</i> <i>lignieresii</i>	1	<i>Neisseria animalis</i>	1
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1	<i>Neisseria canis</i>	1
<i>Alcaligenes</i> <i>odorans</i>	1	<i>Neisseria caviae</i>	1
<i>Alcaligenes</i> <i>xylosoxydans</i>		<i>Neisseria cinerea</i>	1
subesp. <i>denitrificans</i>	1	<i>Neisseria cuniculi</i>	1
<i>Bacteroides</i> <i>distasonis</i>	1	<i>Neisseria elongata</i> subesp. <i>elongata</i>	1

ES 2 329 202 T3

	Especies bacterianas	Nº de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>	Especies bacterianas	Nº de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>
5	<i>Bacteroides fragilis</i>	1	<i>Neisseria elongata</i>	1
10	<i>Bacteroides ovatus</i>	1	subesp. <i>glycoytica</i>	
			<i>Neisseria</i>	1
			<i>flavescens</i>	
15	<i>Bacteroides</i>	1	<i>Neisseria</i>	1
			<i>flavescens</i>	
	<i>thetaiotaomicron</i>		<i>Branham</i>	
20	<i>Bacteroides</i>	1	<i>Neisseria</i>	18
	<i>vulgatus</i>		<i>gonorrhoeae</i>	
	<i>Bordetella</i>	1	<i>Neisseria lactamica</i>	1
25	<i>bronchiseptica</i>			
	<i>Bordetella</i>	1	<i>Neisseria</i>	4
	<i>parapertussis</i>		<i>meningitidis</i>	
30	<i>Bordetella pertussis</i>	2	<i>Neisseria mucosa</i>	2
	<i>Burkholderia</i>	1	<i>Neisseria</i>	1
	<i>cepacia</i>		<i>polysaccharea</i>	
35	<i>Citrobacter</i>	1	<i>Neisseria sicca</i>	3
	<i>amalonaticus</i>			
40	<i>Citrobacter diversus</i>	2	<i>Neisseria subflava</i>	3
	subesp. <i>koseri</i>			
	<i>Citrobacter freundii</i>	1	<i>Neisseria weaveri</i>	1
45	<i>Comamonas</i>	1	<i>Ochrobactrum</i>	1
	<i>acidovorans</i>		<i>antropi</i>	
	<i>Enterobacter</i>	1	<i>Pasteurella</i>	1
50	<i>aerogenes</i>		<i>aerogenes</i>	
	<i>Enterobacter</i>	1	<i>Pasteurella</i>	1
			<i>multocida</i>	
55	<i>agglomerans</i>			
	<i>Enterobacter</i>	1	<i>Prevotella</i>	1
	<i>cloacae</i>		<i>melaninogenica</i>	
60	<i>Escherichia coli</i>	9	<i>Proteus mirabilis</i>	3
	<i>Escherichia</i>	1	<i>Proteus vulgaris</i>	1
	<i>fergusonii</i>			
65	<i>Escherichia</i>	1	<i>Providencia</i>	1

ES 2 329 202 T3

	Especies bacterianas	Nº de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>	Especies bacterianas	Nº de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>
5	<i>hermannii</i>		<i>alcalifaciens</i>	
10	<i>Escherichia vulneris</i>	1	<i>Providencia rettgeri</i>	1
	<i>Flavobacterium</i>	1	<i>Providencia rustigianii</i>	1
15	<i>meningosepticum</i>			
	<i>Flavobacterium</i>	1	<i>Providencia stuartii</i>	1
	<i>indologenes</i>			
20	<i>Flavobacterium</i>	1	<i>Pseudomonas</i>	14
	<i>odoratum</i>		<i>aeruginosa</i>	
	<i>Fusobacterium</i>	2	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2
25	<i>necrophorum</i>			
	<i>Gardnerella</i>	1	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1
30	<i>vaginalis</i>		<i>Salmonella arizonae</i>	1
	<i>Haemophilus</i>	1		
35	<i>haemolyticus</i>			
	<i>Haemophilus</i>	12	<i>Salmonella choleraesuis</i>	1
40	<i>influenzae</i>		<i>Salmonella gallinarum</i>	1
	<i>Haemophilus</i>	1		
45	<i>parahaemolyticus</i>			
	<i>Haemophilus</i>	2	<i>Salmonella typhimurium</i>	3
50	<i>parainfluenzae</i>			
	<i>Hafnia alvei</i>	1	<i>Serratia liquefaciens</i>	1
55	<i>Kingella</i>	1	<i>Serratia marcescens</i>	1
	<i>indologenes</i>			
60	subesp. <i>suttonella</i>			
	<i>Kingella kingae</i>	1	<i>Shewanella putida</i>	1
	<i>Klebsiella</i>	1	<i>Shigella boydii</i>	1
65	<i>ornithinolytica</i>			
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	<i>Shigella</i>	1



Especies bacterianas	Nº de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>	Especies bacterianas	Nº de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>
		<i>dysenteriae</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	<i>Shigella flexneri</i>	1
<i>Moraxella atlantae</i>	1	<i>Shigella sonnei</i>	1
<i>Moraxella catarrhalis</i>	5	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1
<i>Moraxella lacunata</i>	1	<i>Yersinia enterocolitica</i>	1
<i>Moraxella osloensis</i>	1		
<sup>a</sup> La mayoría de las cepas de referencia se obtuvieron de la American Type Culture Collection (ATCC). Las demás cepas de referencia se obtuvieron (i) del Laboratoire de Santé Publique du Québec (LSPQ), (ii) del Center for Disease Control and Prevention (CDC) y (iii) de la National Culture Type Collection (NCTC).			

TABLA 5

Especies bacterianas grampositivas (97) utilizadas para analizar la especificidad de cebadores de PCR y sondas de DNA (continúa en la página siguiente).

Especies bacterianas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>	Especies bacterianas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>
<i>Abiotrophia adiacens</i>	1	<i>Micrococcus kristinae</i>	1
<i>Abiotrophia defectiva</i>	1	<i>Micrococcus luteus</i>	1
<i>Actinomyces israelii</i>	1	<i>Micrococcus lylae</i>	1
<i>Clostridium perfringens</i>	1	<i>Micrococcus roseus</i>	1
<i>Corynebacterium accolens</i>	1	<i>Micrococcus varians</i>	1
<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Peptococcus niger</i>	1

ES 2 329 202 T3

	Especies bacterianas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>	Especies bacterianas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>
5				
10	<i>aquaticum</i>			
	<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Peptostreptococcus</i>	1
	<i>bovis</i>		<i>anaerobius</i>	
15	<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Peptostreptococcus</i>	1
	<i>cervicis</i>		<i>asaccharolyticus</i>	
20	<i>Corynebacterium</i>	6	<i>Staphylococcus</i>	10
	<i>diphtheriae</i>		<i>aureus</i>	
	<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Staphylococcus</i>	1
25	<i>flavescens</i>		<i>auricularis</i>	
	<i>Corynebacterium</i>	6	<i>Staphylococcus</i>	1
	<i>genitalium</i>		<i>capitis</i>	
30			subesp. <i>urealyticus</i>	
	<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Staphylococcus</i>	1
	<i>jeikeium</i>		<i>cohnii</i>	
35	<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Staphylococcus</i>	2
	<i>kutcheri</i>		<i>epidermidis</i>	
40	<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Staphylococcus</i>	2
	<i>matruchotii</i>		<i>haemolyticus</i>	
	<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Staphylococcus</i>	2
45	<i>minutissimum</i>		<i>hominis</i>	
	<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Staphylococcus</i>	1
	<i>mycetoides</i>		<i>lugdunensis</i>	
50	<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Staphylococcus</i>	3
	<i>pseudodiphtheriticum</i>		<i>saprophyticus</i>	
	<i>Corynebacterium</i>	6	<i>Staphylococcus</i>	1
55	<i>pseudogenitalium</i>		<i>schleiferi</i>	
	<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Staphylococcus</i>	1
	<i>renale</i>		<i>sciuri</i>	
60	<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Staphylococcus</i>	1
	<i>striatum</i>		<i>simulans</i>	
65	<i>Corynebacterium</i>	1	<i>Staphylococcus</i>	1
	<i>ulcerans</i>		<i>warneri</i>	

ES 2 329 202 T3

	Especies bacterianas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>	Especies bacterianas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>
5				
10	<i>Corynebacterium urealyticum</i>	1	<i>Staphylococcus xylosus</i>	1
15	<i>Corynebacterium xerosis</i>	1	<i>Streptococcus agalactiae</i>	6
20	<i>Enterococcus avium</i>	1	<i>Streptococcus anginosus</i>	2
25	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	1	<i>Streptococcus bovis</i>	2
30	<i>Enterococcus cecorum</i>	1	<i>Streptococcus constellatus</i>	1
35	<i>Enterococcus dispar</i>	1	<i>Streptococcus crista</i>	1
40	<i>Enterococcus durans</i>	1	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1
45	<i>Enterococcus faecalis</i>	6	<i>Streptococcus equi</i>	1
50	<i>Enterococcus faecium</i>	3	<i>Streptococcus gordonii</i>	1
55	<i>Enterococcus flavescens</i>	1	Grupo C	1
60	<i>Enterococcus gallinarum</i>	3	<i>Streptococci</i>	1
65	<i>Enterococcus hirae</i>	1	Grupo D	1
			<i>Streptococci</i>	
	<i>Enterococcus mundtii</i>	1	Grupo E	1
	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	1	Grupo F	1
	<i>Enterococcus raffinosus</i>	1	<i>Streptococci</i>	1
	<i>Enterococcus saccharolyticus</i>	1	<i>Streptococcus intermedius</i>	1
			<i>Streptococcus mitis</i>	2

ES 2 329 202 T3

Especies bacterianas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>	Especies bacterianas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>
<i>Enterococcus solitarius</i>	1	<i>Streptococcus mutans</i>	1
<i>Eubacterium lentum</i>	1	<i>Streptococcus oralis</i>	1
<i>Gemella haemolysans</i>	1	<i>Streptococcus parasanguis</i>	1
<i>Gemella morbillorum</i>	1	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1	<i>Streptococcus pyogenes</i>	3
<i>Listeria innocua</i>	1	<i>Streptococcus salivarius</i>	2
<i>Listeria ivanovii</i>	1	<i>Streptococcus sanguis</i>	2
<i>Listeria grayi</i>	1	<i>Streptococcus sobrinus</i>	1
<i>Listeria monocytogenes</i>	3	<i>Streptococcus suis</i>	1
<i>Listeria murrayi</i>	1	<i>Streptococcus uberis</i>	1
<i>Listeria seeligeri</i>	1	<i>Streptococcus vestibularis</i>	1
<i>Listeria welshimeri</i>	1		

<sup>a</sup>La mayoría de las cepas de referencia se obtuvieron de la American Type Culture Collection (ATCC). Las demás cepas de referencia se obtuvieron (i) del Laboratoire de Santé Publique du Québec (LSPQ), (ii) del Center for Disease Control and Prevention (CDC) y (iii) de la National Culture Type Collection (NCTC).

TABLA 6

*Especies fúngicas (12) utilizadas para analizar la especificidad de los cebadores de PCR y las sondas de DNA*

Especies fúngicas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>
<i>Candida albicans</i>	12
<i>Candida glabrata</i>	1
<i>Candida guilliermondii</i>	1
<i>Candida kefyr</i>	3
<i>Candida krusei</i>	2
<i>Candida lusitanae</i>	1
<i>Candida parapsilosis</i>	2
<i>Candida tropicalis</i>	3
<i>Rhodotorula glutinis</i>	1
<i>Rhodotorula minuta</i>	1
<i>Rhodotorula rubra</i>	1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1
<sup>a</sup> La mayoría de las cepas de referencia se obtuvieron (i) de la American Type Culture Collection (ATCC) y (ii) del Laboratoire de Santé Publique du Québec (LSPQ).	

TABLA 7

*Ensayos de PCR desarrollados para diversos patógenos bacterianos y fúngicos clínicamente importantes*

Organismo	Par de cebadores <sup>a</sup> SEQ ID	Tamaño amplicón (pb)	Ubicuidad <sup>b</sup>	Amplificación de DNA a partir de cultivo <sup>c</sup> muestras <sup>d</sup>	
<i>Enterococcus faecium</i>	1-2	216	79/80	+	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	3-4	130	164/168 <sup>e</sup>	+	+
<i>Neisseria meningitidis</i>	5-6	177	258/258	+	+
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	7-8	149	245/260	+	NA
<i>Streptococcus agalactiae</i>	9-10	154	29/29	+	+

Organismo	Par de cebadores <sup>a</sup> SEQ ID	Tamaño amplicón (pb)	Ubicuidad <sup>b</sup>	Amplificación de DNA a partir de cultivo <sup>c</sup> muestras <sup>d</sup>	
<i>Candida albicans</i>	11-12	149	88/88	+	NA
<i>Enterococcus</i> spp. (11 especies) <sup>f</sup>	13-14	112	87/87	+	NA
<i>Neisseria</i> spp. (12 especies) <sup>f</sup>	15-16	103	321/321	+	+
<i>Staphylococcus</i> spp. (14 especies)	17-18	192	13/14	+	NA
	19-20	221	13/14	+	NA
<i>Streptococcus</i> spp. (22 especies) <sup>f</sup>	21-22	153	210/214 <sup>g</sup>	+	+
Detección universal <sup>h</sup> (95 especies) <sup>f</sup>	23-24	309	104/ 116 <sup>i</sup>	+	+

<sup>a</sup> Todos los pares de cebadores son específicos en ensayos PCR, ya que no se observó amplificación con DNA de las especies bacterianas y fúngicas distintas a las especies de interés enumeradas en las tablas 4, 5 y 6.

<sup>b</sup> La ubicuidad se analizó utilizando cepas de referencia, así como cepas de todo el mundo, que son representativas de la diversidad dentro de cada especie o género diana

<sup>c</sup> Para todos los pares de cebadores, las amplificaciones por PCR realizadas directamente a partir de una suspensión microbiana normalizada (MacFarland) o a partir de una colonia fueron todas específicas y ubicuas

<sup>d</sup> Ensayos PCR realizados directamente a partir de cultivos de sangre, muestras de orina o líquido cefalorraquídeo. NA, no analizado.

<sup>e</sup> Ninguna de las cuatro cepas de *L. monocytogenes* no detectadas es un aislado clínico. Estas cepas se aislaron de alimentos y no se asocian a una infección humana.

<sup>f</sup> Las especies bacterianas analizadas incluyen todas las clínicamente relevantes para cada género (tablas 4 y 5). Todas estas especies se amplificaron eficazmente mediante su ensayo PCR específico de género respectivo, excepto

Organismo	Par de cebadores <sup>a</sup> SEQ ID	Tamaño amplicón (pb)	Ubicuidad <sup>b</sup>	Amplificación de DNA a partir de cultivo <sup>c</sup> muestras <sup>d</sup>
en el caso del ensayo específico de <i>Staphylococcus</i> , que no amplifica <i>S. sciuri</i> .				
<sup>g</sup> El ensayo PCR específico de <i>Streptococcus</i> no amplificó 3 de 9 cepas de <i>S. mutans</i> ni 1 de 3 cepas de <i>S. salivarius</i> .				
<sup>h</sup> Los cebadores seleccionados para la detección bacteriana universal no amplifican DNA de origen no bacteriano, incluyendo DNA humano y otros tipos de DNA genómico eucariota.				
<sup>i</sup> Para la amplificación universal, las 95 especies bacterianas analizadas representan las especies bacterianas de mayor importancia clínica enumeradas en las tablas 4 y 5. Las 12 cepas no amplificadas son representantes de los géneros <i>Corynebacterium</i> (11 especies) y <i>Stenotrophomonas</i> (1 especie).				

TABLA 8

Genes diana para los diversos ensayos de amplificación específicos de género, específicos de especie y universales

Microorganismos	Gen	Proteína codificada
<i>Candida albicans</i>	<i>tuf</i>	factor de elongación de traducción EF-Tu
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>ddl</i>	D-alanina:D-alanina-ligasa
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>actA</i>	proteína inductora de ensamblaje de actina
<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>omp</i>	proteína de la membrana exterior
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>AMPc</i>	factor AMPc
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	desconocido	desconocido
<i>Enterococcus</i> spp.	<i>tuf</i>	factor de alargamiento de traducción EF-Tu
<i>Neisseria</i> spp.	<i>asd</i>	ASA-deshidrogenasa
<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>tuf</i>	factor de alargamiento de traducción EF-Tu
<i>Streptococcus</i> spp.	<i>recA</i>	proteína RecA
Detección universal	<i>tuf</i>	factor de alargamiento de traducción EF-Tu

TABLA 9

*Genes de resistencia a antibióticos seleccionados para fines de diagnóstico*

Genes	SEQ ID NO		Antibióticos	Bacterias <sup>a</sup>
	cebadores seleccionados	fragmento de origen		
<i>bla<sub>oxa</sub></i>	49-50	110	β-lactamas	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pseudomonadaceae</i>
<i>bla<sub>Z</sub></i>	51-52	111	β-lactamas	<i>Enterococcus</i> spp.
<i>aac6'-IIa</i>	61-64	112	Aminoglucósidos	<i>Pseudomonadaceae</i>
<i>ermA</i>	91-92	113	Macrólidos	<i>Staphylococcus</i> spp.
<i>ermB</i>	93-94	114	Macrólidos	<i>Staphylococcus</i> spp.
<i>ermC</i>	95-96	115	Macrólidos	<i>Staphylococcus</i> spp.
<i>vanB</i>	71-74	116	Vancomicina	<i>Enterococcus</i> spp.
<i>vanC</i>	75-76	117	Vancomicina	<i>Enterococcus</i> spp.
<i>aad(6')</i>	173-174	-	Estreptomicina	<i>Enterococcus</i> spp.

<sup>a</sup> Bacterias con una gran incidencia para los genes de resistencia a los antibióticos especificados. No se excluye la presencia de estos genes de resistencia a los antibióticos en otras bacterias.

TABLA 10

*Genes de resistencia a los antibióticos de nuestras solicitudes de patente US (N.S. 08/526840) y PCT (PCT/95/00528) en tramitación junto con la presente para los que hemos seleccionado pares de cebadores de PCR*

Genes	SEQ ID NO de cebadores seleccionados	Antibióticos	Bacterias <sup>a</sup>
<i>bla<sub>tem</sub></i>	37-40	β-lactamas	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Haemophilus</i> spp., <i>Neisseria</i> spp.
<i>bla<sub>rob</sub></i>	45-48	β-lactamas	<i>Haemophilus</i> spp., <i>Pasteurella</i> spp.
<i>bla<sub>shv</sub></i>	41-44	β-lactamas	<i>Klebsiella</i> spp. y otras,



Genes	SEQ ID NO de cebadores seleccionados	Antibióticos	Bacterias <sup>a</sup>
			<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>aadB</i>	53-54	Aminoglucósidos	<i>Enterobacteriaceae</i> ,
<i>aacC1</i>	55-56		<i>Pseudomonadaceae</i>
<i>aacC2</i>	57-58		
<i>aacC3</i>	59-60		
<i>aacA4</i>	65-66		
<i>mecA</i>	97-98	$\beta$ -lactamas	<i>Staphylococcus</i> spp.
<i>vanA</i>	67-70	Vancomicina	<i>Enterococcus</i> spp.
<i>satA</i>	81-82	Macrólidos	<i>Enterococcus</i> spp.
<i>aac(6')-aph(2'')</i>	83-86	Aminoglucósidos	<i>Enterococcus</i> spp.,
			<i>Staphylococcus</i> spp.
<i>vat</i>	87-88	Macrólidos	<i>Staphylococcus</i> spp.
<i>vga</i>	89-90	Macrólidos	<i>Staphylococcus</i> spp.
<i>msrA</i>	77-80	Eritromicina	<i>Staphylococcus</i> spp.,
<i>int</i>	99-102	$\beta$ -lactamas,	<i>Enterobacteriaceae</i>
		trimetoprim,	
<i>sul</i>	103-106	aminoglucósidos,	<i>Pseudomonadaceae</i>
		antiséptico,	
		cloramfenicol	

<sup>a</sup> Bacterias con una gran incidencia para los genes de resistencia a los antibióticos especificados. No se excluye la presencia de estos genes de resistencia a los antibióticos en otras bacterias.

TABLA 11

Correlación entre difusión en disco y amplificación PCR de genes de resistencia a los antibióticos en especies de *Staphylococcus*<sup>a</sup>

Antibiótico	Fenotipo	PCR	Difusión en disco (Kirby-Bauer) <sup>b</sup>		
			Resistente	Intermedio	Sensible
Penicilina	<i>blaZ</i>	+	165	0	0
		-	0	0	31
Oxacilina	<i>mecA</i>	+	51	11	4
		-	2	0	128
Gentamicina	<i>aac(6')aph(2'')</i>	+	24	18	6
		-	0	0	148

Antibiótico	Fenotipo	PCR	Difusión en disco (Kirby-Bauer) <sup>b</sup>		
			Resistente	Intermedio	Sensible
Eritromicina	<i>ermA</i>	+	15	0	0
	<i>ermB</i>	+	0	0	0
	<i>ermC</i>	+	43	0	0
	<i>msrA</i>	+	4	0	0
		-	0	1	136

<sup>a</sup>Las cepas de *Staphylococcus* estudiadas incluyen *S. aureus* (82 cepas), *S. epidermidis* (83 cepas), *S. hominis* (2 cepas), *S. capitis* (3 cepas), *S. haemolyticus* (9 cepas), *S. simulans* (12 cepas) y *S. warneri* (5 cepas), para un total de 196 cepas.

<sup>b</sup>El análisis de sensibilidad se realizó por el método de Kirby-Bauer según el protocolo recomendado por el National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

TABLA 12

Correlación entre perfiles de difusión en disco y amplificación PCR de genes de resistencia a los antibióticos en especies de *Enterococcus*<sup>a</sup>

Antibiótico	Fenotipo	PCR	Difusión en disco (Kirby-Bauer) <sup>b</sup>	
			Resistente	Sensible
Ampicilina	<i>blaZ</i>	+	0	2
		-	1	30
Gentamicina	<i>aac(6')aph(2'')</i>	+	51	1
		-	3	38
Estreptomicina	<i>aad(6')</i>	+	26	15
		-	6	27
Vancomicina	<i>vanA</i>	+	36	0
	<i>vanB</i>	+	26	0
		-	0	40

<sup>a</sup>Las cepas de *Enterococcus* estudiadas incluyen *E. faecalis* (33 cepas) y *E. faecium* (69 cepas), para un total de 102 cepas.

<sup>b</sup>El análisis de sensibilidad se realizó por el método de Kirby-Bauer según el protocolo recomendado por el National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

TABLA 13

Origen de las secuencias de tuf en la lista de secuencias

SEQ ID NO	Especies bacterianas o fúngicas	Fuente
<b>118</b>	<i>Abiotrophia adiacens</i>	Esta patente
<b>119</b>	<i>Abiotrophia defectiva</i>	Esta patente
<b>120</b>	<i>Candida albicans</i>	Esta patente
<b>121</b>	<i>Candida glabrata</i>	Esta patente
<b>122</b>	<i>Candida krusei</i>	Esta patente
<b>123</b>	<i>Candida parapsilosis</i>	Esta patente
<b>124</b>	<i>Candida tropicalis</i>	Esta patente
<b>125</b>	<i>Corynebacterium accolens</i>	Esta patente
<b>126</b>	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Esta patente
<b>127</b>	<i>Corynebacterium genitalium</i>	Esta patente
<b>128</b>	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	Esta patente
<b>129</b>	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	Esta patente
<b>130</b>	<i>Corynebacterium striatum</i>	Esta patente
<b>131</b>	<i>Enterococcus avium</i>	Esta patente
<b>132</b>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Esta patente
<b>133</b>	<i>Enterococcus faecium</i>	Esta patente
<b>134</b>	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Esta patente
<b>135</b>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	Esta patente
<b>136</b>	<i>Listeria innocua</i>	Esta patente
<b>137</b>	<i>Listeria ivanovii</i>	Esta patente
<b>138</b>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Esta patente
<b>139</b>	<i>Listeria seeligeri</i>	Esta patente
<b>140</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Esta patente
<b>141</b>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Esta patente
<b>142</b>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Esta patente
<b>143</b>	<i>Staphylococcus simulans</i>	Esta patente
<b>144</b>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Esta patente
<b>145</b>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Esta patente
<b>146</b>	<i>Streptococcus salivarius</i>	Esta patente
<b>147</b>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Base de datos
<b>148</b>	<i>Bacillus subtilis</i>	Base de datos
<b>149</b>	<i>Bacteroides fragilis</i>	Base de datos

	SEQ ID NO	Especies bacterianas o fúngicas	Fuente
5	<b>150</b>	<i>Borrelia burgdorferi</i>	Base de datos
	<b>151</b>	<i>Brevibacterium linens</i>	Base de datos
	<b>152</b>	<i>Burkholderia cepacia</i>	Base de datos
10	<b>153</b>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Base de datos
	<b>154</b>	<i>Escherichia coli</i>	Base de datos
15	<b>155</b>	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	Base de datos
	<b>156</b>	<i>Flavobacterium ferrugineum</i>	Base de datos
	<b>157</b>	<i>Haemophilus influenzae</i>	Base de datos
20	<b>158</b>	<i>Helicobacter pylori</i>	Base de datos
	<b>159</b>	<i>Micrococcus luteus</i>	Base de datos
	<b>160</b>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Base de datos
25	<b>161</b>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	Base de datos
	<b>162</b>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Base de datos
	<b>163</b>	<i>Rickettsia prowazekii</i>	Base de datos
30	<b>164</b>	<i>Salmonella typhimurium</i>	Base de datos
	<b>165</b>	<i>Shewanella putida</i>	Base de datos
35	<b>166</b>	<i>Stigmatella aurantiaca</i>	Base de datos
	<b>167</b>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Base de datos
	<b>168</b>	<i>Thiobacillus cuprinus</i>	Base de datos
40	<b>169</b>	<i>Treponema pallidum</i>	Base de datos
	<b>170</b>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Base de datos
	<b>171</b>	<i>Wolinella succinogenes</i>	Base de datos

# ES 2 329 202 T3

## Anexo I

Estrategia para la selección a partir de secuencias de tuf de los cebadores de amplificación universales

5		491	517...776	802	SEQ ID NO
	<i>Abiotrophia adiacens</i>	CAACTGTAAC TGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCTGGT	GATAACGTAA		118
10	<i>Abiotrophia defectiva</i>	CTACCGTTAC CGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCAGGC	GACAACGTAC		119
	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	CGACTGTTAC CGGCGTTGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCTGGC	GACAACGTCA		147
15	<i>Bacillus subtilis</i>	CAACTGTTAC AGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCTGGA	GATAACA CTG		148
	<i>Bacteroides fragilis</i>	CAGTTGTAAC AGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCGGGT	GATAACGTAA		149
20	<i>Borrelia burgdorferi</i>	CTACTGTTAC TGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCTGGT	GATAATGTTG		150
	<i>Brevibacterium linens</i>	CGACTGTCAC CGCTATCGAG ATGTTCC...AGATGGT	CATGCCCGGC GACAACACCG		151
25	<i>Burkholderia cepacia</i>	CGACCTGCAC GGGCGTTGAA ATGTTCC...AAATGGT	CATGCCCGGC GACAACGTGT		152
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	CGATTGTTAC TGGGGTTGAA ATGTTCA...AGATGGT CATGCCTGGG	GATAACGTG		153
30	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	CCACCGTTAC CGGTATCGAG ATGTTCC...AGATGGT CATGCCTGGC	GACAACGTG		126
	<i>Corynebacterium genitalium</i>	CCACCGTTAC CTCCATCGAG ATGTTCA...AGATGGT TATGCCGGGC	GACAACGTG		127
35	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	CCACCGTTAC CTCCATCGAG ATGTTCA...AGATGGT TATGCCGGGC	GACAACGTG		128
	<i>Enterococcus faecalis</i>	CAACYGTTAC AGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCTGGT	GATAACGTG		132
	<i>Enterococcus faecium</i>	CAACAGTTAC TGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT CATGCCCGGT	GACAACGT..		133
40	<i>Escherichia coli</i>	CTACCTGTAC TGGCGTTGAA ATGTTCC...AGATGGT AATGCCGGGC	GACAACATCA		154
	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	ACGTCATCAC CGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT TACTCCGGGT	GACACGGTCA		155
45	<i>Flavobacterium ferrugineum</i>	CTACCGTTAC AGGTGTGAG ATGTTCC...AAATGGT TATGCCTGGT	GATAACACCA		156
	<i>Gardnerella vaginalis</i>	CCACCGTCAC CTCTATCGAG ACCTTCC...AAATGGT TCAGCCAGGC	GATCACGCAA		135
50	<i>Haemophilus influenzae</i>	CTACTGTAAC GGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCAGGC	GATAACATCA		157
	<i>Helicobacter pylori</i>	CGACTGTAAC CGGTGTAGAA ATGTTTA...AAATGGT TATGCCTGGC	GATAATGTGA		158
55	<i>Listeria monocytogenes</i>	TAGTAGTAAC TGGAGTAGAA ATGTTCC...AAATGGT AAYGCCTGGT	GATAACATTG		138
	<i>Micrococcus luteus</i>	CCACTGTCAC CGGCATCGAG ATGTTCC...AGATGGT	CATGCCCGGC GACAACACCG		159
60	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	CCACCGTCAC CGGTGTGGAG ATGTTCC...AGATGGT	GATGCCCGGT GACAACACCA		160
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	CAGTTGTTAC TGGAATTGAA ATGTTCA...AAATGGT TCTACCTGGT	GATAATGCTT		161

65

# ES 2 329 202 T3

	491	517...776	802	SEQ ID NO
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CC <u>ACCTGTACCGGCGTTGAAATGTTCC...AAATGGT AATGCCGGGT</u>		162
		GAGAACGTAA		
5	<i>Rickettsia prowazekii</i>	CG <u>ACTTGTAC AGGTGTAGAA ATGTTCA...AGATGGT TATGCCTGGA</u>		163
		GATAATGCTA		
	<i>Salmonella typhimurium</i>	CT <u>ACCTGTAC TGGCGTTGAAATGTTCC...AGATGGT AATGCCGGGC</u>		164
		GACAACATCA		
10	<i>Shewanella putida</i>	CA <u>ACGTGTACTGGTGTAGAAATGTTCC...AGATGGT AATGCCAGGC</u>		165
		GATAACATCA		
	<i>stigmatella aurantiaca</i>	CGGT <u>CATCAC GGGGGTGGAG ATGTTCC...AGATGGT</u>		166
		GATGCCGGGA GACAACATCG		
15	<i>Staphylococcus aureus</i>	CA <u>ACTGTTAC AGGTGTTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCTGGT</u>		140
		GATAACGTTG		
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	CA <u>ACTGTTAC TGGTGTAGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCTGGC</u>		141
		GACAACGTTG		
20	<i>Streptococcus agalactiae</i>	CAGT <u>TGTTAC TGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCTGGT</u>		144
		GATAACGTTA		
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CAGT <u>TGTTAC TGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCTGGT</u>		145
		GATAACGTGA		
25	<i>Streptococcus pyogenes</i>	CTG <u>TGTTAC TGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCTGGT</u>		167
		GATAACGTGA		
	<i>Thiobacillus cuprinus</i>	CC <u>ACCTGCAC CGGCGTGGAA ATGTTCA...AAATGGT</u>		168
		CATGCCCGGC GATAATGTGA		
30	<i>Treponema pallidum</i>	CAGT <u>GTTTACTGGCATTGAGATGTTTA...ACATGGT GAAGCCGGGG</u>		169
		GATAACACCA		
	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	CTG <u>TGTTAC AGGAATTGAA ATGTTTA...ATTGGT TATGCCAGGT</u>		170
		GATGACGTTG		
	<i>wolinella succinogenes</i>	CA <u>ACCGTAAC TGGCGTTGAG ATGTTCC...AGATGGT TATGCCTGGT</u>		171
		GACAACGTTA		
35	<i>Candida albicans</i>	GTG <u>TACCACTGAAGTCAARTCCGTTG...AGRAATT GGAAGAAAAT</u>		120
		CCAAAATTCG		
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	GTG <u>TCACTASCGAAGTCAAGTCTGTTG...AGAAGATTGAGGAGTCC</u>		
		CCTAAGTTG		
40	Human	TG <u>ACAGGCAT TGAGATGTTT CACAAGA...AGAAGGAGCTTGCCATG</u>		
		CCCGGGAGG		
45	Secuencias seleccionad	<u>ACIKKIAC IGGIGTICAR ATGTT</u>	<u>ATGGT IATSCCIGCI GAIAAYRT</u>	

Secuencias de  
cebador

SEQ ID NO:23

SEQ ID NO: 24<sup>b</sup>

ACIKKIAC IGGIGTIGAR ATGTT AYRTT ITCICIGGC ATIACCAT

La numeración de las secuencias se refiere al fragmento de gen tuf de *E. coli*. Los nucleótidos subrayados son idénticos a la secuencia seleccionada o corresponden a dicha secuencia.

<sup>a</sup> "I" representa inosina, que es un análogo de nucleótido que puede unirse a cualquiera de los cuatro nucleótidos A, C, G ó T. "K", "R" e "Y" designan posiciones de nucleótido que están degeneradas. "K" representa T o G; "R" representa A o G; "Y" representa C o T.

<sup>b</sup> Esta secuencia es el complemento inverso de la secuencia de tuf arriba indicada.

# ES 2 329 202 T3

## Anexo II

Estrategia para la selección a partir de secuencias de tuf de los cebadores de amplificación específicos para el género *Enterococcus*

5		314	348	401	435	SEQ ID NO
	<i>Bacillus subtilis</i>	CGCGAC <u>ACTG</u> <u>AAAAACCATT</u> <u>CATGATGCCA</u> GTTGA...CGCGG				148
		ACAAGTTAAA <u>GTCGGTGACG</u> <u>AAGTTGAAAT</u>				
10	<i>Bacteroides fragilis</i>	CGCGAT <u>GTTG</u> <u>ATAAACCTTT</u> <u>CTTGATGCCG</u> GTAGA...ACTGG				149
		TGTTATCCAT <u>GTAGGTGATG</u> <u>AAATCGAAAT</u>				
	<i>Burkholderia cepacia</i>	CGTGCA <u>GTTG</u> <u>ACGGCGCGTT</u> <u>CCTGATGCCG</u> GTGGA...CGCGG				152
		CATC <u>GTTGAAG</u> <u>GTCGGCGAAG</u> <u>AAATCGAAAT</u>				
15	<i>Chlamydia trachomatis</i>	AGAGA <u>AATTG</u> <u>ACAAGCCTTT</u> <u>CTTAATGCCT</u> ATTGA...CGTGG				153
		AATT <u>GTTAAA</u> <u>GTTTCCCAT</u> <u>AAGTTCAGTT</u>				
	<i>Corynebacterium diptheriae</i>	CGTGAG <u>ACCG</u> <u>ACAAGCCATT</u> <u>CCTCATGCCT</u> ATCGA...CGTGG				126
		CTCCCTGAAG <u>GTC AACGAGG</u> <u>ACGTCGAGAT</u>				
20	<i>Enterococcus avium</i>	CGTGAT <u>ACTG</u> <u>ACAAACCATT</u> <u>CATGATGCCA</u> GTCGA...CGTGG				131
		ACAAGTTTCGC <u>GTTGGTGACG</u> <u>AAGTTGAAAT</u>				
	<i>Enterococcus faecalis</i>	CGTGAT <u>ACTG</u> <u>ACAAACCATT</u> <u>CATGATGCCA</u> GTCGA...CGTGG				132
		TGAAGTTTCGC <u>GTTGGTGACG</u> <u>AAGTTGAAAT</u>				
	<i>Enterococcus faecium</i>	CGTGACA <u>ACG</u> <u>ACAAACCATT</u> <u>CATGATGCCA</u> GTTGA...CGTGG				133
25		ACAAGTTTCGC <u>GTTGGTGACG</u> <u>AAGTTGAAGT</u>				
	<i>Enterococcus gallinarum</i>	CGTG <u>TA</u> <u>CTG</u> <u>ACAAACCATT</u> <u>CATGATGCCA</u> GTCGA...CGTGG				134
		ACAAGTTTCGC <u>GTTGGTGATG</u> <u>AAGTAGAAAT</u>				
	<i>Escherichia coli</i>	CGTGCG <u>ATTG</u> <u>ACAAGCCGTT</u> <u>CCTGCTGCCG</u> ATCGA...CGCGG				154
		TATCATCAAA <u>GTTGGTOAAG</u> <u>AAGTTGAAAT</u>				
30	<i>Gardnerella vaginalis</i>	CACGAT <u>CTTG</u> <u>ACAAGCCATT</u> <u>CTTGATGCCA</u> ATCGA...CGTGG				135
		TAAGCTCCCA <u>ATCAACACC</u> <u>CAGTTGAGAT</u>				
	<i>Haemophilus influenzae</i>	CGTGCG <u>ATTG</u> <u>ACCAACCGTT</u> <u>CCTTCTTCCA</u> ATCGA...CGAGG				157
		TATTATCCGT <u>ACAGGTGATG</u> <u>AAGTAGAAAT</u>				
35	<i>Helicobacter pylori</i>	AGAGAC <u>ACTG</u> <u>AAAAAACTTT</u> <u>CTTGATGCCG</u> GTTGA...AGAGG				158
		CGTGGTGAAG <u>GTAGGCGATG</u> <u>AAGTGAAAT</u>				
	<i>Listeria monocytogenes</i>	CGTGAT <u>ACTG</u> <u>ACAAACCATT</u> <u>CATGATGCCA</u> GTTGA...CGTGG				138
		ACAAGTTAAA <u>GTTGGTGACG</u> <u>AAGTAGAAGT</u>				
40	<i>Micrococcus luteus</i>	CGCGACA <u>AGG</u> <u>ACAAGCCGTT</u> <u>CCTGATGCCG</u> ATCGA...CGCGG				159
		CACCTGAAG <u>ATCAACTCCG</u> <u>AGGTCGAGAT</u>				
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	CGCGAG <u>ACCG</u> <u>ACAAGCCGTT</u> <u>CCTGATGCCG</u> GTCGA...CGCGG				160
		CGTGATCAAC <u>GTGAACGAGG</u> <u>AAGTTGAGAT</u>				
45	<i>Mycoplasma genitalium</i>	CGTGAAGTAG <u>ATAAACCTTT</u> <u>CTTATTAGCA</u> ATTGA...AGAGG				161
		TGAACCTCAA <u>GTAGGTCAAG</u> <u>AAGTTGAAAT</u>				
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CGTGCCGTGG <u>ACAAACCATT</u> <u>CCTGCTGCCT</u> ATCGA...CGAGG				162
		TATCATCCAC <u>GTTGGTGACG</u> <u>AGATTGAAAT</u>				
50	<i>Salmonella typhimurium</i>	CGTGCG <u>ATTG</u> <u>ACAAGCCGTT</u> <u>CCTGCTGCCG</u> ATCGA...CGCGG				164
		TATCATCAAA <u>GTTGGCGAAG</u> <u>AAGTTGAAAT</u>				
	<i>Shewanella putida</i>	CGTGAC <u>ATCG</u> <u>ATAAGCCGTT</u> <u>CCTACTGCCA</u> ATCGA...CGTGG				165
		TATTGTACGC <u>GTAGGCGACG</u> <u>AAGTTGAAAT</u>				
55	<i>Staphylococcus aureus</i>	CGTGTT <u>CTG</u> <u>ACAAACCATT</u> <u>CATGATGCCA</u> GTTGA...CGTGG				140
		TCAAATCAAA <u>GTTGGTGAAG</u> <u>AAGTTGAAAT</u>				
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	CGTGATTGTG <u>ACAAACCATT</u> <u>CATGATGCCA</u> GTTGA...CGTGG				141
		TCAAATCAAA <u>GTWGGTGAAG</u> <u>AAGTTGAAAT</u>				
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	CGTGATTCTG <u>ACAAACCATT</u> <u>CATGATGCCA</u> GTTGA...CGTGG				142
		TCAAATCAAA <u>GTCGGTGAAG</u> <u>AAATCGARAT</u>				
60	<i>Streptococcus agalactiae</i>	CGTGAT <u>ACTG</u> <u>ACAAACCCTTT</u> <u>ACTTCTTCCA</u> GTTGA...CGTGG				144
		TACTGTTCTG <u>GTCAACGACG</u> <u>AAGTTCAAAT</u>				
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CGTGAC <u>ACTG</u> <u>ACAAACCATT</u> <u>GCTTCTTCCA</u> GTCGA...CGTGG				145
		TATCGTTAAA <u>GTCAACGACG</u> <u>AAATCGAAAT</u>				
65	<i>Streptococcus pyogenes</i>	CGCGAC <u>ACTG</u> <u>ACAAACCATT</u> <u>GCTTCTTCCA</u> GTCGA...CGTGG				167
		TACTGTTCTG <u>GTCAACGACG</u> <u>AAATCGAAAT</u>				

## ES 2 329 202 T3

314 348 401 435 SEQ ID NO  
*Ureaplasma* CGTAGTACTG ACAAACCATT CTTATTAGCA ATTGA...CGTGG 170  
*urealyticum* TGTATTAAAA GTTAATGATG AGGTTGAAAT  
 5 Secuencias TACTG ACAAACCATT CATGATG GTTTCGC GTTGGTGACG AAGTT  
 selecciona

10 Secuencias de SEQ ID NO: 13 SEQ ID NO: 14<sup>a</sup>  
 cebador CTG ACAAACCATT CATGATG AACTTC GTCACCAACCG CGAAC  
 específico de  
 género

15 La numeración de las secuencias se refiere al fragmento de gen tuf de *E. faecalis*. Los nucleótidos subrayados son idénticos a la secuencia seleccionada o corresponden a dicha secuencia.

20 <sup>a</sup>Esta secuencia es el complemento inverso de la secuencia de tuf arriba indicada.

25 NOTA: Los cebadores de arriba amplifican también secuencias de tuf de especies de *Abiotrophia*; este género se ha relacionado recientemente con el género *Enterococcus* mediante análisis con rRNA 16S.



# ES 2 329 202 T3

## Anexo III

Estrategia para la selección a partir de secuencias de tuf de cebadores de amplificación específicos para el género *Staphylococcus*

5

	385	420.....579	611	SEQ ID NO
10	<i>Bacillus subtilis</i>	TGCC <u>CGTGTA GAACGCGGAC AAGTTAAAGT</u> CGG.....TTG CTA <u>AAACCAGG</u> TACAATCACT CCACACAGCA TGGCCGTGTA GAACGCGGAC AAGTTAAAGT CGG.....TTG CTA <u>AAACCAGG</u> TACAATCACT CCACACAGCA		148
	<i>Bacteroides fragilis</i>	AGGTCGTATC GAAACTGGTG TTATCCATGT AGG.....TTT GTAAACCGGG TCAGATTAAA CCTCACTCTA		149
15	<i>Burkholderia cepacia</i>	GGGTCGTGTC GAGCGCGGCA TCGTGAAGGT CGG.....TGG CGAAGCCGGG TTCGATCAC CCGCACACGC		152
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	TGGACGTATT GAGCGTGGAA TTGTTAAAGT TTC.....TTT GCTTGCCAAA CAGTGTTAAA CCTCATACAC		153
20	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	CGGCCGTGTT GAGCGTGGCT CCCTGAAGGT CAA.....TTG TTAAGCCAGG CGCTTACACC CCTCACACCG		126
	<i>Enterococcus faecalis</i>	AGGACGTGTT GAACGTGGTG AAGTTCGCGT TGG.....TAG CTA <u>AAACCAGC</u> TACAATCACT CCACACACAA		132
	<i>Enterococcus faecium</i>	AGGTCGTGTT GAACGTGGAC AAGTTCGCGT TGG.....TAG CTA <u>AAACCAGG</u> TACAATCACA CCTCCTACAA		133
25	<i>Escherichia coli</i>	CGGTCGTGTA GAACGCGGTA TCATCAAAGT TGG.....TGG CTAAGCCGGG ACCATCAAG CCGCACACCA		154
	<i>Gardnerella vaginalis</i>	CGGTCGTGTT GAGCGTGGTA AGCTCCCAAT CAA.....TGG CTGCTCCAGG TTCTGTGACT CCACACACCA		135
30	<i>Haemophilus influenzae</i>	AGGTCGTGTA GAACGAGGTA TTATCCGTAC AGG.....TAG CGAAACCAGG TTCAATCACA CCACACACTG		157
	<i>Helicobacter pylori</i>	AGGTAGGATT GAAAGAGGCG TGGTGAAAGT AGG.....TAT GCAAACCAGG TTCTATCACT CCGCACAAGA		158
35	<i>Listeria monocytogenes</i>	TGGACGTGTT GAACGTGGAC AAGTTAAAGT TGG.....TAG CTA <u>AAACCAGG</u> TTCGATTACT CCACACACTA		138
	<i>Micrococcus luteus</i>	CGGTCGCGCC GAGCGCGGCA CCCTGAAGAT CAA.....TGG TGGAGCCGGG CTCCATCAC CCGCACACCA		159
40	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	CGGACGTGTG GAGCGCGGCG TGATCAACGT GAA.....TCA CCAAGCCCGG CACCACCACG CCGCACACCG		160
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	AGGAAGAGTT GAAAGAGGTG AACTCAAAGT AGG.....TAG CAAAACCAGG CTCTATTAAA CCGCACAAGA		161

45

50

55

60

65

## ES 2 329 202 T3

	385	420.....579	611	SEQ ID NO
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CGG <u>CCGTGTA</u> <u>GAGCGAGGTA</u> <u>TCATCCACGT</u> TGG.....TGG			162
	CCAAACGGGG TACTATCACT <u>CCTCACACCA</u>			
5 <i>Salmonella typhimurium</i>	CGGT <u>CGTGTA</u> <u>GAGCGCGGTA</u> <u>TCATCAAAGT</u> GGG.....TGG			164
	CTAAGCCGGG <u>CACCATCAAG</u> <u>CCGCACACCA</u>			
<i>Shewanella putida</i>	AGGT <u>CGTGTT</u> <u>GAGCGTGGTA</u> <u>TTGTACGCGTAGG</u> .....TAG CGAAGCCAGG			165
	TTCAATCAAC <u>CCACACACTA</u>			
10 <i>Staphylococcus aureus</i>	AGG <u>CCGTGTT</u> <u>GAACGTGGTC</u> <u>AAATCAAAGT</u> TGG.....TAG CTGCTCCTGG			140
	TTCAATTACA <u>CCACATACTG</u>			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	AGG <u>CCGTGTT</u> <u>GAACGTGGTC</u> <u>AAATCAAAGT</u> WGG.....TAG			141
	CTGCTCCTGG <u>TTCTATTACA</u> <u>CCACACACAA</u>			
15 <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	AGGCCSTGTT <u>GAACGTGGTC</u> <u>AAATCAAAGT</u> CGG.....TAG CTGCTCCTGG			142
	TACTATCACA <u>CCACATACAA</u>			
<i>Staphylococcus simulans</i>	AGGCCGTGTT <u>GAACGTGGTC</u> <u>AAATCAAAGT</u> CGG.....TAG CAGCTCCTGG			143
	CTCTATTACT <u>CCACACACAA</u>			
20 <i>Streptococcus agalactiae</i>	AGGACGTATC <u>GACCGTGGTA</u> <u>CTGTTCTGT</u> CAA.....TTG CTA <u>AAACCAGG</u>			144
	TTCAATCAAC <u>CCACACACTA</u>			
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	AGGACGTATC <u>GACCGTGGTA</u> <u>TCGTTAAAGT</u> CAA.....TCG CTA <u>AAACCAGG</u>			145
	TTCAATCAAC <u>CCACACACTA</u>			
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	TGGACGTGTT <u>GAACGTGGTG</u> <u>TATTAAGT</u> TAA.....TTG TAA <u>AAACCAGG</u>			170
	ATCAATTAAA <u>CCTCACCATA</u>			
25 Secuencias seleccionad	<u>CCGTGTT</u> <u>GAACGTGGC</u> <u>AAATCAAA</u>	<u>GCTCCTGG</u> <u>YWCWATYACA</u> <u>CCACAYA</u>		
30 Secuencias de cebador específico de género	SEQ ID NO: 17 CCGTGTT <u>GAACGTGGTC</u> <u>AAATCAAA</u>	SEQ ID NO: 18 <sup>b</sup> TRTGTGGT GTRATWGWRC CAGGAGC		

La numeración de las secuencias se refiere al fragmento de gen tuf de *S. aureus*. Los nucleótidos subrayados son idénticos a la secuencia seleccionada o corresponden a dicha secuencia.

<sup>a</sup> "R", "W" e "Y" designan posiciones de nucleótido que están degeneradas. "R" representa A o G; "W" representa A o T; "Y" representa C o T.

<sup>b</sup> Esta secuencia es el complemento inverso de la secuencia de tuf arriba indicada.

# ES 2 329 202 T3

## Anexo IV

Estrategia para la selección a partir de secuencias de *tuf* de los cebadores de amplificación específicos para la especie *Candida albicans*

5		58	90	181	213	SEQ ID NO
	<i>Candida albicans</i>	CGTCAAGAAG GTTGGTTACA ACCCAAAGAC TGT...CAA				120
		ATCCGGTAAA GTTACTGGTA AGACCTTGTT				
10	<i>Candida glabrata</i>	CATCAAGAAG GTCGGTTACA ACCCAAAGAC TGT...CAA				121
		GGCTGGTGTC GTCAAGGGTA AGAYCTGTT				
	<i>Candida krusei</i>	CATCAAGAAG GTTGGTTACA ACCCAAAGAC TGT...CAA				122
		GGCAGGTGTT GTTAAGGGTA AGACCTTATT				
15	<i>Candida parapsilosis</i>	CGTCAAGAAG GTTGGTTACA ACCCTAAGC TGT...TAA				123
		AGCTGGTAAG GTTACCGGTA AGACCTTGTT				
	<i>Candida tropicalis</i>	CGTCAAGAAG GTTGGTTACA ACCCTAAGGC TGT...CAA				124
		GGCTGGTAAG GTTACCGGTA AGACTTTGTT				
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	CATCAAGAAG GTCGGTTTCA ACCCAAAGACC CGT...CAA				
20		GGCTGGTGTC GTCAAGGTA AGACTCTTTT				
	Humano	GGAGATCCGG GAGCTGCTCA CCGAGTTTGG CTA...GTT				
		AGGCCTGAAG TCTGTGCAGA AGCTACTGGA				
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	GGAGCTGCGC GAGCTGCTCA GCAAGTACGG CTT...CAA ATG ..... ..				153
		TATTCTGG AGCTGATGAA				
25	<i>Corynebacterium diptheriae</i>	GGAGATCCRT GAGCTGCTCG CTGAGCAGGA TTA...GAA				126
		GTGGACCCAG TCCATCATCG ACCTCATGCA				
	<i>Enterococcus faecalis</i>	GGAAGTTCGT GACTTATTAT CAGAATACGA TTT.....TGAAGAA				132
		AAAATCTTAG AATTAATGGC				
30	<i>Escherichia coli</i>	GGAAGTTCGT GAACTTCTGT CTCAGTACGA CTT.....GGGAAGCG				154
		AAAATCCTGG AACTGGCTGG				
	<i>Flavobacterium ferrugineum</i>	CGAGGTTCGC GAAGAAGTGA CTAACGCGG TTT.....GGGTAAA				156
		GAAATTGAUA ACCTGATGGA				
	<i>Gardnerella vaginalis</i>	AGAGGTCCGT GACCTCCTCG AAGAAAACGG CTT...CAA				135
35		GTGGGTAGAG ACCGTCAAGG AACTCATGAA				
	<i>Haemophilus influenzae</i>	GGAAGTTCGT GAACTTCTAT CTCAATATGA CTT.....GGGAAGAA				157
		AAABTCCTTG AGTTAGCAAA				
	<i>Listeria monocytogenes</i>	GGAAATTCGT GATCTATTAA CTGAATATGA ATT.....GGGAAGCT				138
		AAAATTGACG AGTTAATGGA				
40	<i>Micrococcus luteus</i>	GGAAGTCCGT GAGTTGCTGG CTGCCAGGA ATT...CAA				159
		GTGGGTGCGAG TCTGTCACAC AGTTGATGGA				
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	GGAAATCCGC GACCTGCTGT CCAGCTACGA CTT.....ACGAAGAA				162
		AAAATCTTCG AACTGGCTAC				
45	<i>Salmonella typhimurium</i>	GGAAGTTCGC GAACTGCTGT CTCAGTACGA CTT.....GGGAAGCG				164
		AAAATCATCG AACTGGCTGG				
	<i>Staphylococcus aureus</i>	GGAAGTTCGT GACTTATTAA GCGAATATGA CTT.....CGAAGAA				140
		AAAATCTTAG AATTAATGGA				
50	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	GGAAATCCGT GACCTATGT CAGAATACGA CTT.....CGAAGAC				145
		ATCGTTATGG AATTGATGAA				
	<i>Treponema pallidum</i>	AGAGGTGCGT GATGCGCTTG CTGGATATGG GTT...GGA				169
		GGATGCAGCT TGTATTGAGG AACTGCTTGC				
	Secuencias seleccionadas <sup>a</sup>	CAAGAAG GTTGGTTACA		ATCCGGTAAA GTACTGGTA		
55		ACCCAAAGA		AGACCT		
	Secuencias de cebador específico	SEQ ID NO: 11		SEQ ID NO: 12 <sup>a</sup>		
		CAAGAAG GTTGGTTACA		AGGTCTTACC AGTAACTTTAC		
		ACCCAAAGA		CGGAT		

La numeración de las secuencias se refiere al fragmento de gen *tuf* de *Candida albicans*. Los nucleótidos subrayados son idénticos a la secuencia seleccionada o corresponden a dicha secuencia.

<sup>a</sup> Esta secuencia es el complemento inverso de la secuencia de *tuf* arriba indicada.

## ES 2 329 202 T3

Anexo V: (comparativo)

Estrategia para la selección a partir del gen *recA* de cebadores de amplificación específicos para el género *Streptococcus*

5		415	449...540	574	SEQ ID NO
	<i>Bordetella pertussis</i>	CTC <b>GAGATCA</b> <b>CCGACGCGCT</b> <b>GGTGCGCTCG</b> GGCTC...GGCCC			
		GCCT <b>GATGAG</b> <b>CCAGGCGCTG</b> <b>CGCAAGCTGA</b>			
10	<i>Burkholderia cepacia</i>	CTC <b>GAAATCA</b> <b>CCGATGCGCT</b> <b>GGTGCGCTCG</b> GGCTC...GGCCC			
		GCCT <b>GATGTC</b> <b>GCAGGCGCTG</b> <b>CGCAAGCTGA</b>			
	<i>Campylobacter jejuni</i>	TTA <b>GAAATTG</b> <b>TAAGAACTAT</b> AGCAAGAAGT GGCGC...AGCAA			
15		GACT <b>TATGTC</b> <b>TCAAGCTCTA</b> <b>AGAAAACTTA</b>			
20					
25					
30					
35					
40					
45					
50					
55					
60					
65					

# ES 2 329 202 T3

	415	449...540	574	SEQ ID NO
5	<i>Chlamydia trachomatis</i>	TTGAGTATTG CAGAGCTCTT AGCGCGTTCT GGAGC...AGCTC GCATGATGTC GCAGGCTCTA CGCAAATTAA		
	<i>Clostridium perfringens</i>	TTAGAAATAA CAGAAGCTTT AGTTAGATCA GGAGC...AGCTA GATTAATGTC ACAAGCCTTA AGAAAGTTAA		
	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	CTGGAGATTG CAGATATGCT TGTTGCTCT GGAGC...AGCGC GTTTGATGAG TCAGGCGCTG CGTAAAGATGA		
10	<i>Enterobacter agglomerans</i>	CTGGAAATCT GTGATGCGCT GACCCGTTCA GGCGC...AGCTC GTATGATGAG CCAGGCGATG CGTAAAGCTTG		
	<i>Enterococcus faecium</i>	TTAGAGATTG CCGATGCCCT AGTTTCAAGT GGTGC...AGCTC GACTAATGTC TCAAGCACTA CGTAAATTAT		
15	<i>Escherichia coli</i>	CTGGAAATCT GTGACGCCCT GGCGCGTTCT GGCGC...GGCAC GTATGATGAG CCAGGCGATG CGTAAAGCTGG		
	<i>Haemophilus influenzae</i>	GCGAACAGAA GAATAGAATT TTAATGCATT ACCGC...GACCT GTGAGTTTAC GCAAAGCTTG AGACATTAAA		
20	<i>Helicobacter pylori</i>	TTAGAAATTT TAGAAACGAT CACCAGAAGC GGAGG...AGCAA GGCTTATGAG CCATGCGTTA AGAAAAATCA		
	<i>Lactococcus lactis</i>	CTTCAAATTT CTGAAAAATT GATTACTTCT GGAGC...AGCAC GTATGATGTC ACAAGCCATG CGTAAACTTG		
25	<i>Legionella pneumophila</i>	CTGGAAATTA CTGATATGCT GGTGCGTTCT GCAGC...GGCAA GATTGATGTC GCAAGCCCTG GGTAAATTGA		
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	TTTGCTCTTA TCGAATCATT AATTAAAACA AACAA...TGCAA GAATGATGTC AAAAGGTTTG CGAAGAATAC		
30	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	TTGGAAATCT GCGACACGCT CGTCCGTTCT GGCGG...GGCGC GCCTGATGAG TCAGGCTTTG CGCAAAGTGA		
	<i>Proteus mirabilis</i>	CTGGAAATTT GTGATGCATT ATCTGCTCT GGTGC...CGCAC GTATGATGAG CCAAGCTATG CGTAAACTAG		
35	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CTGGAAATCA CCGACATGCT GGTGCGCTCC AACGC...GGCAC GCCTGATGTC CCAGGCGCTG CGCAAGATCA		
	<i>Serratia marcescens</i>	CTGGAAATCT GTGATGCGCT GACCCGCTCC GGCGC...GGCGC GCATGATGAG CCAGGCGATG CGTAAAGCTGG		
	<i>Shigella flexneri</i>	CTGGAAATCT GTGACGCCCT GGCGCGTTCT GGCGC...GGCAC GTATGATGAG CCASSCGAIG CGTAAAGCTGG		
40	<i>Staphylococcus aureus</i>	CTTGAATCG CCGAAGCATT TGTTAGAAGT GGTGC...AGCTC GTTTAAATGTC ACAAGCGTTA CGTAAACTTT		
	<i>Streptococcus gordonii</i>	TTAGAAATTG CAGGAAAATT GATTGACTCT GGGGC.....	32	
45	<i>Streptococcus mutans</i>	CTTGAATTTG CAGGGAAAATT GATTGATTCT GGCGC...AGCAC GCATGATGAG TCAAGCGATG CGTAAATTAT	33	
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CTTGAGATTG CGGGAAAATT GATTGACTCA GGTGC...GGCTC GTATGATGAG CCAGGCCATG CGTAAACTTG	34	
50	<i>Streptococcus pyogenes</i>	CTTGAAATTG CAGGTAAATT GATTGATTCT GGTGC ... AGCAC GTATGATGAG TCAGGCCATG CGTAAATTAT	35	
	<i>Streptococcus salivarius</i>	CTCGAAATTG CAGGTAAAGCT GATTGACTCT GGTGC...AGCGC GTATGATGAG TCAAGCCATG CGTAAACTTT	36	
	<i>Vibrio cholerae</i>	CTGGAAATTT GTGATGCACT GGCTCGCTCT GGTGC ... AGCGC GTATGTTGTC GCAAGCAATG CGTAAACTGA		
55	<i>Yersinia pestis</i>	CTGGAAATTT GTGATGCGCT GACTCGCTCT GGTGC...CGCGC GTATGATGAG CCAGGCTATG CGTAAAGCTGG		
60	Secuencias seleccionadas <sup>a</sup>	GAAATTG CAGGIAAATT GATTGA	ATGATGAG TCAIGCCATG CGTAA	
	Secuencias de cebador específico de género	SEQ ID NO: 21 GAAATTG CAGGIAAATT GATTGA	SEQ ID NO: 22 <sup>b</sup> TTACGCAT GGCITGACTC ATCAT	

La numeración de las secuencias se refiere a la secuencia de *recA* de *S. pneumoniae*. Los nucleótidos subrayados son idénticos a la secuencia seleccionada o corresponden a dicha secuencia.

<sup>a</sup> "I" representa inosina, que es un análogo de nucleótido que puede unirse a cualquiera de los cuatro nucleótidos A, C, G ó T.

<sup>b</sup> Esta secuencia es el complemento inverso de la secuencia de *recA* arriba indicada.

#### Anexo VI

#### Cebadores específicos y ubicuos para la amplificación de DNA

SEQ ID NO		Secuencia de nucleótidos	Fragmento de DNA de origen	
			SEQ ID NO	Posición de nucleótido
<u>Especie bacteriana:</u> <b><i>Enterococcus faecium</i></b>				
1		5'-TGC TTT AGC AAC AGC CTA TCA G	26 <sup>a</sup>	273-294
2 <sup>b</sup>		5'-TAA ACT TCT TCC GGC ACT TCG	26 <sup>a</sup>	468-488
<u>Especie bacteriana:</u> <b><i>Listeria monocytogenes</i></b>				
3		5'-TGC GGC TAT AAA TGA AGA GGC	27 <sup>a</sup>	339-359
4 <sup>b</sup>		5'-ATC CGA TGA TGC TAT GGC TTT	27 <sup>a</sup>	448-468
<u>Especie bacteriana:</u> <b><i>Neisseria meningitidis</i></b>				
5		5'-CCA GCG GTA TTG TTT GGT GGT	28 <sup>a</sup>	56-76
6 <sup>b</sup>		5'-CAG GCG GCC TTT AAT AAT TTC	28 <sup>a</sup>	212-232
<u>Especie bacteriana:</u> <b><i>Staphylococcus saprophyticus</i></b>				
7		5'-AGA TCG AAT TCC ACA TGA AGG TTA TTA TGA	29 <sup>c</sup>	290-319
8 <sup>b</sup>		5'-TCG CTT CTC CCT CAA CAA TCA AAC TAT CCT	29 <sup>c</sup>	409-438
<u>Especie bacteriana:</u> <b><i>Streptococcus agalactiae</i></b>				
9		5'-TTT CAC CAG CTG TAT TAG AAG TA	30 <sup>a</sup>	59-81
10 <sup>b</sup>		5'-GTT CCC TGA ACA TTA TCT TTG AT	30 <sup>a</sup>	190-212
<u>Especie fúngica:</u> <b><i>Candida albicans</i></b>				
11		5'-CAA GAA GGT TGG TTA CAA CCC AAA GA	120 <sup>c</sup>	61-86
12 <sup>b</sup>		5'-AGG TCT TAC CAG TAA CTT TAC CGG AT	120 <sup>c</sup>	184-209

<sup>a</sup> Secuencias procedentes de bases de datos.

<sup>b</sup> Estas secuencias son de la cadena de DNA opuesta de la secuencia del fragmento de origen indicado en la lista de secuencias.

<sup>c</sup> Secuencias determinadas por nuestro grupo.

## Anexo VI

Cebadores específicos y ubicuos para la amplificación de DNA

SEQ ID NO		Secuencia de nucleótidos	Fragmento de DNA de origen	
			SEQ ID NO	Posición de nucleótido
<u>Género bacteriano: <i>Enterococcus</i></u>				
13	5'-TAC TGA CAA ACC ATT CAT GAT G		131-134 <sup>a,b</sup>	319-340 <sup>c</sup>
14 <sup>d</sup>	5'-AAC TTC GTC ACC AAC GCG AAC		131-134 <sup>a,b</sup>	410-430 <sup>c</sup>
<u>Género bacteriano: <i>Neisseria</i></u>				
15	5'-CTG GCG CGG TAT GGT CGG TT		31 <sup>e</sup>	21-40 <sup>e</sup>
16 <sup>d</sup>	5'-GCC GAC GTT GGA AGT GGT AAA G		31 <sup>e</sup>	102-123 <sup>e</sup>
<u>Género bacteriano: <i>Staphylococcus</i></u>				
17	5'-CCG TGT TGA ACG TGG TCA AAT CAA A		140-143 <sup>a,b</sup>	391-415 <sup>g</sup>
18 <sup>d</sup>	5'-TRT GTG GTG TRA TWG WRC CAG GAG C		140-143 <sup>a,b</sup>	584-608 <sup>g</sup>
19	5'-ACA ACG TGG WCA AGT WTT AGC WGC T		140-143 <sup>a,b</sup>	562-583 <sup>g</sup>
20 <sup>d</sup>	5'-ACC ATT TCW GTA CCT TCT GGT AAG T		140-143 <sup>a,b</sup>	729-753 <sup>g</sup>
<u>Género bacteriano: <i>Streptococcus</i></u>				
21	5'-GAA ATT GCA GGI AAA TTG ATT GA		32-36*	418-440 <sup>h</sup>
22 <sup>d</sup>	5'-TTA CGC ATG GCI TGA CTC ATC AT		32-36*	547-569 <sup>h</sup>
<b>Cebadores universales</b>				
23	5'-ACI KKI ACI GGI GTI GAR ARG TT		118-146 <sup>a,b</sup> 147-171 <sup>a,e</sup>	493-515 <sup>i</sup>
24 <sup>d</sup>	5'-AYR TTI TCI CCI GGC ATI ACC AT		118-146 <sup>a,b</sup> 147-171 <sup>a,e</sup>	778-800 <sup>i</sup>

SEQ ID NO	Secuencia de nucleótidos	Fragmento de DNA de origen	
		SEQ ID NO	Posición de nucleótido
5	<sup>a</sup> Estas secuencias se alinearon para obtener el cebador correspondiente. <sup>b</sup>		
10	Secuencias de <i>tuf</i> determinadas por nuestro grupo. <sup>c</sup> Las posiciones de nucleótido se refieren al fragmento de gen <i>tuf</i> de <i>E. faecalis</i> (SEQ ID NO 132). <sup>d</sup> Estas		
15	secuencias son de la cadena de DNA opuesta de la secuencia del fragmento de origen indicado en la lista de secuencias. <sup>e</sup> Secuencias procedentes de bases de		
20	datos. <sup>f</sup> Las posiciones de nucleótido se refieren al fragmento de gen <i>asd</i> de <i>N. meningitidis</i> (SEQ ID NO 31). <sup>g</sup> Las posiciones de nucleótido se refieren al		
25	fragmento de gen <i>tuf</i> de <i>S. aureus</i> (SEQ ID NO 140). <sup>h</sup> Las posiciones de nucleótido se refieren al fragmento de gen <i>recA</i> de <i>S. pneumoniae</i> (SEQ ID NO 34). <sup>i</sup> Las posiciones de nucleótido se refieren al fragmento de gen <i>tuf</i> de <i>E. coli</i> (SEQ ID NO 154).		
30			
35			
40			
45			
50			
55			
60			
65			



## Anexo VI

Cebadores específicos y ubicuos para la amplificación de DNA

	SEQ ID NO	Secuencia de nucleótidos	Fragmento de DNA de origen		
			SEQ ID NO	Posición de nucleótido	
10		<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>bla<sub>tem</sub></b></u>			
	37	5'-CTA TGT GGC GCG GTA TTA TC	-	-	
15	38	5'-CGC AGT GTT ATC ACT CAT GG	-	-	
	39	5'-CTG AAT GAA GCC ATA CCA AA	-	-	
	40	5'-ATC AGC AAT AAA CCA GCC AG	-	-	
20		<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>bla<sub>shv</sub></b></u>			
	41	5'-TTA CCA TGA GCG ATA ACA GC	-	-	
	42	5'-CTC ATT CAG TTC CGT TTC CC	-	-	
25	43	5'-CAG CTG CTG CAG TGG ATG GT	-	-	
	44	5'-CGC TCT GCT TTG TTA TTC GG	-	-	
30		<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>bla<sub>rob</sub></b></u>			
	45	5'-TAC GCC AAC ATC GTG GAA AG	-	-	
	46	5'-TTG AAT TTG GCT TCT TCG GT	-	-	
35	47	5'-GGG ATA CAG AAA CGG GAC AT	-	-	
	48	5'-TAA ATC TTT TTC AGG CAG CG	-	-	
40		<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>bla<sub>oxa</sub></b></u>			
	49	5'-GAT GGT TTG AAG GGT TTA TTA TAA G	110 <sup>a</sup>	686-710	
45	50 <sup>b</sup>	5'-AAT TTA GTG TGT TTA GAA TGG TGA T	110 <sup>a</sup>	802-826	
50		<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>bla<sub>Z</sub></b></u>			
	51	5'-ACT TCA ACA CCT GCT GCT TTC	111 <sup>a</sup>	511-531	
	52 <sup>b</sup>	5'-TGA CCA CTT TTA TCA GCA ACC	111 <sup>a</sup>	663-683	
55		<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>aadB</b></u>			
	53	5'-GGC AAT AGT TGA AAT GCT CG	-	-	
	54	5'-CAG CTG TTA CAA CGG ACT GG	-	-	
60		<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>aacC1</b></u>			
	55	5'-TCT ATG ATC TCG CAG TCT CC	-	-	
	56	5'-ATC GTC ACC GTA ATC TGC TT	-	-	
65	<sup>a</sup> Secuencias procedentes de bases de datos.				
	<sup>b</sup> Estas secuencias son de la cadena de DNA opuesta de la secuencia del fragmento de origen indicado en la lista de secuencias.				

## Anexo VI

## Cebadores específicos y ubicuos para la amplificación de DNA

SEQ ID NO	Secuencia de nucleótidos	Fragmento de DNA de origen	
		SEQ ID NO	Posición de nucleótido
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>aacC2</b></u>			
57	5'-CAT TCT CGA TTG CTT TGC TA	-	-
58	5'-CCG AAA TGC TTC TCA AGA TA	-	-
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>aacC3</b></u>			
59	5'-CTG GAT TAT GGC TAC GGA GT	-	-
60	5'-AGC AGT GTG ATG GTA TCC AG	-	-
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>aac6'-IIa</b></u>			
61	5'-GAC TCT TGA TGA AGT GCT GG	112 <sup>a</sup>	123-142
62 <sup>b</sup>	5'-CTG GTC TAT TCC TCG CAC TC	112 <sup>a</sup>	284-303
63	5'-TAT GAG AAG GCA GGA TTC GT	112 <sup>a</sup>	445-464
64 <sup>b</sup>	5'-GCT TTC TCT CGA AGG CTT GT	112 <sup>a</sup>	522-541
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>aacA4</b></u>			
65	5'-GAG TTG CTG TTC AAT GAT CC	-	-
66	5'-GTG TTT GAA CCA TGT ACA CG	-	-
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>aad(6')</b></u>			
173	5'-TCT TTA GCA GAA CAG GAT GAA	-	-
174	5' GAA TAA TTC ATA TCC TCC G	-	-
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>vanA</b></u>			
67	5'-TGT AGA GGT CTA GCC CGT GT	-	-
68	5'-ACG GGG ATA ACG ACT GTA TG	-	-
69	5'-ATA AAG ATG ATA GGC CGG TG	-	-
70	5'-TGC TGT CAT ATT GTC TTG CC	-	-
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>vanB</b></u>			
71	5'-ATT ATC TTC GGC GGT TGC TC	116 <sup>a</sup>	22-41
72 <sup>b</sup>	5'-GAC TAT CGG CTT CCC ATT CC	116 <sup>a</sup>	171-190
73	5'-CGA TAG AAG CAG CAG GAC AA	116 <sup>a</sup>	575-594
74 <sup>b</sup>	5'-CTG ATG GAT GCG GAA GAT AC	116 <sup>a</sup>	713-732

<sup>a</sup> Secuencias procedentes de bases de datos.

<sup>b</sup> Estas secuencias son de la cadena de DNA opuesta de la secuencia del fragmento de origen indicado en la lista de secuencias.

## Anexo VI

Cebadores específicos y ubicuos para la amplificación de DNA

SEQ ID NO	Secuencia de nucleótidos	Fragmento de DNA de origen	
		SEQ ID NO	Posición de nucleótido
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>vanC</b></u>			
75	5'-GCC TTA TGT ATG AAC AAA TGG	117 <sup>a</sup>	373-393
76 <sup>b</sup>	5'-GTG ACT TTW GTG ATC CCT TTT GA	117 <sup>a</sup>	541-563
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>msrA</b></u>			
77	5'-TCC AAT CAT TGC ACA AAA TC	-	-
78	5'-AAT TCC CTC TAT TTG GTG GT	-	-
79	5'-TCC CAA GCC AGT AAA GCT AA	-	-
80	5'-TGG TTT TTC AAC TTC TTC CA	-	-
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>satA</b></u>			
81	5'-TCA TAG AAT GGA TGG CTC AA	-	-
82	5'-AGC TAC TAT TGC ACC ATC CC	-	-
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>aac(6')-aph(2'')</b></u>			
83	5'-CAA TAA GGG CAT ACC AAA AAT C	-	-
84	5'-CCT TAA CAT TTG TGG CAT TAT C	-	-
85	5'-TTG GGA AGA TGA AGT TTT TAG A	-	-
86	5'-CCT TTA CTC CAA TAA TTT GGC T	-	-
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>vat</b></u>			
87	5'-TTT CAT CTA TTC AGG ATG GG	-	-
88	5'-GGA GCA ACA TTC TTT GTG AC	-	-
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>vga</b></u>			
89	5'-TGT GCC TGA AGA AGG TAT TG	-	-
90	5'-CGT GTT ACT TCA CCA CCA CT	-	-
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <b>ermA</b></u>			
91	5'-TAT CTT ATC GTT GAG AAG GGA TT	113 <sup>a</sup>	370-392
92 <sup>b</sup>	5'-CTA CAC TTG GCT TAG GAT GAA A	113 <sup>a</sup>	487-508

<sup>a</sup> Secuencias procedentes de bases de datos.<sup>b</sup> Estas secuencias son de la cadena de DNA opuesta de la secuencia del fragmento de origen indicado en la lista de secuencias.

## Anexo VI

## Cebadores específicos y ubicuos para la amplificación de DNA

SEQ ID NO	Secuencia de nucleótidos	Fragmento de DNA de origen	
		SEQ ID NO	Posición de nucleótido
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>ermB</i></u>			
93	5'-CTA TCT GAT TGT TGA AGA AGG ATT	114 <sup>a</sup>	366-389
94 <sup>b</sup>	5'-GTT TAC TCT TGG TTT AGG ATG AAA	114 <sup>a</sup>	484-507
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>ermC</i></u>			
95	5'-CTT GTT GAT CAC GAT AAT TTC C	115 <sup>a</sup>	214-235
96 <sup>b</sup>	5'-ATC TTT TAG CAA ACC CGT ATT C	115 <sup>a</sup>	382-403
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>mecA</i></u>			
97	5'-AAC AGG TGA ATT ATT AGC ACT TGT AAG	-	-
98	5'-ATT GCT GTT AAT ATT TTT TGA GTT GAA	-	-
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>int</i></u>			
99	5'-GTG ATC GAA ATC CAG ATC C	-	-
100	5'-ATC CTC GGT TTT CTG GAA G	-	-
101	5'-CTG GTC ATA CAT GTG ATG G	-	-
102	5'-GAT GTT ACC CGA GAG CTT G	-	-
<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>sul</i></u>			
103	5'-TTA AGC GTG CAT AAT AAG CC	-	-
104	5'-TTG CGA TTA CTT CGC CAA CT	-	-
105	5'-TTT ACT AAG CTT GCC CCT TC	-	-
106	5'-AAA AGG CAG CAA TTA TGA GC	-	-

<sup>a</sup> Secuencias procedentes de bases de datos.

<sup>b</sup> Estas secuencias son de la cadena de DNA opuesta de la secuencia del fragmento de origen indicado en la lista de secuencias.

## REIVINDICACIONES

1. Método que utiliza como mínimo un oligonucleótido para determinar o detectar la presencia y/o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos bacterianos y/o fúngicos en una muestra, donde los citados uno o más ácidos nucleicos o variantes o partes de los mismos comprenden una región diana seleccionada que puede hibridarse con dicho como mínimo un oligonucleótido; comprendiendo dicho método:

a) poner en contacto la citada muestra con dicho como mínimo un oligonucleótido, que se hibrida a:

i) como mínimo 12 nucleótidos de cada una de las secuencias de nucleótidos bacterianas definidas en el grupo consistente en SEQ ID NO 118, 119 y 125-171 o una secuencia complementaria de las mismas;

ii) como mínimo 12 nucleótidos de cada una de las secuencias de nucleótidos fúngicas definidas en el grupo consistente en SEQ ID NO 120-124 o una secuencia complementaria de las mismas;

para llevar a cabo una reacción de amplificación o un ensayo de hibridación; y

b) detectar la presencia, la cantidad, o ambas, de oligonucleótidos hibridados o productos amplificados en a) como indicio de la presencia, la cantidad, o ambas, de dichos uno o más ácidos nucleicos.

2. Método según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho como mínimo un oligonucleótido comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo consistente en SEQ ID NO 23, 24, 107, 108, 109 y 172.

3. Método según la reivindicación 1 ó 2, que además comprende la utilización de como mínimo un oligonucleótido para determinar la presencia y/o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de una especie y/o un género bacteriano(a) y/o fúngico(a) seleccionado(a) de entre el grupo consistente en *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*, *Candida albicans*, género *Enterococcus*, género *Neisseria*, género *Staphylococcus*, género *Streptococcus* y género *Candida*, **caracterizado** porque dicho como mínimo un oligonucleótido para determinar la presencia y/o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de especies bacterianas y fúngicas se hibrida específicamente a como mínimo 12 nucleótidos de una y sólo una de las secuencias de nucleótidos seleccionadas del grupo consistente en:

SEQ ID NO 26 o una secuencia complementaria de la misma, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de *Enterococcus faecium*;

SEQ ID NO 27 o una secuencia complementaria de la misma, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de *Listeria monocytogenes*;

SEQ ID NO 28 o una secuencia complementaria de la misma, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de *Neisseria meningitidis*;

SEQ ID NO 29 o una secuencia complementaria de la misma, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de *Staphylococcus saprophyticus*;

SEQ ID NO 30 o una secuencia complementaria de la misma, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de *Streptococcus agalactiae*;

SEQ ID NO 120 o una secuencia complementaria de la misma, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de *Candida albicans*;

o **caracterizado** porque dicho como mínimo un oligonucleótido para determinar la presencia y/o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de un género bacteriano y/o fúngico se hibrida específicamente a como mínimo 12 nucleótidos de una y sólo una del grupo específico de género de secuencias de nucleótidos seleccionadas del grupo consistente en:

SEQ ID NO 131 a 134 o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos del género *Enterococcus*;

SEQ ID NO 31 o una secuencia complementaria de la misma, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos del género *Neisseria*;

SEQ ID NO 140 a 143 o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos del género *Staphylococcus*;

SEQ ID NO 32 a 36 o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos del género *Streptococcus*; y

SEQ ID NO 120 a 124 o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos del género *Candida*.

4. Método según la reivindicación 3, **caracterizado** porque la presencia y/o la cantidad de dichos uno o más ácidos nucleicos de especies y/o géneros bacterianos(as) y fúngicos(as) se determina utilizando como mínimo un oligonucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo consistente en:

SEQ ID NO 1 y 2, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de *Enterococcus faecium*;

SEQ ID NO 3 y 4, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de *Listeria monocytogenes*;

SEQ ID NO 5 y 6, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de *Neisseria meningitidis*;

SEQ ID NO 7 y 8, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de *Staphylococcus saprophyticus*;

SEQ ID NO 9 y 10, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de *Streptococcus agalactiae*;

SEQ ID NO 11 y 12, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de *Candida albicans*;

SEQ ID NO 13 y 14, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de uno o más miembros del género *Enterococcus*;

SEQ ID NO 15 y 16, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de uno o más miembros del género *Neisseria*;

SEQ ID NO 17 a 20, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de uno o más miembros del género *Staphylococcus*; y

SEQ ID NO 21 y 22, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para determinar la presencia o la cantidad de uno o más ácidos nucleicos de uno o más miembros del género *Streptococcus*.

5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que comprende además la utilización de como mínimo un oligonucleótido para determinar la presencia de un ácido nucleico de uno o más genes de resistencia a los antibióticos bacterianos seleccionados del grupo consistente en *bla<sub>tem</sub>*, *bla<sub>shv</sub>*, *bla<sub>rob</sub>*, *bla<sub>oxa</sub>*, *bla<sub>Z</sub>*, *aadB*, *aacC1*, *aacC2*, *aacC3*, *aac6'-IIa*, *aacA4*, *aad(6')*, *vanA*, *vanB*, *vanC*, *msrA*, *satA*, *aac(6')-aph(2'')*, *vat*, *vga*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *mecA*, *int* y *sul*.

6. Método según la reivindicación 5, **caracterizado** porque dichos uno o más genes de resistencia a los antibióticos bacterianos se seleccionan del grupo consistente en *bla<sub>oxa</sub>*, *bla<sub>Z</sub>*, *aac6'-IIa*, *vanB*, *vanC*, *ermA*, *erm* y *ermC* y porque dicho como mínimo un oligonucleótido para determinar la presencia de un ácido nucleico de uno o más genes de resistencia a los antibióticos bacterianos se hibrida a como mínimo 12 nucleótidos de una o más de las secuencias de nucleótidos seleccionadas del grupo consistente en:

SEQ ID NO 110 o una secuencia complementaria de la misma, para la detección de *bla<sub>oxa</sub>*;

SEQ ID NO 111 o una secuencia complementaria de la misma, para la detección de *bla<sub>Z</sub>*;

SEQ ID NO 112 o una secuencia complementaria de la misma, para la detección de *aac6'-IIa*;

SEQ ID NO 113 o una secuencia complementaria de la misma, para la detección de *ermA*;

SEQ ID NO 114 o una secuencia complementaria de la misma, para la detección de *ermB*;

## ES 2 329 202 T3

SEQ ID NO 115 o una secuencia complementaria de la misma, para la detección de *ermC*;

SEQ ID NO 116 o una secuencia complementaria de la misma, para la detección de *vanB*; y

5 SEQ ID NO 117 o una secuencia complementaria de la misma, para la detección de *vanC*.

7. Método según la reivindicación 5, **caracterizado** porque dicho como mínimo un oligonucleótido para determinar la presencia de un ácido nucleico de uno o más genes de resistencia a los antibióticos bacterianos comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo consistente en:

10 SEQ ID NO 37-40, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *bla<sub>tem</sub>*;

15 SEQ ID NO 41-44, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *bla<sub>shv</sub>*;

SEQ ID NO 45-48, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *bla<sub>rob</sub>*;

20 SEQ ID NO 49-50, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *bla<sub>oxa</sub>*;

SEQ ID NO 51-52, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *bla<sub>Z</sub>*;

25 SEQ ID NO 53-54, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *aadB*;

SEQ ID NO 55-56, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *aacC1*;

30 SEQ ID NO 57-58, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *aacC2*;

35 SEQ ID NO 59-60, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *aacC3*;

SEQ ID NO 61-64, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *aac6'-IIa*;

40 SEQ ID NO 65-66, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *aacC4*;

SEQ ID NO 67-70, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *vanA*;

45 SEQ ID NO 71-74, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *vanB*;

SEQ ID NO 75-76, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *vanC*;

50 SEQ ID NO 77-80, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *msrA*;

55 SEQ ID NO 81-82, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *satA*;

SEQ ID NO 83-86, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *aac(6')-aph(2'')*;

60 SEQ ID NO 87-88, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *vat*;

SEQ ID NO 89-90, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *vga*;

65 SEQ ID NO 91-92, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *ermA*;

## ES 2 329 202 T3

SEQ ID NO 93-94, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *ermB*;

SEQ ID NO 95-96, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *ermC*;

SEQ ID NO 97-98, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *mecA*;

SEQ ID NO 99-102, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *int*; y

SEQ ID NO 103-106, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o una secuencia complementaria de las mismas, para la detección de *sul*.

8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, **caracterizado** porque dicha determinación se lleva a cabo simultáneamente.

9. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, **caracterizado** porque se lleva a cabo directamente a partir de una muestra de ensayo.

10. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, **caracterizado** porque se lleva a cabo directamente a partir de una muestra de ensayo consistente en un cultivo bacteriano y/o fúngico o una suspensión bacteriana y/o fúngica.

11. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, **caracterizado** porque dichos ácidos nucleicos se amplifican mediante un método seleccionado del grupo consistente en:

- a) reacción en cadena de la polimerasa (PCR),
- b) reacción en cadena de la ligasa (LCR),
- c) amplificación basada en secuencias de ácido nucleico (NASBA),
- d) replicación de secuencia autosostenida (3SR),
- e) amplificación de desplazamiento de cadena (SDA),
- f) amplificación de señal de DNA ramificado (bDNA)
- g) amplificación mediada por transcripción (TMA),
- h) tecnología de sonda de ciclo (CPT),
- i) PCR anidada y
- j) PCR multiplex.

12. Método según la reivindicación 11, **caracterizado** porque dichos ácidos nucleicos se amplifican por PCR.

13. Método según la reivindicación 12, **caracterizado** porque las condiciones de amplificación son uniformes.

14. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende además:

- a)
  - i) depositar y fijar en un soporte inerte o dejar en solución el DNA bacteriano o fúngico de la muestra o de una población en esencia homogénea de bacterias u hongos aislados(as) de tal muestra, o
  - ii) inocular dicha muestra o dicha población en esencia homogénea de bacterias u hongos aislados(as) de esta muestra en un soporte inerte,
- b) lisar *in situ* dicha muestra inoculada o dichas bacterias aisladas o dichos hongos aislados para liberar los ácidos nucleicos bacterianos o fúngicos, obteniéndose dichos ácidos nucleicos bacterianos o fúngicos, en esencia, en forma de cadena simple;



c) poner en contacto dichos ácidos nucleicos de cadena simple con una sonda que comprende como mínimo 12 nucleótidos, que se hibridan selectivamente a:

- i) cada una de las secuencias de nucleótidos bacterianas definidas en el grupo consistente en SEQ ID NO 118, 119 y 125-171 o una secuencia complementaria de las mismas; o
- ii) cada una de las secuencias de nucleótidos fúngicas definidas en el grupo consistente en SEQ ID NO 120-124 o una secuencia complementaria de las mismas;

para formar un complejo de hibridación, y

d) detectar la presencia de dicho complejo de hibridación en dicho soporte inerte o en dicha solución como indicio de la presencia, la cantidad, o ambas, de ácidos nucleicos bacterianos o fúngicos en la citada muestra.

15. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende además:

- a) tratar dicha muestra con una solución acuosa que contiene como mínimo un par de cebadores de oligonucleótido, siendo uno de dichos cebadores capaz de hibridarse selectivamente con una de las dos cadenas complementarias de cualquier DNA bacteriano o fúngico que contenga una secuencia diana, y siendo el otro de dichos cebadores capaz de hibridarse con la otra de dichas cadenas, para formar un producto de extensión que contiene la secuencia diana como molde, hibridándose dicho como mínimo un par de cebadores a como mínimo 12 nucleótidos de dicha secuencia de nucleótidos;
- b) sintetizar un producto de extensión de cada uno de dichos cebadores, conteniendo dicho producto de extensión la secuencia diana, y amplificar dicha secuencia diana, si existe, hasta un nivel detectable; y
- c) detectar la presencia y/o la cantidad de dicha secuencia diana amplificada como indicio de la presencia y/o la cantidad de cualquier bacteria u hongo en dicha muestra para ensayo.

16. Método según la reivindicación 15, **caracterizado** porque dicho par de cebadores comprende un par de secuencias de nucleótidos seleccionadas del grupo consistente en SEQ ID NO 23 y 24; 107 y 108; y 109 y 172.

17. Oligonucleótido aislado que consta de como mínimo 12 nucleótidos de longitud y tiene la secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las secuencias SEQ ID NO 23, 24, 107, 108, 109 ó 172, una parte de las mismas, o una secuencia complementaria de las mismas, que se hibrida a:

- i) como mínimo 12 nucleótidos de cada una de las secuencias de nucleótidos bacterianas definidas en el grupo consistente en SEQ ID NO 118, 119 y 125-171 o una secuencia complementaria de las mismas; o
- ii) como mínimo 12 nucleótidos de cada una de las secuencias de nucleótidos fúngicas definidas en el grupo consistente en SEQ ID NO 120-124 o una secuencia complementaria de las mismas.

18. Plásmido recombinante que comprende un ácido nucleico como se define en la reivindicación 17.

19. Huésped recombinante que ha sido transformado mediante un plásmido recombinante según la reivindicación 18.

20. Huésped recombinante según la reivindicación 19, siendo dicho huésped *Escherichia coli*.

21. Kit de diagnóstico para la detección y/o la cuantificación universales de ácidos nucleicos de una bacteria y/u hongo, que comprende cualquier combinación adecuada de sondas y/o cebadores consistentes en como mínimo 12 nucleótidos de las secuencias SEQ Id NO 23, 24, 107, 108, 109 y 172, o secuencias complementarias de las mismas, que se hibridan a:

- i) como mínimo 12 nucleótidos de cada una de las secuencias de nucleótidos bacterianas definidas en el grupo consistente en SEQ ID NO 118, 119 y 125-171 o una secuencia complementaria de las mismas; o
- ii) como mínimo 12 nucleótidos de cada una de las secuencias de nucleótidos fúngicas definidas en el grupo consistente en SEQ Id NO 120-124 o una secuencia complementaria de las mismas.

22. Kit de diagnóstico según la reivindicación 21, **caracterizado** porque comprende además cualquier combinación adecuada de sondas y/o cebadores que hibridan a como mínimo 12 nucleótidos de una o más de las secuencias de nucleótidos seleccionadas del grupo consistente en SEQ ID NO 110-117, secuencias complementarias de las mismas y variantes de las mismas, para la detección y/o cuantificación de ácidos nucleicos de cualquier combinación de genes de resistencia bacterianos seleccionados de entre el grupo consistente en *bla<sub>oxa</sub>*, *blaZ*, *aac6'-IIa*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *vanC*.

23. Kit de diagnóstico según la reivindicación 21 ó 22, **caracterizado** porque comprende además cualquier combinación adecuada de cebadores que comprendan una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo consistente en SEQ ID NO 1 a 22, partes de las mismas con como mínimo 12 nucleótidos de longitud, secuencias complementarias de las mismas y variantes de las mismas, para la detección y/o cuantificación de ácidos nucleicos de cualquier especie y/o género bacteriano(a) y fúngico(a) seleccionado(a) del grupo consistente en *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*, *Candida albicans*, especies de *Enterococcus*, especies de *Neisseria*, especies de *Staphylococcus* y especies de *Streptococcus*.

24. Kit de diagnóstico para la detección y/o la cuantificación universales de ácidos nucleicos de una bacteria y/u hongo, que comprende cualquier combinación adecuada de cebadores que constan de como mínimo 12 nucleótidos de longitud seleccionados por alineación de nucleótidos conservados de como mínimo dos secuencias seleccionadas del grupo consistente en SEQ ID NO 118 a 171, secuencias complementarias de las mismas y variantes de las mismas, y que comprende además un par de cebadores que constan de como mínimo 12 de longitud y comprenden una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo consistente en SEQ ID NO 23, 24, 107, 108, 109 y 172, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud o secuencias complementarias de las mismas, para la detección y/o la cuantificación simultáneas de ácidos nucleicos de cualquier bacteria u hongo.

25. Kit de diagnóstico según la reivindicación 23, **caracterizado** porque comprende además cualquier combinación adecuada de cebadores que comprendan una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo consistente en SEQ ID NO 37 a 106, 173 y 174, partes de las mismas de como mínimo 12 nucleótidos de longitud, secuencias complementarias de las mismas y variantes de las mismas, para la detección y/o la cuantificación simultáneas de ácidos nucleicos de cualquier gen de resistencia a los antibióticos bacteriano seleccionado del grupo consistente en *bla<sub>tem</sub>*, *bla<sub>rob</sub>*, *bla<sub>shv</sub>*, *bla<sub>oxa</sub>*, *blaZ*, *aadB*, *aacC1*, *aacC2*, *aacC3*, *aacA4*, *aac6'-IIa*, *aad(6')*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *mecA*, *vanA*, *vanB*, *vanC*, *satA*, *aac(6')-aph(2'')*, *vat*, *vga*, *msrA*, *sul* e *int*.

26. Oligonucleótido aislado según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 20, constando dicho oligonucleótido de 12 a 29 nucleótidos de longitud.

27. Kit de diagnóstico según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 25, **caracterizado** porque dichas sondas y/o dichos cebadores tienen 12 a 29 nucleótidos de longitud.

28. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-13, 15 y 16, en el que se utiliza amplificación multiplex.

**LISTA DE SECUENCIAS**

(1) INFORMACIÓN GENERAL:

- 5 (i) SOLICITANTE:
- (A) NOMBRE: INFECTIO DIAGNOSTIC (I.D.I.) INC.  
(B) CALLE: 2050, BOULEVARD RENE LEVESQUE OUEST, 4E ETAGE  
(C) CIUDAD: STE-FOY  
10 (D) ESTADO: QUEBEC  
(E) PAÍS: CANADÁ  
(F) CÓDIGO POSTAL (ZIP): G1V 2KB  
15 (G) TELÉFONO: (418) 681-4343  
(H) FAX: (418) 681-5254
- (A) NOMBRE: BERGERON, MICHEL G.  
20 (B) CALLE: 2069 RUE BRULARD  
(C) CIUDAD: SILLERY  
(D) ESTADO: QUEBEC  
25 (E) PAÍS: CANADÁ  
(F) CÓDIGO POSTAL (ZIP): G1T 1G2
- (A) NOMBRE: PICARD, FRANCOIS J.  
30 (B) CALLE: 1245, RUE DE LA SAPINIERE  
(C) CIUDAD: CAP-ROUGE  
(D) ESTADO: QUEBEC  
35 (E) PAÍS: CANADÁ  
(F) CÓDIGO POSTAL (ZIP): G1Y 1A1
- (A) NOMBRE: OUELLETTE, MARC  
40 (B) CALLE: 1035 DE PLOERMEL  
(C) CIUDAD: SILLERY  
(D) ESTADO: QUEBEC  
45 (E) PAÍS: CANADÁ  
(F) CÓDIGO POSTAL (ZIP): G1S 3S1
- (A) NOMBRE: ROY, PAUL H.  
50 (B) CALLE: 28, RUE CHARLES GARNIER  
(C) CIUDAD: LORETTEVILLE  
(D) ESTADO: QUEBEC  
55 (E) PAÍS: CANADÁ  
(F) CÓDIGO POSTAL (ZIP): G2A 3S1
- 60 (ii) TÍTULO DE LA INVENCION: SONDAS DE DNA Y CEBADORES DE AMPLIFICACIÓN ESPECÍ-  
FICOS DE ESPECIE, ESPECÍFICOS DE GÉNERO Y UNIVERSALES PARA LA DETECCIÓN Y LA  
IDENTIFICACIÓN RÁPIDAS DE PATÓGENOS BACTERIANOS Y FÚNGICOS COMUNES Y GENES  
DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS ASOCIADOS
- (iii) NÚMERO DE SECUENCIAS: 174
- 65 (iv) FORMA LEGIBLE POR ORDENADOR:
- (A) TIPO DE SOPORTE: Disquete

## ES 2 329 202 T3

- (B) ORDENADOR: IBM PC compatible
- (C) SISTEMA OPERATIVO: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0. Versión #1.30 (EPO)

5 (iv) DATOS DE SOLICITUD ANTERIOR:

- (A) NÚMERO DE SOLICITUD: US 08/743,637
- (B) FECHA DE PRESENTACIÓN: 04-NOV-1996

10 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO: 1

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 22 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

20 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Enterococcus faecium*

25 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 1:

TGCTTTAGCA ACAGCCTATC AG

22

30 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 2:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 21 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

40 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Enterococcus faecium*

45 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 2:

TAAACTTCTT CCGGCACTTC G

21

50 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 3:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 21 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Listeria monocytogenes*

65 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 3:

TGCGGCTATA AATGAAGAGG C

21

## ES 2 329 202 T3

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 4:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 21 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Listeria monocytogenes*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 4:

ATCCGATGAT GCTATGGCTT T

21

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 5:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 21 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Neisseria meningitidis*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 5:

CCAGCGGTAT TGTTTGGTGG T

21

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 6:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 21 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Neisseria meningitidis*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA SEQ ID NO 6:

CAGGCGGCCT TTAATAATTT C

21

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 7:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 30 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

## ES 2 329 202 T3

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Staphylococcus saprophyticus*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 7:

AGATCGAATT CCACATGAAG GTTATTATGA

30

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 8:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 30 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Staphylococcus saprophyticus*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 8:

TCGCTTCTCC CTCAACAATC AAACATATCCT

30

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 9:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 23 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Streptococcus agalactiae*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 9:

TTTCACCAGC TGTATTAGAA GTA

23

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 10:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 23 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Streptococcus agalactiae*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 10:

GTTCCCTGAA CATTATCTTT GAT

23

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 11:

- 5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 26 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 10 (C) CADENA: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
  - (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
  - 15 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
  - (A) ORGANISMO: *Candida albicans*
  - (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 11:

20 CAAGAAGGTT GGTTACAACC CAAAGA

26

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 12:

- 25 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 26 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 30 (C) CADENA: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
  - (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
  - 35 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
  - (A) ORGANISMO: *Candida albicans*
  - (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 12:

40 AGGTCTTACC AGTAACTTTA CCGGAT

26

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 13:

- 45 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 22 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 50 (C) CADENA: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
  - (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
  - 55 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 13:

TACTGACAAA CCATTCATGA TG

22

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 14:

- 60 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 21 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 65 (C) CADENA: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal

## ES 2 329 202 T3

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 14:

5            AACTTCGTCA CCAACGCGAA C 21

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 15:

10           (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

              (A) LONGITUD: 20 pares de bases

              (B) TIPO: ácido nucleico

15            (C) CADENA: simple

              (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

20           (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 15:

              CTGGCGCGGT ATGGTCGGTT 20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 16:

25           (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

              (A) LONGITUD: 22 pares de bases

              (B) TIPO: ácido nucleico

30            (C) CADENA: simple

              (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

35           (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 16:

              GCCGACGTTG GAAGTGGTAA AG 22

40           (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 17:

              (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

              (A) LONGITUD: 25 pares de bases

45            (B) TIPO: ácido nucleico

              (C) CADENA: simple

              (D) TOPOLOGÍA: lineal

50           (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 17:

55           CCGTGTTGAA CGTGGTCAAA TCAAA 25

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 18:

              (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

60            (A) LONGITUD: 25 pares de bases

              (B) TIPO: ácido nucleico

              (C) CADENA: simple

65            (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)



## ES 2 329 202 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 18:

TRTGTGGTGT RATWGWCCA GGAGC

25

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 19:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 25 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 19:

ACAACGTGGW CAAGTWTTAG CWGCT

25

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 20:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 25 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 20:

ACCATTCWG TACCTTCTGG TAAGT

25

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 21:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 23 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature

(B) POSICIÓN: 12

(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 21:

GAAATTGCAG GNAAATTGAT TGA

23

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 22:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 23 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

## ES 2 329 202 T3

- (C) CADENA: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
- (B) POSICIÓN: 12
- (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 22:

TTACGCATGG CNTGACTCAT CAT

23

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 23:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 23 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
- (B) POSICIÓN: 3
- (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
- (B) POSICIÓN: 6
- (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
- (B) POSICIÓN: 9
- (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
- (B) POSICIÓN: 12
- (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
- (B) POSICIÓN: 15
- (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 23:

ACNKKACNG GNGTNGARAT GTT

23

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 24:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

## ES 2 329 202 T3

- 5 (A) LONGITUD: 23 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 10 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 6  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"
- 15 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 9  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"
- 20 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 12  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"
- 25 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 18  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"
- 30 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 24:
- 35

AYRTTNTCNC CNGGCATNAC CAT

23

- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 25:
- 40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 10 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal
- 45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 25:

TCGCTTCTCC

10

- 55 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 26:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 600 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: doble  
(D) TOPOLOGÍA: lineal
- 60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 65 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

## ES 2 329 202 T3

(A) ORGANISMO: *Enterococcus faecium*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 26:

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Enterococcus faecium*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 26:

10	TTCTTAGAGA CATTGAATAT GCCTTATGTC GCGCAGGCG TATTGACCAG TGCATGTGCC	60
	ATGGATAAAA TCATGACCAA GTATATTTTA CAAGCTGCTG GTGTGCCGCA AGTTCCTTAT	120
15	GTACCAAGTAC TTAAGAATCA ATGGAAAGAA AATCCTAAAA AAGTATTTGA TCAATGTGAA	180
	GGTTCTTTGC TTTATCCGAT GTTTGTCAAA CCTGCGAATA TGGGTTCTAG TGTCGGCATT	240
	ACAAAGGCAG AAAACCGAGA AGAGCTGCAA AATGCTTTAG CAACAGCCTA TCAGTATGAT	300
20	TCTCGAGCAA TCGTTGAACA AGGAATTGAA GCGCGCGAAA TCGAAGTTGC TGTATTAGGA	360
	AATGAAGATG TTCGGACGAC TTTGCCTGGC GAAGTCGTAA AAGACGTAGC ATTCTATGAT	420
25	TATGAAGCCA AATATATCAA TAATAAAATC GAAATGCAGA TTCCAGCCGA AGTGCCGGAA	480
	GAAGTTTATC AAAAAGCGCA AGAGTACGCG AAGTTAGCTT ACACGATGTT AGGTGGAAGC	540
30	GGATTGAGCC GGTGCGATTT CTTTTTGACA AATAAAAATG AATTATTCCT GAATGAATTA	600

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 27:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 1.920 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Listeria monocytogenes*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 27:

50	GTGGGATTAA ACAGATTTAT GCGTGCGATG ATGGTGGTTT TCATTACTGC CAATTGCATT	60
	ACGATTAACC CCGACATAAT ATTTGCAGCG ACAGATAGCG AAGATTCTAG TCTAAACACA	120
55	GATGAATGGG AAGAAGAAAA AACAGAAGAG CAACCAAGCG AGGTAAATAC GGGACCAAGA	180
	TACGAAACTG CACGTGAAGT AAGTTCACGT GATATTAAAG AACTAGAAAA ATCGAATAAA	240
	GTGAGAAATA CGAACAAAGC AGACCTAATA GCAATGTTGA AAGAAAAAGC AGAAAAAGGT	300
60	CCAAATATCA ATAATAACAA CAGTGAACAA ACTGAGAATG CGGCTATAAA TGAAGAGGCT	360

# ES 2 329 202 T3

	TCAGGAGCCG ACCGACCAGC TATACAAGTG GAGCGTCGTC ATCCAGGATT GCCATCGGAT	420
5	AGCGCAGCGG AAATTAAAAA AAGAAGGAAA GCCATAGCAT CATCGGATAG TGAGCTTGAA	480
	AGCCTTACTT ATCCGGATAA ACCAACAAAA GTAAATAAGA AAAAAGTGGC GAAAGAGTCA	540
	GTTGCGGATG CTTCTGAAAG TGACTTAGAT TCTAGCATGC AGTCAGCAGA TGAGTCTTCA	600
10	CCACAACCTT TAAAAGCAAA CCAACAACCA TTTTTCCTA AAGTATTTAA AAAAATAAAA	660
	GATGCGGGGA AATGGGTACG TGATAAAATC GACGAAAATC CTGAAGTAAA GAAAGCGATT	720
15	GTTGATAAAA GTGCAGGGTT AATTGACCAA TTATTAACCA AAAAGAAAAG TGAAGAGGTA	780
	AATGCTTCGG ACTTCCCGCC ACCACCTACG GATGAAGAGT TAAGACTTGC TTTGCCAGAG	840
20	ACACCAATGC TTCTTGTTT TAATGCTCCT GCTACATCAG AACCAGAGCTC ATTCGAATTT	900
	CCACCACCAC CTACGGATGA AGAGTTAAGA CTTGCTTTGC CAGAGACGCC AATGCTTCTT	960
25	GGTTTTAATG CTCCTGCTAC ATCGGAACCG AGCTCGTTTCG AATTTCACC GCCTCCAACA	1020
	GAAGATGAAC TAGAAATCAT CCGGGAACA GCATCCTCGC TAGATTCTAG TTTTACAAGA	1080
	GGGGATTTAG CTAGTTTGAG AAATGCTATT AATCGCCATA GTCAAAATTT CTCTGATTTT	1140
30	CCACCAATCC CAACAGAAGA AGAGTTGAAC GGGAGAGGCG GTAGACCAAC ATCTGAAGAA	1200
	TTTAGTTTCG TGAATAGTGG TGATTTTACA GATGACGAAA ACAGCGAGAC AACAGAAGAA	1260
35	GAAATTGATC GCCTAGCTGA TTTAAGAGAT AGAGGAACAG GAAAACACTC AAGAAATGCG	1320
	GGTTTTTTTAC CATTAAATCC GTTTGCTAGC AGCCCGGTTT CTTCTGTTAAG TCCAAAGGTA	1380
40	TCGAAAATAA GCGACCGGGC TCTGATAAGT GACATACTA AAAAAACGCC ATTTAAGAAT	1440
	CCATCACAGC CATTAAATGT GTTTAATAAA AAAACTACAA CGAAAACAGT GACTAAAAAA	1500
45	CCAACCCCTG TAAAGACCGC ACCAAAGCTA GCAGAACTTC CTGCCACAAA ACCACAAGAA	1560
	ACCGTACTTA GGGAAAATAA AACACCCTTT ATAGAAAAAC AAGCAGAAAC AAACAAGCAG	1620
	TCAATTAATA TGCCGAGCCT ACCAGTAATC CAAAAGAAG CTACAGAGAG CGATAAAGAG	1680
50	GAAATGAAAC CACAAACCGA GGAAAAAATG GTAGAGGAAA GCGAATCAGC TAATAACGCA	1740
	AACGGAAAAA ATCGTTCTGC TGGCATTGAA GAAGGAAAAC TAATTGCTAA AAGTGCAGAA	1800
55	GACGAAAAAG CGAAGGAAGA ACCAGGGAAC CATACGACGT TAATTCTTGC AATGTTAGCT	1860
	ATTGGCGTGT TCTCTTTAGG GGCCTTTATC AAAATTATTC AATTAAGAAA AAATAATTAA	1920

60 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 28:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 65 (A) LONGITUD: 415 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble

## ES 2 329 202 T3

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Neisseria meningitidis*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 28:

```

10  TACCGGTACG CTAAATATTG GTGATGTATT GGATATTATG ATTTGGGAAG CGCCGCCAGC      60
    GGTATTGTTT GGTGGTGGCC TTTCTTCGAT GGGCTCGGGT AGTGCGCAAC AAACCAAGTT      120
15  GCCGGAGCAA CTGGTGACGG CACGTGGTAC GGTCTTCTGTG CCGTTTGTTG GCGATATTTTC      180
    GGTGGTCGGT AAAACGCCTG GTCAGGTTCA GGAAATTATT AAAGGCCGCC TGAAAAAAT      240
    GGCCAATCAG CCGCAAGTGA TGGTGCCTT GGTGCAGAAT AATGCGGCAA ATGTATCGGT      300
20  GATTCGCGCA GGCAATAGTG TCGTATGCC GTTGACGGCA GCCGGTGAGC GTGTGTTGGA      360
    TCGGGTGGCT GCGGTAGGTG GTTCAACGGC AATGTGTCAG GATACGAATG TGCAG      415
  
```

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 29:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 438 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Staphylococcus saprophyticus*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 29:

```

40  TCGCTTCTCC AGAAGAAATT TTAGAACAT ATCTAGAAAA TCCCAAATTA GATAAACCGT      60
    TTATATTATG TGAATACGCA CATGCAATGG GAAATTCACC AGGAGATCTT AATGCATATC      120
45  AAACATTAAT TGAAAAATAT GATAGTTTTA TTGGCGGTTT TGTTTGGGAA TGGTGTGATC      180
    ATAGCATTCA GGTGGGATA AAGGAAGGTA AACCAATTTT TAGATATGGT GGAGATTTTG      240
50  GTGAGGCCTT ACATGACGGT AATTTTGTG TTGATGGTAT TGTTTCGCCA GATCGAATTC      300
    CACATGAAGG TTATTATGAG TTAAACATG AACATAGACC TTTGAGATTG GTTAACGAAG      360
55  AGGATTATCG GTTTACATTG AAGAATCAAT TTGATTTTAC AAATGCGGAG GATAGTTTGA      420
    TTGTTGAGGG AGAAGCGA      438
  
```

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 30:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 768 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

## ES 2 329 202 T3

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Streptococcus agalactiae*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 30:

```

10      ATGAACGTTA CACATATGAT GTATCTATCT GGAACTCTAG TGGCTGGTGC ATTGTTATTT      60
      TCACCAGCTG TATTAGAAGT ACATGCTGAT CAAGTGACAA CTCCACAAGT GGTAAATCAT      120
      GTAAATAGTA ATAATCAAGC CCAGCAAATG GCTCAAAAGC TTGATCAAGA TAGCATTGAG      180
15      TTGAGAAATA TCAAAGATAA TGTTTCAGGGA ACAGATTATG AAAAACCAGT TAATGAGGCT      240
      ATTACTAGCG TGGAAAAATT AAAGACTTCA TTGCGTGCCA ACCCTGAGAC AGTTTATGAT      300
      TTGAATTCTA TTGGTAGTCG TGTAGAAGCC TTAACAGATG TGATTGAAGC AATCACTTTT      360
      TCAACTCAAC ATTTAACAAA TAAGGTTAGT CAAGCAAATA TTGATATGGG ATTTGGGATA      420
      ACTAAGCTAG TTATTGCGAT TTTAGATCCA TTTGCTTCAG TTGATTCAAT TAAAGCTCAA      480
25      GTTAACGATG TAAAGGCATT AGAACAAAAA GTTTTAACTT ATCCTGATTT AAAACCAACT      540
      GATAGAGCTA CCATCTATAC AAAATCAAAA CTTGATAAGG AAATCTGGAA TACACGCTTT      600
      ACTAGAGATA AAAAAGTACT TAACGTCAAA GAATTTAAAG TTTACAATAC TTTAAATAAA      660
30      GCAATCACAC ATGCTGTTGG AGTTCAGTTG AATCCAAATG TTACGGTACA ACAAGTTGAT      720
      CAAGAGATTG TAACATTACA AGCAGCACTT CAAACAGCAT TAAAATAA      768

```

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 31:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 421 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Neisseria meningitidis*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 31:

```

      ATGAAAGTAG GTTTCGTCGG CTGGCGCGGT ATGGTCGGTT CGGTTTTGAT GCAGCGTATG      60
55      AAAGAAGAAA ACGACTTCGC CCACATTCCC GAAGCGTTTT TCTTTACCAC TTCCAACGTC      120
      GCGGGCGCAC GCCCTGATTT CGGTCAGGCG GCTAAAACAT TATTGGACGC GAACAACGTT      180
      GCCGAGCTGG CAAAAATGGA CATCATCGTT ACCTGCCAAG GCGGCGACTA CACCAAATCC      240
60      GTCTTCCAAG CCTGCGCGA CAGCGGCTGG AACGGCTACT GGATTGACGC GGCATCCTCG      300
      CTGCGTATGA AAGACGACGC GATTATCGTC CTCGACCCCG TCAACCGCAA CGTCATCGAC      360
65      AACGGCCTCA AAAACGGCGT GAAAAACTAC ATCGGCGGCA ACTGTACCGT TTCCCTGATG      420
      C      421

```

## ES 2 329 202 T3

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 32:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 213 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Streptococcus gordonii*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 32:

<b>TTCATAGACG CTGAGCACGC TTTGGATCCA TCTTACGCGG CTGCTCTAGG TGTAATATT</b>	<b>60</b>
<b>GATGAGCTGT TGCTATCTCA ACCAGATTCT GGTGAGCAAG GTTTAGAAAT TGCAGGAAAA</b>	<b>120</b>
<b>TTGATTGACT CTGGGGCAGT TGATTAGTT GTCATCGACT CTGTTGCAGC TCTTGATCCA</b>	<b>180</b>
<b>CGTGCGGAAA TCGATGGAGA TATCGGTGAT AGC</b>	<b>213</b>

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 33:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 692 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Streptococcus mutans*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 33:

<b>GGGCCGGAAT CTTCTGGTAA GACAACTGTC GCTCTTCATG CTGCTGCTCA GGCACAAAAA</b>	<b>60</b>
<b>GATGGCGGTA TTGCCGCTTT CATTGATGCA GAACATGCCC TTGATCCAGC CTATGCTGCT</b>	<b>120</b>
<b>GCTCTTGGCG TTAATATTGA TGAGCTTTTG CTTTCACAAC CAGATTCAGG AGAACAGGGT</b>	<b>180</b>
<b>CTTGAAATTG CAGGGAAATT GATTGATTCT GGCGCTGTTG ATTTAGTTGT TGTGACTCA</b>	<b>240</b>
<b>GTGGCAGCTT TAGTACCACG TGCGGAGATT GACGGAGATA TTGGTAATAG TCATGTTGGC</b>	<b>300</b>
<b>TTACAAGCAC GCATGATGAG TCAAGCGATG CGTAAATTAT CAGCTTCAAT CAATAAAACA</b>	<b>360</b>
<b>AAAACCATTG CTATTTTAT TAATCAATTG CGGGAAAAAG TTGGTATTAT GTTTGGTAAT</b>	<b>420</b>
<b>CCAGAAACAA CCCCTGGCGG GCGTGCCTTG AAGTTTTATT CTTCTGTGCG TCTTGATGTC</b>	<b>480</b>
<b>CGCGGCAATA CTCAAATTAA AGGAACCGGG GAACAAAAAG ACAGCAATAT TGGTAAAGAG</b>	<b>540</b>
<b>ACCAAAATTA AAGTTGTTAA AAATAAAGTT GCTCCACCAT TTAAGGAAGC TTTTGTAGAA</b>	<b>600</b>
<b>ATTATATATG GTGAAGGCAT TTCTCGTACA GGTGAATTAG TTAAGATTGC CAGTGATTTG</b>	<b>660</b>
<b>GGAATTATCC AAAAAGCTGG AGCTTGGTAC TC</b>	<b>692</b>



## ES 2 329 202 T3

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 34:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 1.204 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Streptococcus pneumoniae*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 34:

```

ATGGCGAAAA AACCAAAAA ATTAGAAGAA ATTTCAAAAA AATTGGGGC AGAACGTGAA      60
AAGGCCTTGA ATGACGCTCT TAAATTGATT GAGAAAGACT TTGGTAAAGG ATCAATCATG     120
CGTTTGGGTG AACGTGCGGA GCAAAAGGTG CAAGTGATGA GCTCAGGTTC TTTAGCTCTT     180
GACATTGCCC TTGGCTCAGG TGGTTATCCT AAGGGACGTA TCATCGAAAT CTATGGCCCA     240
GAGTCATCTG GTAAGACAAC GGTTGCCCTT CATGCAGTTG CACAAGCGCA AAAAGAAGGT     300
GGGATTGCTG CCTTTATCGA TGCGGAACAT GCCCTTGATC CAGCTTATGC TGCGGCCCTT     360
GGTGTCAATA TTGACGAATT GCTCTTGTCT CAACCAGACT CAGGAGAGCA AGGTCTTGAG     420
ATTGCGGGAA AATTGATTGA CTCAGGTGCA GTTGATCTTG TCGTAGTCGA CTCAGTTGCT     480
GCCCTTGTTT CTCGTGCGGA AATTGATGGA GATATCGGAG ATAGCCATGT TGGTTTGCGAG     540
GCTCGTATGA TGAGCCAGGC CATGCGTAAA CTTGGCGCCT CTATCAATAA AACCAAAACA     600

ATTGCCATTT TTATCAACCA ATTGCGTGAA AAAGTTGGAG TGATGTTTGG AAATCCAGAA     660
ACACACCCGG GCGGACGTGC TTTGAAATTC TATGCTTCAG TCCGCTTGGA TGTTCGTGGT     720
AATACACAAA TTAAGGGAAC TGGTGATCAA AAAGAAACCA ATGTCGGTAA AGAAACTAAG     780
ATTAAGGTTG TAAAAAATAA GGTAGCTCCA CCGTTTAAGG AAGCCGTAGT TGAAATTATG     840
TACGGAGAAG GAATTTCTAA GACTGGTGAG CTTTGAAGA TTGCAAGCGA TTTGGATATT     900
ATCAAAAAAG CAGGGGCTTG GTATTCTTAC AAAGATGAAA AAATTGGGCA AGGTTCTGAG     960
AATGCTAAGA AATACTTGGC AGAGCACCCA GAAATCTTTG ATGAAATTGA TAAGCAAGTC    1020
CGTTCTAAAT TTGGCTTGAT TGATGGAGAA GAAGTTTCAG AACCAAGATAC TGAACAACAA    1080
AAAGATGAGC CAAAGAAAGA AGAAGCAGTG AATGAAGAAG TTCCGCTTGA CTTAGGCGAT    1140
GAACCTGAAA TCGAAATTGA AGAATAAGCT GTTAAAGCAG TGGAGAAATC CGCTACTTTT    1200
TCGA                                     1204

```

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 35:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 981 pares de bases

## ES 2 329 202 T3

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Streptococcus pyogenes*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 35:

5	ATGCGTTCAG GAAGTCTAGC TCTTGATATT GCTTGGATAG CTGGTGGTTA TCCTAAAGGA	60
15	CGTATCATCG AAATCTATGG TCCAGAGTCT TCCGGTAAAA CGACTGTGGC TTTACATGCT	120
	GTAGCACAAG CTCAAAAAGA AGGTGGAATC GCAGCCTTTA TCGATGCCGA GCATGCGCTT	180
20	GATCCAGCTT ATGCTGCTGC GCTTGGGGTT AATATTGATG AACTTCTCTT GTCTCAACCA	240
	GATTCTGGAG AACAAGGACT TGAAATTGCA GGTAAATTGA TTGATTCTGG TCGGGTTGAC	300
25	CTGGTTGTTG TCGATTCACT AGCAGCTTTA GTGCCACGTG CTGAAATTGA TGGTGATATT	360
	GCGGATAGCC ATGTCGGATT GCAAGCACGT ATGATGAGTC AGGCCATGCG TAAATTATCA	420
30	GCTTCTATTA ATAAAACAAA AACTATCGCA ATCTTTATCA ACCAATTGCG TGAAAAAGTT	480
	GGTGTGATGT TTGGAAATCC TGAAACAACA CCAGGTGGTC GAGCTTTGAA ATTCTATGCT	540
35	TCTGTTCCGC TGGATGTGCG TGGAAACAAC CAAATTAAAG GAACTGGTGA CAAAAGATA	600
40	GCCAGCATTG GTAAGGAGAC CAAAATCAAG GTTGTTAAAA ACAAGGTCGC TCCGCCATTT	660
	AAGGTAGCAG AAGTTGAAAT CATGTATGGG GAAGGTATTT CTCGTACAGG GGAGCTTGTG	720
45	AAAATTGCTT CTGATTGGA CATTATCCAA AAAGCAGGTG CTTGGTTCTC TTATAATGGT	780
	GAGAAGATTG GCCAAGGTTT TGAAATGCT AAGCGTTATT TGGCCGATCA TCCACAATTG	840
50	TTTGATGAAA TCGACCGTAA AGTACGTGTT AAATTTGGTT TGCTTGAAGA AAGCGAAGAA	900
	GAATCTGCTA TGGCAGTAGC ATCAGAAGAA ACCGATGATC TTGCTTTAGA TTTAGATAAT	960
	GGTATTGAAA TTGAAGATTA A	981

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 36:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 312 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Streptococcus salivarius*

## ES 2 329 202 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 36:

	<b>GCGTATGCAC GAGCTCTAGG TGTTAATATC GATGAGCTTC TTTTGTGCA GCCTGATTCT</b>	<b>60</b>
5	<b>GGTGAGCAAG GTCTCGAAAT TGCAGGTAAG CTGATTGACT CTGGTGCAGT GGATTTAGTT</b>	<b>120</b>
	<b>GTTGTTGACT CAGTTGCGGC CTTCGTACCA CGTGACAGAA TTGATGGAGA TAGTGGTGAC</b>	<b>180</b>
10	<b>AGTCATGTAG GACTTCAAGC GCGTATGATG AGTCAAGCCA TGCCTAAACT TTCTGCATCT</b>	<b>240</b>
	<b>ATTAATAAAA CAAAAACGAT TGCTATCTTT ATTAACCAGT TGCCTGAAAA AGTTGGTATC</b>	<b>300</b>
15	<b>ATGTTTGTA AC</b>	<b>312</b>

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 37:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 20 (A) LONGITUD: 20 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: simple
- 25 (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 37:

	CTATGTGGCG CGGTATTATC	20
--	-----------------------	----

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 38:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 35 (A) LONGITUD: 20 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- 40 (C) CADENA: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 38:

	CGCAGTGTTA TCACTCATGG	20
--	-----------------------	----

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 39:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 50 (A) LONGITUD: 20 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- 55 (C) CADENA: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 39:

	CTGAATGAAG CCATACCAAA	20
--	-----------------------	----

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 40:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

## ES 2 329 202 T3

- (A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
5 (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 10 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 40:
- ATCAGCAATA AACCAGCCAG 20
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 41:
- 15 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
20 (C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 25 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 41:
- TTACCATGAG CGATAACAGC 20
- 30 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 42:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 20 pares de bases  
35 (B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal
- 40 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 42:
- 45 CTCATTTCAGT TCCGTTTCCC 20
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 43:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- 50 (A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
55 (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 43:
- 60 CAGCTGCTGC AGTGGATGGT 20
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 44:
- 65 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 20 pares de bases

## ES 2 329 202 T3

- (B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal
- 5 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 44:
- 10 CGCTCTGCTT TGTATTTCGG 20
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 45:
- 15 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
20 (D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 45:
- 25 TACGCCAACA TCGTGGAAG 20
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 46:
- 30 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
35 (C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
40 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 46:
- TTGAATTTGG CTTCTTCGGT 20
- 45 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 47:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 20 pares de bases  
50 (B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 47:
- 60 GGGATACAGA AACGGGACAT 20
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 48:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
65 (A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico

## ES 2 329 202 T3

	(C) CADENA: simple	
	(D) TOPOLOGÍA: lineal	
5	(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)	
	(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 48:	
	TAAATCTTTT TCAGGCAGCG	20
10	(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 49:	
	(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:	
15	(A) LONGITUD: 25 pares de bases	
	(B) TIPO: ácido nucleico	
	(C) CADENA: simple	
	(D) TOPOLOGÍA: lineal	
20	(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)	
	(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 49:	
25	GATGGTTTGA AGGGTTTATT ATAAG	25
	(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 50:	
	(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:	
30	(A) LONGITUD: 25 pares de bases	
	(B) TIPO: ácido nucleico	
	(C) CADENA: simple	
35	(D) TOPOLOGÍA: lineal	
	(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)	
	(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 50:	
40	AATTTAGTGT GTTTAGAATG GTGAT	25
	(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 51:	
45	(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:	
	(A) LONGITUD: 21 pares de bases	
	(B) TIPO: ácido nucleico	
50	(C) CADENA: simple	
	(D) TOPOLOGÍA: lineal	
	(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)	
55	(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 51:	
	ACTTCAACAC CTGCTGCTTT C	21
60	(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 52:	
	(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:	
65	(A) LONGITUD: 21 pares de bases	
	(B) TIPO: ácido nucleico	
	(C) CADENA: simple	

## ES 2 329 202 T3

	(D) TOPOLOGÍA: lineal	
	(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)	
5	(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 52:	
	TGACCACTTT TATCAGCAAC C	21
10	(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 53:	
	(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:	
	(A) LONGITUD: 20 pares de bases	
15	(B) TIPO: ácido nucleico	
	(C) CADENA: simple	
	(D) TOPOLOGÍA: lineal	
20	(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)	
	(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 53:	
	GGCAATAGTT GAAATGCTCG	20
25	(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 54:	
	(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:	
30	(A) LONGITUD: 20 pares de bases	
	(B) TIPO: ácido nucleico	
	(C) CADENA: simple	
	(D) TOPOLOGÍA: lineal	
35	(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)	
	(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 54:	
40	CAGCTGTTAC AACGGACTGG	20
	(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 55:	
45	(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:	
	(A) LONGITUD: 20 pares de bases	
	(B) TIPO: ácido nucleico	
50	(C) CADENA: simple	
	(D) TOPOLOGÍA: lineal	
	(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)	
55	(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 55:	
	TCTATGATCT CGCAGTCTCC	20
60	(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 56:	
	(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:	
	(A) LONGITUD: 20 pares de bases	
65	(B) TIPO: ácido nucleico	
	(C) CADENA: simple	
	(D) TOPOLOGÍA: lineal	

ES 2 329 202 T3

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 56:

5 ATCGTCACCG TAATCTGCTT 20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 57:

10 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 57:

CATTCTCGAT TGCTTTGCTA 20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 58:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

30 (C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

35 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEO ID NO 58:

CCGAAATGCT TCTCAAGATA 20

<sup>40</sup> (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 59:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

45 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

50 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 59:

CTGGATTATG GCTACGGAGT 20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 60:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

60 (A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

65 (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)



## ES 2 329 202 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 60:

AGCAGTGTGA TGGTATCCAG

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 61:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 61:

GACTCTTGAT GAAGTGCTGG

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 62:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 62:

CTGGTCTATT CCTCGCACTC

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 63:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 63:

TATGAGAAGG CAGGATTCGT

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 64:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 64:

## ES 2 329 202 T3

GCTTTCTCTC GAAGGCTTGT

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 65:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 65:

GAGTTGCTGT TCAATGATCC

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 66:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 66:

GTGTTTGAAC CATGTACACG

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 67:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 67:

TGTAGAGGTC TAGCCCGTGT

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 68:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 68:

ACGGGGATAA CGACTGTATG

20

## ES 2 329 202 T3

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 69:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 69:

ATAAAGATGA TAGGCCGGTG

20

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 70:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 70:

TGCTGTCATA TTGTCTTGCC

20

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 71:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 71:

ATTATCTTCG GCGGTTGCTC

20

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 72:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 72:

GACTATCGGC TTCCATTCC

20

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 73:

## ES 2 329 202 T3

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 20 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 73:
- CGATAGAAGC AGCAGGACAA 20
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 74:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 20 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 74:
- CTGATGGATG CGGAAGATAC 20
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 75:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 21 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 75:
- GCCTTATGTA TGAACAAATG G 21
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 76:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 23 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 76:
- GTGACTTTWG TGATCCCTTT TGA 23
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 77:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

## ES 2 329 202 T3

- 5 (A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 10 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 77:  
  
TCCAATCATT GCACAAAATC 20
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 78:
- 15 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
20 (C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 25 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 78:  
  
AATTCCCTCT ATTTGGTGGT 20
- 30 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 79:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 20 pares de bases  
35 (B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal
- 40 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 79:  
  
TCCCAAGCCA GTAAAGCTAA 20
- 45 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 80:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
50 (A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
55 (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 80:  
  
60 TGGTTTTTCA ACTTCTTCCA 20
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 81:
- 65 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 20 pares de bases

## ES 2 329 202 T3

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 81:

TCATAGAATG GATGGCTCAA

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 82:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 82:

AGCTACTATT GCACCATCCC

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 83:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 22 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 83:

CAATAAGGGC ATACCAAAAA TC

22

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 84:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 22 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 84:

CCTTAACATT TGTGGCATT TC

22

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 85:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 22 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

## ES 2 329 202 T3

	(C) CADENA: simple	
	(D) TOPOLOGÍA: lineal	
5	(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)	
	(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 85:	
	TTGGGAAGAT GAAGTTTTTA GA	22
10	(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 86:	
	(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:	
15	(A) LONGITUD: 22 pares de bases	
	(B) TIPO: ácido nucleico	
	(C) CADENA: simple	
	(D) TOPOLOGÍA: lineal	
20	(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)	
	(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 86:	
25	CCTTTACTCC AATAATTTGG CT	22
	(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 87:	
30	(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:	
	(A) LONGITUD: 20 pares de bases	
	(B) TIPO: ácido nucleico	
	(C) CADENA: simple	
35	(D) TOPOLOGÍA: lineal	
	(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)	
	(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 87:	
40	TTTCATCTAT TCAGGATGGG	20
	(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 88:	
45	(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:	
	(A) LONGITUD: 20 pares de bases	
	(B) TIPO: ácido nucleico	
50	(C) CADENA: simple	
	(D) TOPOLOGÍA: lineal	
	(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)	
55	(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 88:	
	GGAGCAACAT TCTTTGTGAC	20
60	(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 89:	
	(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:	
65	(A) LONGITUD: 20 pares de bases	
	(B) TIPO: ácido nucleico	
	(C) CADENA: simple	

## ES 2 329 202 T3

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 89:

TGTGCCTGAA GAAGGTATTG

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 90:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 90:

CGTGTTACTT CACCACCACT

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 91:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 23 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 91:

TATCTTATCG TTGAGAAGGG ATT

23

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 92:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 22 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 92:

CTACACTTGG CTTAGGATGA AA

22

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 93:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 24 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal



## ES 2 329 202 T3

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 93:

5 CTATCTGATT GTTGAAGAAG GATT

24

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 94:

10 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 24 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

15 (C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

20 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 94:

GTTTACTCTT GGTTTAGGAT GAAA

24

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 95:

25 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 22 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

30 (C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

35 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 95:

CTTGTTGATC ACGATAATTT CC

22

40 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 96:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 22 pares de bases

45 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

50 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 96:

55 ATCTTTTAGC AAACCCGTAT TC

22

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 97:

60 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 27 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

65 (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

## ES 2 329 202 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 97:

AACAGGTGAA TTATTAGCAC TTGTAAG

27

5

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 98:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

10

(A) LONGITUD: 27 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

15

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 98:

20

ATTGCTGTTA ATATTTTTTG AGTTGAA

27

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 99:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

25

(A) LONGITUD: 19 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

30

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 99:

35

GTGATCGAAA TCCAGATCC

19

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 100:

40

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 19 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

45

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

50

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 100:

ATCCTCGGTT TTCTGGAAG

19

55 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 101:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 19 pares de bases

60

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

65

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 101:

CTGGTCATAC ATGTGATGG

19

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 102:

- 5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 19 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 10 (C) CADENA: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
  - (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
  - 15 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 102:

GATGTTACCC GAGAGCTTG

19

20 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 103:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 20 pares de bases
  - 25 (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
  - (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
  - (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 103:

TTAAGCGTGC ATAATAAGCC

20

35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 104:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- 40 (A) LONGITUD: 20 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: simple
  - 45 (D) TOPOLOGÍA: lineal
  - (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
  - (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 104:

50 TTGCGATTAC TTCGCCAACT

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 105:

- 55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 20 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 60 (C) CADENA: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
  - (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
  - (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 105:

65 TTTACTAAGC TTGCCCCTTC

20

## ES 2 329 202 T3

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 106:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 20 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 106:

AAAAGGCAGC AATTATGAGC

20

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 107:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 29 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
- (B) POSICIÓN: 9
- (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

#### (ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
- (B) POSICIÓN: 12
- (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

#### (ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
- (B) POSICIÓN: 15
- (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

#### (ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
- (B) POSICIÓN: 18
- (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

#### (ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
- (B) POSICIÓN: 21
- (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 107:

AAYATGATNA CNGGNGCNGC NCARATGGA

29

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 108:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

## ES 2 329 202 T3

- 5 (A) LONGITUD: 23 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 10 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 3  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- 15 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 6  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- 20 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 9  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- 25 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 12  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- 30 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 108:
- 35 CCNACNGTNC KNCCRCCYTC RCG

23

- 40 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 109:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 29 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal
- 45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 50 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 6  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- 55 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 12  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- 60 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 15  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- 65

## ES 2 329 202 T3

### (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature

(B) POSICIÓN: 18

(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 109:

CARYTNATHG TNGCNGTNAA YAARATGGA

29

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 110:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 831 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 110:

```

ATGAAAAACA CAATACATAT CAACTTCGCT ATTTTTTTTAA TAATTGCAAA TATTATCTAC      60
AGCAGCGCCA GTGCATCAAC AGATATCTCT ACTGTTGCAT CTCCATTATT TGAAGGAACT      120
GAAGGTTGTT TTTTACTTTA CGATGCATCC ACAAACGCTG AAATTGCTCA ATTCAATAAA      180
GCAAAGTGTG CAACGCAAAAT GGCACCAGAT TCAACTTTCA AGATCGCATT ATCACTTATG      240
GCATTTGATG CGGAAATAAT AGATCAGAAA ACCATATTCA AATGGGATAA AACCCCCAAA      300
GGAATGGAGA TCTGGAACAG CAATCATACA CCAAAGACGT GGATGCAATT TTCTGTTGTT      360
TGGGTTTCGC AAGAAATAAC CCAAAAAATT AGATTAAATA AAATCAAGAA TTATCTCAAA      420
GATTTTGATT ATGGAATCA AGACTTCTCT GGAGATAAAG AAAGAAACAA CGGATTAACA      480
GAAGCATGGC TCGAAAGTAG CTTAAAAATT TCACCAGAAG AACAAATTCA ATTCCTGCGT      540
AAAATTATTA ATCACAATCT CCCAGTTAAA AACTCAGCCA TAGAAACAC CATAGAGAAC      600
ATGTATCTAC AAGATCTGGA TAATAGTACA AACTGTATG GGAAACTGG TGCAGGATTC      660
ACAGCAAATA GAACCTTACA AAACGGATGG TTTGAAGGGT TTATTATAAG CAAATCAGGA      720
CATAAATATG TTTTGTGTC CGCACTTACA GGAAACTTGG GGTGGAATTT AACATCAAGC      780
ATAAAAGCCA AGAAAAATGC GATCACCATT CTAACACAC TAAATTTATA A      831

```

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 111:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 846 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

## ES 2 329 202 T3

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 111:

5	TTGAAAAAGT TAATATTTTT AATTGTAATT GCTTTAGTTT TAAGTGCATG TAATTCAAAC	60
	AGTTCACATG CCAAAGAGTT AAATGATTTA GAAAAAAAAT ATAATGCTCA TATTGGTGTT	120
10	TATGCTTTAG ATACTAAAAG TGGTAAGGAA GTAAAATTTA ATTCAGATAA GAGATTGCCC	180
	TATGCTTCAA CTTCAAAAGC GATAAATAGT GCTATTTTGT TAGAACAAGT ACCTTATAAT	240
15	AAGTTAAATA AAAAAGTACA TATTAACAAA GATGATATAG TTGCTTATTC TCCTATTTTA	300
	GAAAAATATG TAGGAAAAGA TATCACTTTA AAAGCACTTA TTGAGGCTTC AATGACATAT	360
20	AGTGATAATA CAGCAAACAA TAAATTATA AAAGAAATCG GTGGAATCAA AAAAGTTAAA	420
	CAACGTCTAA AAGAACTAGG AGATAAAGTA ACAAATCCAG TTAGATATGA GATAGAATTA	480
25	AATTACTATT CACCAAAGAG CAAAAAAGAT ACTTCAACAC CTGCTGCTTT CGGTAAGACT	540
	TTAAATAAAC TTATCGCAAA TGGAAAATTA AGCAAAGAAA ACAAAAAATT CTTACTTGAT	600
30	TTAATGTTAA ATAATAAAAG CGGAGATACT TTAATTAAAG ACGGTGTTCC AAAAGACTAT	660
	AAGGTGCTG ATAAAAGTGG TCAAGCAATA ACATATGCTT CTAGAAATGA TGTGCTTTT	720
35	GTTTATCCTA AGGGCCAATC TGAACCTATT GTTTTAGTCA TTTTACGAA TAAAGACAAT	780
	AAAAGTGATA AGCCAAATGA TAAGTTGATA AGTGAAACCG CCAAGAGTGT AATGAAGGAA	840
	TTTTAA	846

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 112:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 555 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 112:

# ES 2 329 202 T3

ATGTCCGCGA GCACCCCCC CATAACTCTT CGCCTCATGA CCGAGCGCGA CCTGCCGATG 60  
 CTCCATGACT GGCTCAACCG GCCGCACATC GTTGAGTGGT GGGGTGGCGA CGAAGAGCGA 120  
 CCGACTCTTG ATGAAGTGCT GGAACACTAC CTGCCAGAG CGATGGCGGA AGAGTCCGTA 180  
 ACACCGTACA TCGCAATGCT GGGCGAGGAA CCGATCGGCT ATGCTCAGTC GTACGTCGCG 240  
 CTCGGAAGCG GTGATGGCTG GTGGGAAGAT GAAACTGATC CAGGAGTGCG AGGAATAGAC 300  
 CAGTCTCTGG CTGACCCGAC ACAGTTGAAC AAAGGCCTAG GAACAAGGCT TGTCCGCGCT 360  
 CTCGTTGAAC TACTGTTCTC GGACCCACC GTGACGAAGA TTCAGACCGA CCCGACTCCG 420  
 AACCAACCATC GAGCCATACG CTGCTATGAG AAGGCAGGAT TCGTGCGGGA GAAGATCATC 480  
 ACCACGCCTG ACGGGCCGGC GGTTTACATG GTTCAAACAC GACAAGCCTT CGAGAGAAAG 540  
 CGCGGTGTTG CCTAA 555

## (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 113:

### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 732 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 113

ATGAACCAGA AAAACCCTAA AGACACGCAA AATTTTATTA CTTCTAAAAA GCATGTAAAA 60  
 GAAATATTGA ATCACACGAA TATCAGTAAA CAAGACAACG TAATAGAAAT CGGATCAGGA 120  
 AAAGGACATT TTACCAAAGA GCTAGTCAAA ATGAGTCGAT CAGTTACTGC TATAGAAATT 180  
 GATGGAGGCT TATGTCAAGT GACTAAAGAA GCGGTAAACC CCTCTGAGAA TATAAAAGTG 240  
 ATTCAAACGG ATATTCTAAA ATTTTCCTTC CCAAACATA TAACTATAA GATATATGGT 300  
 AATATTCCTT ATAACATCAG TACGGATATT GTCAAAAGAA TTACCTTTGA AAGTCAGGCT 360  
 AAATATAGCT ATCTTATCGT TGAGAAGGGA TTTGCGAAAA GATTGCAAAA TCTGCAACGA 420  
 GCTTTGGGTT TACTATTAAT GGTGGAGATG GATATAAAAA TGCTCAAAAA AGTACCACCA 480  
 CTATATTTTC ATCCTAAGCC AAGTGTAGAC TCTGTATTGA TTGTTCTTGA ACGACATCAA 540  
 CCATTGATTT CAAAGAAGGA CTACAAAAAG TATCGATCTT TTGTTTATAA GTGGGTAAAC 600  
 CGTGAATATC GTGTTCTTTT CACTAAAAAC CAATTCCGAC AGGCTTTGAA GCATGCAAAAT 660  
 GTCACATAA TTAATAAACT ATCGAAGGAA CAATTTCTTT CTATTTTCAA TAGTTACAAA 720  
 TTGTTTCACT AA 732



## ES 2 329 202 T3

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 114:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 738 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 114:

```

15  ATGAACAAAA ATATAAAATA TTCTCAAAAC TTTTAAACGA GTGAAAAAGT ACTCAACCAA      60
    ATAATAAAAC AATTGAATTT AAAAGAAACC GATACCGTTT ACGAAATTGG AACAGGTAAA      120
20  GGGCATTTAA CGACGAAACT GGCTAAAATA AGTAAACAGG TAACGTCTAT TGAATTAGAC      180
    AGTCATCTAT TCAACTTATC GTCAGAAAAA TTAAATCGA ATACTCGTGT CACTTTAATT      240
    CACCAAGATA TTCTACAGTT TCAATTCCCT AACAAACAGA GGTATAAAAT TGTGTTGGAAT      300
25  ATTCCTTACC ATTTAAGCAC ACAAATTATT AAAAAAGTGG TTTTGAAAG CCATGCGTCT      360
    GACATCTATC TGATTGTTGA AGAAGGATTC TACAAGCGTA CCTTGGATAT TCACCGAACA      420
30  CTAGGGTTGC TCTTGCACAC TCAAGTCTCG ATTCAGCAAT TGCTTAAGCT GCCAGCGGAA      480
    TGCTTTCATC CTAACCAAG AGTAAACAGT GTCTTAATAA AACTTACCCG CCATACCACA      540
35  GATGTTCCAG ATAAATATTG GAAGCTATAT ACGTACTTTG TTTCAAAATG GGTCAATCGA      600
    GAATATCGTC AACTGTTTAC TAAAAATCAG TTTTCATCAAG CAATGAAACA CGCCAAAGTA      660
40  AACAAATTTAA GTACCGTTAC TTATGAGCAA GTATTGTCTA TTTTAAATAG TTATCTATTA      720
    TTTAACGGGA GGAAATAA                                738
  
```

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 115:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 735 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 115:

# ES 2 329 202 T3

	ATGAACGAGA AAAATATAAA ACACAGTCAA AACTTTATTA CTTCAAAACA TAATATAGAT	60
5	AAAATAATGA CAAATATAAG ATTAAATGAA CATGATAATA TCTTTGAAAT CGGCTCAGGA	120
	AAAGGGCATT TTACCCTTGA ATTAGTACAG AGGTGTAATT TCGTAACTGC CATTGAAATA	180
10	GACCATAAAT TATGCAAAAC TACAGAAAAT AAACCTGTTG ATCAGGATAA TTTCCAAGTT	240
	TTAAACAAGG ATATATTGCA GTTTAAATTT CCTAAAAACC AATCCTATAA AATATTTGGT	300
	AATATACCTT ATAACATAAG TACGGATATA ATACGCAAAA TTGTTTTTGA TAGTATAGCT	360
15	GATGAGATTT ATTTAATCGT GGAATACGGG TTTGCTAAAA GATTATTAAA TACAAAACGC	420
	TCATTGGCAT TATTTTAAAT GGCAGAAGTT GATATTTCTA TATTAAGTAT GGTCCAAGA	480
20		
	GAATATTTTC ATCCTAAACC TAGAGTGAAT AGCTCACTTA TCAGATTAAA TAGAAAAAAA	540
25	TCAAGAATAT CACACAAAGA TAAACAGAAG TATAATTATT TCGTTATGAA ATGGGTTAAC	600
	AAAGAATACA AGAAAATATT TACAAAAAAT CAATTTAACA ATTCCTTAAA ACATGCAGGA	660
30	ATTGACGATT TAAACAATAT TAGCTTTGAA CAATTCCTAT CTCTTTTCAA TAGCTATAAA	720
	TTATTTAATA AGTAA	735

## 35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 116:

### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 1.029 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 116:

# ES 2 329 202 T3

	ATGAATAAAA TAAAAGTCGC AATTATCTTC GCGGTTGCT CGGAGGAACA TGATGTGTCG	60
	GTAAATCCG CAATAGAAAT TGCTGCGAAC ATTAATACTG AAAAATTCGA TCCGCACTAC	120
5	ATCGGAATTA CAAAAACGG CGTATGGAAG CTATGCAAGA AGCCATGTAC GGAATGGGAA	180
	GCCGATAGTC TCCCCGCCAT ATTCTCCCCG GATAGGAAAA CGCATGGTCT GCTTGTCATG	240
10	AAAGAAAGAG AATACGAAAC TCGGCGTATT GACGTGGCTT TCCCGGTTTT GCATGGCAAA	300
	TGCGGGGAGG ATGGTGCGAT ACAGGGTCTG TTTGAATTGT CTGGTATCCC CTATGTAGGC	360
15	TGCGATATTC AAAGCTCCGC AGCTTGCAATG GACAAATCAC TGGCCTACAT TCTTACAAAA	420
	AATGCGGGCA TCGCCGTCCC CGAATTTCAA ATGATTGAAA AAGGTGACAA ACCGGAGGCG	480
20	AGGACGCTTA CCTACCCTGT CTTTGTGAAG CCGGCACGGT CAGGTTCGTC CTTTGGCGTA	540
	ACCAAAGTAA ACAGTACGGA AGAACTAAAC GCTGCGATAG AAGCAGCAGG ACAATATGAT	600
	GGAAAAATCT TAATTGAGCA AGCGATTTCT GGCTGTGAGG TCGGCTGCGC GGTCATGGGA	660
25	AACGAGGATG ATTTGATTGT CGGCGAAGTG GATCAAATCC GGTGAGCCA CGGTATCTTC	720
	CGCATCCATC AGGAAAACGA GCCGGAAAAA GGCTCAGAGA ATGCGATGAT TATCGTTCCA	780
30	GCAGACATTC CGGTCGAGGA ACGAAATCGG GTGCAAGAAA CGGCAAAGAA AGTATATCGG	840
	GTGCTTGGAT GCAGAGGGCT TGCTCGTGTT GATCTTTTTT TGCAGGAGGA TGGCGGCATC	900
35	GTTCTAAACG AGGTCAATAC CCTGCCCGGT TTTACATCGT ACAGCCGCTA TCCACGCATG	960
	GCGGCTGCCG CAGGAATCAC GCTTCCCGCA CTAATTGACA GCCTGATTAC ATTGGCGATA	1020
40	GAGAGGTGA	1029

## (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 117:

- 45 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 1.031 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 50 (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
  - (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
  - 55 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 117:

60

65

## ES 2 329 202 T3

	ATGAAAAAAAA TTGCCGTTTT ATTTGGAGGG AATTCTCCAG AATACTCAGT GTCACTAACC	60
5	TCAGCAGCAA GTGTGATCCA AGCTATTGAC CCGCTGAAAT ATGAAGTAAT GACCATTGGC	120
	ATCGCACCAA CAATGGATTG GTATTGGTAT CAAGGAAACC TCGCGAATGT TCGCAATGAT	180
	ACTTGGCTAG AAGATCACAA AACTGTGCAC CAGCTGACTT TTTCTAGCCA AGGATTTATA	240
10	TTAGGAGAAA AACGAATCGT CCCTGATGTC CTCTTTCCAG TCTTGCATGG GAAGTATGGC	300
	GAGGATGGCT GTATCCAAGG ACTGCTTGAA CTAATGAACC TGCCTTATGT TGGTTGCCAT	360
15	GTCGCTGCCT CCGCATTATG TATGAACAAA TGGCTCTTGC ATCAACTTGC TGATACCATG	420
	GGAATCGCTA GTGCTCCAC TTTGCTTTTA TCCCCTATG AAAACGATCC TGCCACAATC	480
20	GATCGTTTTA TTCAAGACCA TGGATTCCCG ATCTTTATCA AGCCGAATGA AGCCGGTTCT	540
	TCAAAAGGGA TCACAAAAGT AACTGACAAA ACAGCGCTCC AATCTGCATT AACGACTGCT	600
	TTTGCTTACG GTTCTACTGT GTTGATCCAA AAGGCGATAG CGGGTATTGA AATTGGCTGC	660
25	GGCATCTTAG GAAATGAGCA ATTGACGATT GGTGCTTGTG ATGCGATTTC TCTTGTCGAC	720
	GGTTTTTTTG ATTTTGAAGA GAAATACCAA TTAATCAGCG CCACGATCAC TGTCACAGCA	780
30	CCATTGCCTC TCGCGCTTGA ATCACAGATC AAGGAGCAGG CACAGCTGCT TTATCGAAAC	840
	TTGGGATTGA CGGGTCTGGC TCGAATCGAT TTTTTCGTCA CCAATCAAGG AGCGATTTAT	900
35	TTAAACGAAA TCAACACCAT GCCGGGATTT ACTGGGCACT CCCGCTACCC AGCTATGATG	960
	GCGGAAGTCG GGTTATCCTA CGAAATATTA GTAGAGCAAT TGATTGCACT GGCAGAGGAG	1020
40	GACAAACGAT G	1031

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 118:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 809 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Abiotrophia adiacens*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 118:

## ES 2 329 202 T3

	TGGTGCTATC TTAGTAGTAT CTGCAGCTGA TGGTCCAATG CCTCAAACAC GTGAACACAT	60
5	CTTATTATCA CGTCAAGTAG GTGTTCCCTTA CATCGTTGTA TTCTTAAACA AAGTTGACAT	120
	GTTTGACGAT GAAGAATTAT TAGAATTAGT AGAAATGGAA GTTCGTGACT TATTATCAGA	180
	ATACGATTTC CCAGGCGATG ACACTCCAGT TGTTCAGGT TCTGCTTTAC GCGCTTTAGA	240
10	AGGCGACGCT TCATACRAAG AAAAAATCTT AGAATTAATG GCTGCTGTTG ACGAATACAT	300
	TCCAACCTCCA GAACGYGACG TTGACAAACC ATTCATGATG CCAGTTGAAG ACGTGTTCCTC	360
15	AATCACAGGT CGTGGTACTG TTGCTACAGG TCGTGTGAA CGTGGACAAG TTCGTGTTGG	420
	TGACGAAGTT GAAATCGTTG GTATTTTCAGA AGAACTTCA AAAACAACG TAACTGGTGT	480
20	TGAAATGTTT CGTAAATTGT TAGACTACGC TGAAGCAGGG GATAACATTG GTACATTATT	540
	ACGTGGTGTT ACACGTGACA ACATCGAAGC TGGACAAGTT CTTGCTAAAC CAGGAACAAT	600
	CACTCCACAT ACTAAATTCA AAGCTGAAGT TTACGTATTA ACTAAAGAAG AAGGTGGACG	660
25	TCATACTCCA TTCTTCTCTA ACTACCGTCC TCAATTCTAC TTCCGTACAA CAGACATCAC	720
	TGGTGTTTGT GTGTTACCAG AAGGCGTTGA AATGTAATG CCTGGTGATA ACGTAACTAT	780
30	GGAAGTTGAA TTAATTCACC CAGTAGCGA	809

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 119:

- 35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 817 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 40 (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 45 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Abiotrophia defectiva*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 119:
- 50
- 55
- 60
- 65

# ES 2 329 202 T3

	CGGCGCGATC CTCGTTGTAT CTGCTGCTGA CGGCCCAATG CCACAACTC GTGAACACAT	60
	CCTCTTGTCT CGTCAAGTTG GTGTTCTTA CATCGTAGTA TTCTTGAACA AAGTTGACAT	120
5	GGTTGACGAC GAAGAATTGC TCGAATTAGT TGAAATGGAA GTTCGTGACC TCTTGTCTGA	180
10	ATACGACTTC CCAGGCGACG ACACTCCAGT TATCGCTGGT TCAGCTTTGA AAGCTTTAGA	240
	AGGCGACGCT AACTACGAAG CTAAAGTTTT AGAATTGATG GAACAAGTTG ATGCTTACAT	300
	TCCAGAACCA GAACGTGACA CTGACAAGCC ATTCATGATG CCAGTCGAAG ACGTATTCTC	360
15	TATCACTGGT CGTGGTACTG TTGCAACTGG TCGTGTGAA CGTGGTCAAG TTCGCGTTGG	420
	TGACGAAGTT GAAATCGTTG GTATCGAAGA AGAACTTCT AAGACTACCG TTACCGGTGT	480
20	TGAAATGTTT CGTAAGTTAT TGGATTACGC TGAAGCTGGG GACAACGTTG GTACCTTGTT	540
	ACGTGGTGTA ACTCGTGACC AAATCCAACG TGGTCAAGTA TTATCTAAAC CAGTTCAAT	600
25	CACTCCGYAC ACTAAGTTCG AAGCTGAAGT GTACGTATTG TCTAAAGAAG AAGGTGGTCG	660
	TCACACTCCA TTCTTCTCTA ACTACCGTCC ACAATTCTAC TTCCGTACAA CTGACGTAAC	720
	TGGTGTGTTT ACTTTACCAG AAGGTACTGA AATGGTTATG CCAGGCGACA ACGTACAAAT	780
30	GGTTGTTGAA TTGATCCACC CAATCGCGAT CGAAGAA	817

35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 120:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 754 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Candida albicans*

50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 120:

## ES 2 329 202 T3

	CTCTGTCAAA TGGGACAAA ACAGATTGGA AGAAATCATC AAGGAAACCT CCAACTTCGT	60
	CAAGAAGGTT GGTTACAACC CAAAGACTGT TCCATTTCGTT CCAATCTCTG GTTGGAATGG	120
5	TGACAACWTG ATTGAASCAT CCACCAACTG TCCATGGTAC AAGGGTTGGG AAAAGGAAAC	180
	CAAATCCGGT AAAGTTACTG GTAAGACCTT GTTAGAAGCT ATTGACGCTA TTGAACCACC	240
10	AACCAGACCA ACCGACAAAC CATTGAGATT GCCATTTRCAA GATGTTTACA AGATCGGTGG	300
	TATTGGTACT GTGCCAGTCG GTAGAGTTGA AACTGGTATC ATCAAAGCCG GTATGGTWGT	360
15	TACTTTCGCC CCAGCTGGTG TTACCACTGA AGTCAARTCC GTTGAAATGC ATCACGAACA	420
	ATTGGCTGAA GGTGTTCCAG GTGACAATGT TRGTTTCAAC GTTAAGAACR TTTCCGTTAA	480
20	AGAAATTAGA AGAGGTAACG TTTGTGGTGA CTCCAAGAAC GATCCACCAA AGGGTTGTGA	540
	CTCTTTCAAT GCCCAAGTCA TTGTTTTGAA CCATCCAGGT CAAATCTCTG CTGGTTACTC	600
25	TCCAGTCTTG GATTGTCACR CTGCCACAT TGCTTGTAAG TTCGACRCTT TGGTTGAAAA	660
	GATTGACAGA AGAACTGGTA AGRAATTGGA AGAAAATCCA AAATTCGTCA AATCCGGTGA	720
30	TGCTGCTATC GTCAAGATGG TCCCAACCAA ACCA	754

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 121:

- 35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 753 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 40 (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 45 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Candida glabrata*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 121:

50

55

60

65

## ES 2 329 202 T3

	TCTGTCAAGT GGGATGAATC CAGATTGCT GAAATCGTTA AGGAAACCTC CAACTTCATC	60
5	AAGAAGGTCG GTTACAACCC AAAGACTGTT CCATTGCTCC CAATCTCTGG TTGGAACGGT	120
	GACAACATGA TTGAAGCCAC CACCAACGCT TCCTGGTACA AGGGTTGGGA AAAGGAAACC	180
	AAGGCTGGTG TCGTCAAGGG TAAGACCTTG TTGGAAGCCA TTGACGCTAT CGAACCACCA	240
10	ACCAGACCAA CTGACAAGCC ATTGAGATTG CCATTGCAAG ATGTCTACAA GATCGGTGGT	300
	ATCGGTACGG TGCCAGTCGG TAGAGTCGAA ACCGGTGTCA TCAAGCCAGG TATGGTTGTT	360
15	ACCTTCGCCC CAGCTGGTGT TACCACTGAA GTCAAGTCCG TTGAAATGCA CCACGAACAA	420
	TTGACTGAAG GTTTGCCAGG TGACAACGTT GGGTTCAACG TTAAGAACGT TTCCGTTAAG	480
	GAAATCAGAA GAGGTAATGT CTGTGGTGAC TCCAAGAACG ACCCACCAA GGCTGCTGCT	540
20	TCTTTCAACG CTACCGTCAT TGTCTTGAAC CACCCAGGTC AAATCTCTGC TGGTTACTCT	600
	CCAGTTTTGG ACTGTCACAC CGCCACATT GCTTGTAAGT TCGAAGAATT GTTGGAAAAG	660
25	AACGACAGAA GATCCGGTAA GAAGTTGGAA GACTCTCAA AGTTCTTGAA GTCCGGTGAC	720
	GCTGCTTTGG TTAAGTTCGT TCCATCCAAG CCA	753

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 122:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 752 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Candida krusei*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 122:



# ES 2 329 202 T3

CCGTTAAGTG GGATGAAAAC AGATTGGAAG AAATTGTCAA GGAAACCCAA AACTTCATCA 60  
 AGAAGGTTGG TTACAACCCA AAGACTGTTC CATTCTGTTCC AATCTCTGGT TGAATGTTG 120  
 ACAACATGAT TGAAGCATCC ACCAACTGTC CATGGTACAA GGGTTGGACT AAGGAAACCA 180  
 AGGCAGGTGT TGTTAAGGGT AAGACCTTAT TAGAAGCAAT CGATGCTATT GAACCACCTG 240  
 TCAGACCAAC CGAAAAGCCA TTAAGATTAC CATTACAAGA TGTTTACAAG ATTGGTGGTA 300  
 TTGGTACTGT GCCAGTCGGT AGAGTCGAAA CCGGTGTCAT TAAGCCAGGT ATGGTTGTCA 360  
 CTTTGTCTCC AGCAGGTGTC ACCACCGAAG TCAAATCCGT TGAAATGCAC CATGAACAAT 420  
 TAGAACAAGG TGTTCCAGGT GATAACGTTG GTTTCACGT TAAGAACGTY TCTGTCAAGG 480  
 ATATCAAGAG AGGTAACGTT TGTGGTGAAT CCAAGAACGA CCCACCAATG GGTGCAGCTT 540  
 CTTTCAATGC TCAAGTCATT GTCTTGAACC ACCCTGGTCA AATTTCCGCT GGTACTCTC 600  
 CAGTCTTGGA TTGTCACACT GCCCATTG CATGTAAGTT CGACGAATTA ATCGAAAAGA 660  
 TTGACAGAAG AACTGGTAAG TCTGTTGAAG ACCATCCAAA GTCYGTCAAG TCTGGTGATG 720  
 CAGCTATCGT CAAGATGGTC CCAACCAAGC CA 752

## (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 123:

### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 754 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Candida parapsilosis*

### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 123:

CTCAGTCAAA TGGGACAAGA RCAGATACGA AGAAATTGTC AAGGAACTT CCAACTTCGT 60  
 CAAGAAGGTT GGTTCACAACC CTAAAGCTGT CCCATTCGTC CCAATCTCTG GTTGGAACGG 120  
 TGACAATATG ATTGAACCAT CAACCAACTG TCCATGGTAC AAGGGTTGGG AAAAGGAAAC 180  
 TAAAGCTGGT AAGGTTACCG GTAAGACCTT GTTGAAGCT ATCGATGCTA TCGARCCACC 240

## ES 2 329 202 T3

	AACCAGACCA ACTGACAAGC CATTGAGATT GCCATTGCAA GATGTCTACA AGATTGGTGG	300
	TATTGGAAGT GTGCCAGTTG GTAGAGTTGA AACCGGTATC ATCAAGGCTG GTATGGTTGT	360
5	TACTTTTGCC CCAGCTGGTG TTACCACTGA AGTCAAGTCC GTTGAAATGC ACCACGAACA	420
	ATTGACTGAA GGTGTCCCAG GTGACAATGT TGGTTTCAAC GTCAAGAACG TTTCAGTTAA	480
10	GGAAATCAGA AGAGGTAACG TYTGTGGTGA CTCCAAGAAC GATCCACCAA AGGGATGTGA	540
	YTCCTTCAAT GCTCAAGTTA TTGTCTTGAA CCACCCAGGT CAAATCTCTG CTGGTTACTC	600
15	ACCAGTCTTG GATTGTCACA CTGCCCACAT TGCTTGTAAG TTCGACACTT TGATTGAAAA	660
	GATTGACAGA AGAACCGGTA AGAAATTGGA AGWTGAACCA AAATTCATCA AGTCCGGTGA	720
20	TGCTGCTATC GTCAAGATGG TCCCAACCAA GCCA	754

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 124:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 753 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Candida tropicalis*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 124:

	TCTGTTAAAT GGGACAARAA CAGATTTGAA GAAATTATCA AGGAAACYTC TAACTTCGTC	60
40	AAGAAGGTTG GTTACAACCC TAAGGCTGTT CCATTGCTTC CAATCTCWGG TTGGAATGGT	120
	GACAACATGA TTGAAGCTTC TACCAACTGT CCATGGTACA AGGGTTGGGA AAAAGAAACC	180
45	AAGGCTGGTA AGGTTACCGG TAAGACTTTG TTGGAAGCCA TTGATGCTAT TGAACCACCT	240
	TCAAGACCAA CTGACAAGCC ATTGAGATTG CCATTGCAAG ATGTTTACAA GATTGGTGGT	300
50	ATTGGTACTG TGCCAGTCGG TAGAGTTGAA ACTGGTGTCA TCAAAGCCGG TATGGTTGTT	360
	ACTTTTGCCC CAGCTCGTGT TACCACTGAA GTCAAATCCG TYGAAATGCA CCACGAACAA	420
55	TTGGCTGAAG GTGTCCCAGG TGACAATGTT GGTTCACAG TTAAGAAGCT TTCTGTTAAA	480
	GAAATTAGAA GAGGTAACGT TTGTGGTGAC TCCAAGAACG ATCCACCAAA GGGTTGTGAC	540
60	TCTTTCAACG CTCAAGTTAT TGTCTTGAAC CACCCAGGTC AAATYTCTGC TGGTTACTCT	600
	CCAGTCTTGG ATTGTCACAC TGCTCATATT GCTTGTAAGT TCGACACCTT GGTTGAAAAG	660
65	ATTGACAGAA GAACTGGTAA GAAATTGGAA GAAAATCCAA AATTCGTCAA ATCCGGTGAT	720
	GCTGCTATTG TCAAGATGGT TCCAACCAAA CCA	753

## ES 2 329 202 T3

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 125:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 814 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Corynebacterium accolens*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 125:

```

CGGCGCTATC CTGGTTGTTG CTGCAACCGA TGGCCCCGATG CCGCAGACCC GCGAGCACGT      60
TCTGCTTGCT CGCCAGGTTG GCGTTCCTTA CATCCTCGTT GCACTGAACA AGTGCGACAT      120
GGTTGATGAT GAGGAAATCA TCGAGCTCGT GGAGATGGAG ATCTCCGAGC TGCTCGCAGA      180
GCAGGACTAC GATGAGGAAG CTCCTATCGT TCACATCTCC GCTCTGAAGG CACTCGAGGG      240
TGACGAGAAG TGGGTACAGT CCATCGTTGA CCTGATGGAT GCCTGCGACA ACTCCATCCC      300
TGATCCGGAG CGCGCTACCG ATCAGCCGTT CTTGATGCCT ATCGAGGACA TCTTCACCAT      360
TACCGGCCCG GGTACCGTTG TTACCGGCCG TGTGAGCGT GGTGCTCTGA ACGTCAACGA      420
GGACGTTGAG ATCATCGGTA TCCAGGAGAA GTCCCAGAAC ACCACCGTTA CCGGTATCGA      480
GATGTTCCGC AAGATGATGG ACTACACCGA GGCTGGCGAC AACTGTGGTC TGCTTCTGCG      540
TGGTACCAAG CGTGAGGACG TTGAGCGTGG CCAGGTTGTT ATCAAGCCGG GCGCTTACAC      600
CCCTCACACC AAGTTCGAGG GTTCCGTCTA CGTCCTGAAG AAGGAAGAGG GCGGCCGCCA      660
CACCCGYYTC ATGAACAAC TACCGTCTCA GTTCTACTTC CGCACCACCG ACGTTACCGG      720
TGTTGTGAAC CTGCCTGAGG GCACCGAGAT GGTATGCCT GCGACAACG TTGAGATGTC      780
TGTTGAGCTC ATCCAGCCTG TTGCTATGGA CGAG      814
    
```

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 126:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 814 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Corynebacterium diphtheriae*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 126:

## ES 2 329 202 T3

	CGGCGCAATC CTCGTTGTTG CTGCCACCGA CGGCCCAATG CCTCAGACCC GTGAGCACGT	60
	TCTGCTCGCT CGCCAGGTCG GCGTTCCTTA CATCCTCGTT GCTCTGAACA AGTGCGACAT	120
5	GGTTGATGAT GAGGAAATCA TCGAGCTCGT CGAGATGGAG ATCCRTGAGC TGCTCGCTGA	180
	GCAGGATTAC GACGAAGAGG CTCCAATCAT CCACATCTCC GCACTGAAGG CTCTTGAGGG	240
10	CGACGAGAAG TGGACCCAGT CCATCATCGA CCTCATGCAG GCTTGCKATG ATTCCATCCC	300
	AGACCCAGAG CGTGAGACCG ACAAGCCATT CCTCATGCCT ATCGAGGACA TCTTCACCAT	360
15	CACCGGCCGC GGTACCGTTG TTACCGGCCG TGTGAGCGT GGCTCCCTGA AGGTCAACGA	420
	GGACGTCGAG ATCATCGGTA TCCGCGAGAA KGCTACCACC ACCACCGTTA CCGGTATCGA	480
20	GATGTTCCGT AAGCTTCTCG ACTACACCGA GGCTGGCGAC AACTGTGGTC TGCTTCTCCG	540
	TGGCGTTAAG CGCGAAGACG TTGAGCGTGG CCAGGTTGTT GTTAAGCCAG GCGCTTACAC	600
	CCCTCACACC GAGTTCGAGG GCTCTGTCTA CGTTCTGTCC AAGGACGAGG GTGGCCGCCA	660
25	CACCCCATTC TTCGACAACT ACCGCCACA GTTCTACTTC CGCACCACCG ACGTTACCGG	720
	TGTTGTGAAG CTTCTGAGG GCACCGAGAT GGTATGCCT GCGACAACG TCGACATGTC	780
30	CGTCACCCTG ATCCAGCCTG TCGCTATGGA TGAG	814

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 127:

- 35
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 814 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 45
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Corynebacterium genitalium*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 127:
- 50
- 55
- 60
- 65

## ES 2 329 202 T3

	CGGCGCCATC CTGGTTGTTG CTGCAACCGA TGGCCCGATG CCGCAGACCC GTGAGCACGT	60
	TCTGCTGGCT CGCCAGGTTG GCGTTCCGTA CATCCTAGTT GCACTGAACA AGTGGGACAT	120
5	GGTTGATGAT GAGGAGCTGC TGGAGCTCGT CGAGATGGAG GTCCGCGAGC TGCTGGCTGA	180
	GCAGGACTTC GACGAGGAAG CACCTGTTGT TCACATCTCC GCACTGAAGG CCCTGGAGGG	240
10	CGACGAGAAG TGGGCTAAGC AGATCCTGGA GCTCATGGAG GCTTGCGACA ACTCCATCCC	300
	GGATCCGGAG CGCGAGACCG ACAAGCCGTT CCTGATGCCG GTTGRGGACA TCTTCACCAT	360
15	TACCGGCCGC GGTACCGTTG TTACCGGCCG TGTTGAGCGT GGCGTCCTGA ACCTGAACGA	420
	CGAGGTCGAG ATCCTGGGCA TCCGCGAGAA GTCCACCAAG ACCACCGTTA CCTCCATCGA	480
20	GATGTTCAAC AAGCTGCTGG ACACCGCAGA GGCTGGCGAC AACGCCGCAC TGCTGCTGCG	540
	TGGCCTGAAG CGCGAAGATG TTGAGCGTGG TCAGATCGTT GCTAAGCCGG GCGAGTACAC	600
	CCCGCACACC GAGTTCGAGG GCTCCGTCTA CGTTCTGTCC AAGGACGAGG GTGGCCGCCA	660
25	CACCCCGTTC TTCGACAACT ACCGTCCGCA GTTCTATTTC CGCACCACCG ACGTTACCGG	720
	TGTTGTGAAG CTGCCGGAGG GCACCGAGAT GGTATGCGG GCGACAACG TTGACATGTC	780
30	CGTCACCCTG ATCCAGCCGG TTGCTATGGA CGAG	814

### 35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 128:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 814 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### 45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Corynebacterium jeikeium*

#### 50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 128:

55

60

65

## ES 2 329 202 T3

	CGGCGCCATC CTGGTTGTTG CCGCAACCGA TGGCCCGATG CCGCAGACCC GCGAGCACGT	60
5	TCTGCTGGCY CGCCAGGTTG GCGTTCCGTA CATCCTGGTT GCACTGAACA AGTGTGACAT	120
	GGTTGACGAT GAGGAGCTGC TGGAGCTCGT CGAGATGGAG GTCCGCGAGC TGCTGGCTGA	180
	GCAGGACTTC GACGAGGAAG CTCCGGTTGT TCACATCTCC GCACTGAAGG CCCTGGAGGG	240
10	CGACGAGAAG TGGGCTAACC AGATTCTCGA GCTGATGCAG GCTTGCGACG AGTCTATCCC	300
	GGATCCCGAG CGCGAGACCG ACAAGCCGTT CCTGATGCCG GTTGWGGACA TCTTCACCAT	360
15	TACCGGTGCG GGTACCGTTG TTACCGGCCG TGTGAGCGT GGCATCCTGA ACCTGAACGA	420
	CGAGGTTGAG ATCCTGGGTA TCCGCGAGAA GTCCCAGAAG ACCACCGTTA CCTCCATCGA	480
20	GATGTTCAAC AAGCTGCTGG ACACCGCAGA GGCTGGCRAC AACGCTGCAC TGCTGCTGCG	540
	TGGTCTGAAG CGCGAGGACG TTGAGCGTGG CCAGATCATC GCTAAGCCGG GCGAGTACAC	600
	CCCCCACACC GAGTTCGAGG GCTCCGTCTA CGTTCTGTCC AAGGACGAGG GCGGCCGCCA	660
25	CACCCCGTTC TTCGACAACT ACCGTCCGCA GTTCTACTTC CGCACCACCG ACGTTACCGG	720
30	TGTTGTGAAG CTGCCTGAGG GCACCGAGAT GGTATGCCG GCGACAACG TYGACATGTC	780
	CGTCACCCTG ATCCAGCCGG TTGCTATGGA CGAG	814

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 129:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 748 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 129:

## ES 2 329 202 T3

	CGGCGCTATC TTGGTTGTTG CAGCTACCGA CGGCCCAATG CCACAGACTC GCGAGCACGT	60
5	TCTGCTGGCT CGCCAGGTTG GCGTTCCTTA CATCCTGGTT GCACTAAACA AGTGGACAT	120
	GGTTGACGAC GAGGAAATCC TCGAGCTCGT CGAGATGGAG ATCCGCGAAT TGCTGGCTGA	180
	CCAGGAATTC GACGAAGAAG CTCCAATCGT TCACATCTCC GCAGTCGGCG CCTTGAAGG	240
10	CGAAGAGAGG TGGGTTAACG CCATCGTTGA ACTGATGGAT GCTTGTGACG AGTCGATCCC	300
	TGATCCAGAC CGTGCTACCG ACAAGCCATT CCTGATGCCT ATCGAGGACA TCTTCACCAT	360
15	TACCGGTCGT GGCACCGTTG TTACGGGTCG TGTGAGCGT GGTTCCTGA AGGTCAACGA	420
	AGAAGTCGAG ATCATCGGCA TCAAGGAAA GTCCCAGAAG ACCACCATCA CCGGTATCGA	480
20	AATGTTCCGC AAGATGCTGG ACTACACCGA GGCCGGCGAC AACGCTGGTC TGCTGCTTCG	540
	CGGTACCAAG CGTGAAGACG TTGAGCGTGG ACAGGTTATC GTTGCTCCAG GTGCTTACAG	600
25	CACCCACAAG AAGTTCGAAG GTTCCGTCTA CGTTCTTTCC AAGGACGAGG GCGGCCGCCA	660
	CACCCCGTTC TTCGACAACT ACCGTCCTCA GTTCTACTTC CGCACCACCG ACGTTACCGG	720
	TGTTGTTACC CTGCCTGAGG GCACCGAG	748

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 130:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 813 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Corynebacterium striatum*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 130:

# ES 2 329 202 T3

	GGCGCTATCT TGTTGTTGC TGCAACCGAT GGCCCGRTGC CGCAGACCCG CGAGCACGTT	60
5	CTTCTGGCTC GCCAGGTTGG CGTTCCTTAC ATCCTCGTTG CACTGAACAA GTGCGACATG	120
	GTTGACGACG AGGAAATTAT CGAGCTCGTC GAGATGGAGA TCCGCGAACT GCTCGCAGAG	180
	CAGGACTACG ATGAGGAAGC TCCGATCGTT CACATCTCTG CTCTGAAGGC TCTTGAGGGC	240
10	GRCGAGAAGT GGGTACAGGC TATCGTTGAC CTGATGCAGG CTTGCGATGA CTCCATCCCG	300
	GATCCGGAGC GCGAGCTGGA CAAGCCGTTT CTGATGCCAA TCGAGGACAT CTTCAACATC	360
15	ACCGGCCGCG GTACCGTTGT TACTGGCCGT GTTGAGCGTG GCTCCCTGAA CGTCAACGAG	420
	GACGTTGAGA TCATCGGTAT CCAGGACARG TCCATCTCCA CCACCGTTAC CGGTATCGAG	480
20	ATGYTCCGCA AGATGATGGA CTACACCGAG GCTGGCGACA ACTGTGGTCT GCTTCTGCGT	540
	GGTACCAAGC GTGAAGAGGT TGAGCGCGGC CAGGTTGTTA TTAAGCCGGG CGCTTACACC	600
	CCTCACACCC AGTTCGAGGG TTCCGTCTAC GTCCTGAAGA AGGAAGAGGG CGGCCGCCAC	660
25	ACCCCGTTCA TGGACAACCTA CCGTCCGCAG TTCTACTTCC GCACCACCGA CGTTACCGGC	720
	GTCATCAAGC TGCCTGAGGG CACCGAGATG GTTATGCCTG GCGACAACGT CGAGATGTCY	780
30	GTCGAGCTGA TCCAGCCGGT CGCTATGGAC GAG	813

## (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 131:

- 35
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 817 pares de bases
- 40 (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 45 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Enterococcus avium*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 131:
- 50

55

60

65



# ES 2 329 202 T3

	CGGAGCTATC	TTAGTAGTAT	CTGCTGCTGA	TGGCCCTATG	CCTCAAACCTC	GTGAACACAT	60
5	CTTGTTATCT	CGTAACGTTG	GTGTTCTTA	CATCGTTGTA	TTCTTAAACA	AAATGGATAT	120
	GGTTGACGAT	GAAGAATTAC	TTGAATTAGT	TGAAATGGAA	GTTCTGACT	TATTAAGTGA	180
	ATACGACTTC	CCAGGCGACG	ACACTCCAGT	TATCGCAGGT	TCAGCGTTGA	AAGCTTTAGA	240
10	AGGCGACGCT	TCATACGAAG	AAAAAATCTT	AGAATTAATG	GCTGCTGTTG	ACGAATATAT	300
	CCCAACACCA	GTTCTGTGATA	CTGACAAACC	ATTCATGATG	CCAGTCGAAG	ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGT	CGTGGTACTG	TTGCAACTGG	TCGTGTTGAA	CGTGGACAAG	TTCCGCTTGG	420
	TGACGAAGTT	GAAATCGTAG	GTATCGCTGA	CGAAACTGCT	AAAACAACTG	TTACAGGTGT	480
20	TGAAATGTTT	CGTAAATTGT	TAGACTACGC	TGAAGCAGGT	GACAACATCG	GTGCTTTGTT	540
	ACGTGGTGTT	GCACGTGAAG	ATATCCAACG	TGGACAAGTA	TTGGCTAAAC	CAGCTTCAAT	600
25	CACTCCACAT	ACAAAATTCT	CTGCAGAAGT	TTATGTTCTA	ACTAAAGAAG	AAGGTGGACG	660
	TCATACTCCA	TTCTTCACTA	ACTACCGTCC	TCAGTTCTAC	TTCCGTACAA	CTGACGTAAC	720
30	TGGTGATGTT	GATCTACCAG	AAGGTACTGA	AATGGTATG	CCTGGGGATA	ACGTAAGTAT	780
	GGAAGTTGAA	TTGATYCACC	CAATYCGGT	AGAAGAC			817

## 35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 132:

### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 817 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

### 45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Enterococcus faecalis*

### 50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 132:

55

60

65

## ES 2 329 202 T3

	CGGAGCTATC TTAGTAGTTT CTGCTGCTGA TGGTCCTATG CCTCAAACAC GTGAACATAT	60
5	CTTATTATCA CGTAACGTTG GTGTACCATA CATCGTTGTA TTCTTAAACA AAATGGATAT	120
	GGTTGATGAC GAAGAATTAT TAGAATTAGT AGAAATGGAA GTTCGTGACT TATTATCAGA	180
	ATACGATTTC CCAGGCGATG ATGTTCCAGT TATCGCAGGT TCTGCTTTGA AAGCTTTAGA	240
10	AGGCGACGAG TCTTATGAAG AAAAAATCTT AGAATTAATG GCTGCAGTTG ACGAATATAT	300
	CCCAACTCCA GAACGTGATA CTGACAAACC ATTCATGATG CCAGTCGAAG ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGA CGTGGTACTG TTGCTACAGG ACGTGTTGAA CGTGGTGAAG TTCGCGTTGG	420
	TGACGAAGTT GAAATCGTTG GTATTAAAGA CGAAACATCT AAAACAACYG TTACAGGTGT	480
20	TGAAATGTTT CGTAAATTAT TAGACTACGC TGAAGCAGGC GACAACTCG GTGCTTTATT	540
	ACGTGGTGTA GCACGTGAAG ATATCGAAGC TGGACAAGTA TTAGCTAAAC CAGCTACAAT	600
	CACTCCACAC ACAAATTCA AAGCTGAAGT ATACGTATTA TCAAAAGAAG AAGGCGGACG	660
25	TCACACTCCA TTCTTCACTA ACTACCGTCC TCAATTCTAC TTCCGTACAA CAGACGTTAC	720
30	TGGTGTTGTA GAATTGCCAG AAGGTACTGA AATGGTAATG CCTGGTGATA ACGTTGCTAT	780
	GGACGTTGAA TTAATTCACC CAATCGCTAT CGAAGAC	817

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 133:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 774 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Enterococcus faecium*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 133:

## ES 2 329 202 T3

	<b>CGGAGCTATC TTGGTAGTTT CTGCTGCTGA CGGCCCAATG CCTCAAATC GTGAACACAT</b>	<b>60</b>
5	<b>CCTATTGTCT CGTCAAGTTG GTGTTCCCTA CATCGTTGTA TTCTTGAACA AAGTAGACAT</b>	<b>120</b>
	<b>GGTTGATGAC GAAGAATTAC TAGAATTAGT TGAAATGGAA GTTCGTGACC TATTAACAGA</b>	<b>180</b>
	<b>ATACRAATTC CCTGGTGRCG ATGTTCTGT AGTTGCTGGA TCAGCTTTGA AAGCTCTAGA</b>	<b>240</b>
10	<b>AGGCGACGCT TCATACGAAG AAAAAATTCT TGAATTAATG GCTGCAGTTG ACGAATACAT</b>	<b>300</b>
	<b>CCCAACTCCA GAACGTGACA ACGACAAACC ATTCATGATG CCAGTTGAAG ACGTGTCTC</b>	<b>360</b>
15	<b>AATTACTGGA CGTGGTACTG TTGCTACAGG TCGTGTGAA CGTGGACAAG TTCGCGTTGG</b>	<b>420</b>
	<b>TGACGAAGTT GAAGTTGTTG GTATTGCTGA AGAACTTCA AAAACAACAG TTAGTGGTGT</b>	<b>480</b>
20	<b>TGAAATGTTT CGTAAATTGT TAGACYACGC TGAAGCTGGA GACRACATTG GTGCTTTACT</b>	<b>540</b>
	<b>ACGTGGTGTG GCACGTGAAG ACATCCAACG TGGACAAGTT TTAGCTAAAC CAGGTACAAT</b>	<b>600</b>
	<b>CACACCTCRT AAAAAATTCT CTGCAGAAGT ATACGTGTTG ACAAAGAAG AAGGTGGACG</b>	<b>660</b>
25	<b>TCATACTCCA TTCTTCACTA ACTACCGTCC ACAATTCTAC TTCCGTACAA CTGACGTAAC</b>	<b>720</b>
	<b>AGGTGTTGTT GAATTACCAG AAGGAACTGA AATGGTCATG CCCGGTGACA ACGT</b>	<b>774</b>

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 134:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 809 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Enterococcus gallinarum*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 134:

## ES 2 329 202 T3

	CGGTGCGATC TTAGTAGTAT CTGCTGCTGA CGGTCCTATG CCTCAAACCTC GTGAACACAT	60
5	CTTGTATCA CGTAACGTTG GCGTACCATA CATCGTTGTT TTCTTGAACA AAATGGATAT	120
	GGTTGAYGAC GAAGAATTGC TAGAATTAGT TGAAATGGAA GTTCGTGACC TATTGTCTGA	180
	ATATGACTTC CCAGGCGACG ATGTTCCCTGT AATCGCCGGT TCTGCTTTGA AAGCTCTTGA	240
10	AGGAGATCCT TCATACGAAG AAAAAATCAT GGAATTGATG GCTGCAGTTG ACGAATACGT	300
	TCCAACCTCA GAACGTGATA CTGACAAACC ATTCATGATG CCAGTCGAAG ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGA CGTGGTACTG TTGCTACAGG CCGTGTGAA CGTGGACAAG TTCGCGTTGG	420
	TGATGAAGTA GAAATCGTTG GTATTGCTGA CGAAACTGCT AAAACAACCTG TAACAGGTGT	480
20	TGAAATGTTT CGTAAATTGT TAGACTATGC TGAAGCAGGG GATAACATTG GTGCATTGCT	540
	ACGTGGGGTT GCTCGTGAAG ACATCCAACG TGGACAAGTA TTGGCTAAAG CTGGTACAAT	600
25	CACACCTCAT ACAAATTCA AAGCTGAAGT TTATGTTTTG ACAAAGAAG AAGGTGGACG	660
	TCACACTCCA TTCTTCACTA ACTACCGTCC TCAGTTCTAC TTCCGTACAA CTGACGTAAC	720
	TGTTGTTGTT GAATTACCAG AAGGAACTGA AATGGTGATG CCTGGCGACA ACGTGACCAT	780
30	CGACGTTGAA TTGATRCACC CAATCGCTC	809

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 135:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 823 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Gardnerella vaginalis*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 135:

## ES 2 329 202 T3

	TGGCGCAATC CTCGTGGTTG CTGCTACCGA CGGTCCAATG GCTCAGACCC GTGAACACGT	60
5	CTTGCTTGCT AAGCAGGTCG GCGTTCCAAA AATTCTTGTT GCTTTGAACA AGTGCGATAT	120
	GGTTGACGAC GAAGAGCTTA TCGATCTCGT TGAAGAAGAG GTCCGTGACC TCCTCGAAGA	180
	AAACGGCTTC GATCGCGATT GCCCAGTCYT CCGTACTTCC GCTTACGGCG CTTTGCATGA	240
10	TGACGCTCCA GACCACGACA AGTGGGTAGA GACCGTCAAG GAACTCATGA AGGCTGTTGA	300
	 CGAGTACATC CCAACCCCAA CTCACGATCT TGACAAGCCA TTCTTGATGC CAATCGAAGA	360
15	TGTGTTTACC ATCTCCGGTC GTGGTYCCGT TGTACCCGGT CGTGTTGAGC GTGGTAAGCT	420
	CCCAATCAAC ACCCCAGTTG AGATCGTTGG TTTGCGCGAT ACCCAGACCA CCACCGTCAC	480
20	CTCTATCGAG ACCTTCCACA AGCAGATGGA TGAGGCAGAG GCTGGCGATA AACTTGGTCT	540
	TCTTCTCCGC GGTATCAACC GTACCGACGT TGAGCGTGGT CAGGTTGTGG CTGCTCCAGG	600
25	TTCTGTGACT CCACACACCA AGTTCGAAGG CGAAGTTTAC GTCTTGACCA AGGACGAAGG	660
	TGGCCGTCAC TCGCCATTCT TCTCCAATA CCGTCCACAG TTCTACTTCC GTACCACCGA	720
30	TGTTACTGGC GTTATCACCT TGCCAGACGG CATCGAAATG GTTCAGCCAG GCGATCACGC	780
	AACCTTCACT GTTGAGTTGA TCCAGGCTAT CGCAATGGAA GAG	823

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 136:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 817 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Listeria innocua*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 136:

## ES 2 329 202 T3

	CGGAGCTATC TTAGTAGTAT CTGCTGCTGA TGGCCCAATG CCACAAACTC GTGAACATAT	60
	CTTACTTTCA CGTCAAGTTG GTGTTCCATA CATCGTTGTA TTCATGAACA AATGTGACAT	120
5	GGTTGACGAT GAAGAATTAC TAGAATTAGT TGAAATGGAA ATTCGTGATC TATTAACCTGA	180
	ATATGAATTC CCTGGCGATG ACATTCCCTGT AATCAAAGGT TCAGCTCTTA AAGCACTTCA	240
10	AGGTGAAGCT GACTGGGAAG CTAAAATTGA CGAGTTAATG GAAGCTGTAG ATTCTTACAT	300
	TCCAACCTCA GAACGTGATA CTGACAAACC ATTCATGATG CCAGTTGAGG ATGTATTCTC	360
15	AATCACTGGT CGTGGAACAG TTGCAACTGG ACGTGTGAA CGTGGACAAG TTAAAGTTGG	420
	TGACGAAGTA GAAGTTATCG GTATTGAAGA AGAAAGCAAA AAAGTAGTAG TAACTGGAGT	480
20	AGAAATGTTT CGTAAATTAC TAGACTACGC TGAAGCTGGC GACAACATTG GCGCACTTCT	540
	ACGTGGTGTG GCTCGTGAAG ATATCCAACG TGGTCAAGTA TTAGCTAAAC CAGGTTCGAT	600
25	TACTCCACAC ACTAACTTCA AAGCTGAAAC TTATGTTTTA ACTAAAGAAG AAGGTGGACG	660
	TCACACTCCA TTCTTCAACA ACTACCGCCC ACAATTCTAT TTCCGTACTA CTGACGTAAC	720
30	TGGTATTGTT ACACTTCCAG AAGGTACTGA AATGGTAATG CCTGGTGATA ACATTGAGCT	780
	TGCAGTTGAA CTAATTGCAC CAATCGCTAT CGAAGAC	817

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 137:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 818 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Listeria ivanovii*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 137:

# ES 2 329 202 T3

	CGGAGCTATC TTAGTAGTAT CTGCTGCTGA TGGTCCAATG CCACAAACTC GTGAACATAT	60
5	TCTTACTTTC ACGTCAAGTT GGTGTTCCAT ACATCGTTGT ATTCATGAAC AAATGTGACA	120
	TGGTTGACGA TGAAGAATTA CTTGAATTAG TTGAAATGGA AATTCGTGAT CTATTAACTG	180
	AATATGAATT CCCTGGCGAC GACATTCTTG TAATCAAAGG TTCAGCTCTT AAAGCACTTC	240
10	AAGGTGAAGC TGATTGGGAA GCTAAAATTG ACGAGTTAAT GGAAGCTGTA GATTCTTACA	300
	TTCCAACCTCC AGAACGTGAT ACTGACAAAC CATTCAATGAT GCCAGTTGAG GATGTATTCT	360
15	CAATCACTGG TCGTGGAAACA GTTGCAACTG GACGTGTTGA ACGTGGACAA GTTAAAGTTG	420
	GTGACGAAGT AGAAGTTATC GGTATTGAAG AAGAAAGCAA AAAAGTAGTA GTAAGTGGAG	480
20	TAGAAATGTT CCGTAAATTA CTAGACTACG CTGAAGCTGG CGACAACATT GGCGCACTTC	540
	TACGTGGTGT TGCTCGTGAA GATATCCAAC GTGGTCAAGT ATTAGCTAAA CCAGGTTGGA	600
	TTACTCCACA TACTAACTTC AAAGCTGAAA CTTATGTTTT AACTAAAGAA GAAGGTGGAC	660
25	GTCATACTCC ATTCTTCAAC AACTACCGCC CACAATTCTA TTTCCGTACT ACTGACGTAA	720
	CTGGTATTGT TACACTTCCA GAAGGTACTG AAATGGTAAT GCCTGGTGAT AACATTGAGC	780
30	TTGCAGTTGA ACTAATTGCA CCAATCGCTA TCGAAGAC	810

## (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 138:

### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 817 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Listeria monocytogenes*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 138:

## ES 2 329 202 T3

	CGGAGCTATC TTAGTAGTAT CTGCTGCTGA TGGCCCAATG CCACAACTC GTGAACATAT	60
5	CTTACTTTCA CGTCAAGTTG GTGTTCCATA CATCGTTGTA TTCATGAACA AATGTGACAT	120
	GGTTGACGAT GAAGAATTAC TAGAATTAGT TGAAATGGAA ATTCGTGATC TATTAAGTGA	180
	ATATGAATTC CCTGGCGATG ACATTCCTGT AATCAAAGGT TCAGCTCTTA AAGCACTTCA	240
10	AGGTGAAGCT GACTGGGAAG CTAAAATTGA CGAGTTAATG GAAGCTGTAG ATTCTTACAT	300
	TCCAACCTCCW GAACGTGATA CTGACAAACC ATTCATGATG CCAGTTGAGG ATGTATTCTC	360
15	AATCACTGGT CGTGGAACAG TTGCAACTGG ACGTGTTGAA CGTGGACAAG TTAAAGTTGG	420
	TGACGAAGTA GAAGTTATCG GTATCGAAGA AGAAAGCAAA AAAGTAGTAG TAACTGGAGT	480
20	AGAAATGTTT CGTAAATTAC TAGACTACGC TGAAGCTGGC GACAACATTG GCGCACTTCT	540
	ACGTGGTGTT GCTCGTGAAG ATATCCAACR TGGTCAAGTA TTAGCTAAAC CAGGTTCGAT	600
	TACTCCACAC ACTAAGTTCA AAGCTGAAAC TTATGTTTTA ACTAAGAAG AAGGTGGACG	660
25	TCACACTCCA TTCTTCAACA ACTACCGCCC ACAATTCTAT TTCCGTACTA CTGACGTAAC	720
	TGGTATTGTT ACACTTCCAG AAGGTACTGA AATGGTAAYG CCTGGTGATA ACATTGAGCT	780
30	TGCAGTTGAA CTAATTGCAC CAATCGCTAT CGAAGAC	817

### 35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 139:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 817 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Listeria seeligeri*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 139:



## ES 2 329 202 T3

	CGGAGCTATC TTAGTAGTAT CTGCTGCTGA TGGCCCAATG CCACAAACTC GTGAACATAT	60
5	CTTACTTTCA CGTCAAGTTG GTGTTCCATA CATCGTTGTA TTCATGAACA AATGTGACAT	120
	GGTTGACGAT GAAGAATTAC TTGAATTAGT TGAAATGGAA ATTCGTGATC TATTAAGTGA	180
	ATATGAATTC CCTGGTGATG ACATTCTGT AATCAAAGGT TCAGCTCTTA AAGCACTTCA	240
10		
	AGGTGAAGCT GACTGGGAAG CTAAAATTGA CGAGTTAATG GAAGCTGTAG ATTCTTACAT	300
15	TCCAACCTCA GAACGTGATA CTGACAAACC ATTCATGATG CCAGTTGAGG ATGTATTCTC	360
	AATCACTGGT CGTGGAACTG TTGCAACTGG ACGTGTGAA CGTGGACAAG TTAAAGTTGG	420
	TGACGAAGTA GAAGTTATCG GTATTGAAGA AGAAAGCAAA AAAGTAATAG TAACTGGAGT	480
20	AGAAATGTTT CGTAAATTAC TAGACTACGC TGAAGCTGGC GACAACATTG GCGCACTTCT	540
	ACGTGGTGTG GCTCGTGAAG ATATCCAACG TGGTCAAGTA TTAGCTAAAC CAGGTTTCGAT	600
25	TACTCCACAT ACTAACTTCA AAGCTGAAAC TTATGTTTTA ACTAAAGAAG AAGGTGGACG	660
	TCACACTCCA TTCTTCAACA ACTACCGCCC ACAATTCTAT TTCCGTACTA CTGACGTAAC	720
30	TGGTATTGTT ACACTTCCAG AAGGTACTGA AATGGTAATG CCTGGTGATA ACATTGAGCT	780
	TGCAGTTGAA CTAATTGCAC CAATCGCTAT CGAAGAC	817

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 140:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 814 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Staphylococcus aureus*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 140:

## ES 2 329 202 T3

	CGGTGGTATC TTAGTAGTAT CTGCTGCTGA CGGTCCAATG CCACAAACTC GTGAACACAT	60
	TCTTTTATCA CGTAACGTTG GTGTACCAGC ATTAGTAGTA TTCTTAAACA AAGTTGACAT	120
5	GGTTGACGAT GAAGAATTAT TAGAATTAGT AGAAATGGAA GTTCGTGACT TATTAAGCGA	180
	ATATGACTTC CCAGGTGACG ATGTACCTGT AATCGCTGGT TCAGCATTAR AAGCTTTAGA	240
10	AGGCGATGCT CAATACGAAG AAAAAATCTT AGAATTARTG GAAGCTGTAG ATACTTACAT	300
	TCCAACCTCCA GAACGTGATT CTGACAAACC ATTCATGATG CCAGTTGAGG ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGT CGTGGTACTG TTGCTACAGG CCGTGTTGAA CGTGGTCAAA TCAAAGTTGG	420
	TGAAGAAGTT GAAATCATCG GTTTACATGA CACATCTAAA ACAACTGTTA CAGGTGTTGA	480
	AATGTTCCGT AAATTATTAG ACTACGCTGA AGCTGGTGAC AACATTGGTG CATTATTACG	540
20	TGGTGTTGCT CGTGAAGACG TACAACGTGG TCAAGTATTA GCTGCTCCTG GTTCAATTAC	600
	ACCACATACT GAATTCAAAG CAGAAGTATA CGTATTATCA AAAGACGAAG GTGGACGTCA	660
25		
	CACTCCATTC TTCTCAAAC ATCGTCCACA ATTCTATTTT CGTACTACTG ACGTAACTGG	720
30	TGTTGTTTAC TTACCAGAAG GTACTGAAAT GGTAATGCCT GGTGATAACG TTGAAATGAC	780
	AGTAGAATTA ATCGCTCCAA TCGCGATTGA AGAC	814

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 141:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 814 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Staphylococcus epidermidis*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 141:

## ES 2 329 202 T3

	CGGCGGTATC TTAGTTGTAT CTGCTGCTGA CGGTCCAATG CCACAAACTC GTGAACACAT	60
	CTTATTATCA CGTAACGTTG GTGTACCAGC ATTAGTTGTA TTCTTAAACA AAGTTGACAT	120
5	GGTAGACGAC GAAGAATTAT TAGAATTAGT TGAAATGGAA GTTCGTGACT TATTAAGCGA	180
	ATATGACTTC CCAGGTGACG ATGTACCTGT AATCGCTGGT TCTGCATTAA AAGCATTAGA	240
10	AGGCGATGCT GAATACGAAC AAAAAATCTT AGACTTAATG CAAGCAGTTG ATGATTACAT	300
	TCCAACCTCA GAACGTGATT CTGACAAACC ATTCATGATG CCAGTTGAGG ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGT CGTGGTACTG TTGCTACAGG CCGTGTTGAA CGTGGTCAAA TCAAAGTWGG	420
	TGAAGAAGTT GAAATCATCG GTATGCACGA AACTTCTAAA ACAACTGTTA CTGGTGTAGA	480
	AATGTTCCGT AAATTATTAG ACTACGCTGA AGCTGGTGAC AACATCGGTG CTTTATTACG	540
20	TGGTGTTGCA CGTGAAGACG TACAACGTGG TCAAGTATTA GCTGCTCCTG GTTCTATTAC	600
	ACCACACACA AAATTCAAAG CTGAAGTATA CGTATTATCT AAAGATGAAG GTGGACGTCA	660
25	CACTCCATTC TTCACTAACT ATCGCCCACA ATTCTATTTT CRTACTACTG ACGTAACTGG	720
	TGTTGTAAAC TTACCAGAAG GTACAGAAAT GGTATATGCCT GGCGACAACG TTGAAATGAC	780
30	AGTTGAATTA ATCGCTCCAA TCGCTATCGA AGAC	814

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 142:

- 35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 817 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 40 (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 45 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Staphylococcus saprophyticus*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 142:

50

55

60

65

## ES 2 329 202 T3

	CGGAGCTATC	TTAGTAGTAT	CTGCTGCTGA	TGGCCCAATG	CCACAAACTC	GTGAACACAT	60
	TCTTTTATCA	CGTRACGTTG	GTGYTCCAGC	ATTAGTTGTA	TTCTTAAACA	AAGTTGACAT	120
5	GGTTGACGAY	GAAGAATTAT	TAGAATTRGT	AGAAATGGAA	GTTCGTGRCT	TATTAAGCGA	180
	ATATGACTTC	CCAGGTGACG	ATGTACCTGT	AATCTCTGGT	TCTGCATTAA	AAGCTTTAGA	240
10	AGGCGACGCT	GACTATGAGC	AAAAAATCTT	AGACTTAATG	CAAGCTGTTG	ATGACTYCAT	300
	TCCAACACCA	GAACGTGATT	CTGACAAACC	ATTCATGATG	CCAGTTGAGG	ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGT	CGTGGTACTG	TTGCTACAGG	CCGTGTTGAA	CGTGGTCAAA	TCAAAGTCGG	420
	TGAAGAAATC	GARATCATCG	GTATGCAAGA	AGAATCAAGC	AAAACAACTG	TTACTGGTGT	480
	AGAAATGTTT	CGTAAATTAT	TAGACTACGC	TGAAGCTGGT	GACAACATTG	GTGCATTATT	540
20	ACGTGGTGTT	TCACGTGATG	ATGTACAACG	TGGTCAAGTT	TTAGCTGCTC	CTGGTACTAT	600
	CACACCACAT	ACAAAATTCA	AAGCGGATGT	TTACGTTTTA	TCTAAAGATG	AAGGTGGTCG	660
25	TCATACGCCA	TTCTTCACTA	ACTACCGCCC	ACAATTCTAT	TTCCGTACTA	CTGACGTAAC	720
	TGGTGTGTGTT	AACTTACCAG	AAGGTACTGA	AATGGTTATG	CCTGGCGATA	ACGTTGAAAT	780
30	GGATGTTGAA	TTAATTTCTC	CAATCGCTAT	TGAAGAC			817

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 143:

- 35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 817 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 40 (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 45 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Staphylococcus simulans*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 143:

50	CGGCGGTATC	TTAGTAGTAT	CTGCTGCAGA	TGGTCCAATG	CCACAAACTC	GTGAACACAT	60
	CTTATTATCA	CGTAACGTTG	GTGTACCAGC	TTTAGTTGTA	TTCTTAAACA	AAGCTGACAT	120
55	GGTTGACGAC	GAAGAATTAT	TAGAATTAGT	TGAAATGGAA	GTTCGTGACT	TATTATCTGA	180

60

65

## ES 2 329 202 T3

	ATACGACTTC CCTGGTGACG ATGTACCAGT TATCGTTGGT TCTGCATTAA AAGCTTTAGA	240
	AGGCGACCCA GAATACGAAC AAAAAATCTT AGACTTAATG CAAGCTGTAG ATGACTACAT	300
5	CCCAACTCCA GAACGTGACT CTGATAAACC ATTCATGATG CCAGTTGAGG ACGTATTCTC	360
	AATCACTGGT CGTGGTACTG TAGCAACAGG CCGTGTGAA CGTGGTCAAA TCAAAGTCGG	420
10	TGAAGAAGTT GAAATCATCG GTATCACTGA AGAAAGCAAG AAAACAACAG TTACAGGTGT	480
	AGAAATGTTT CGTAAATTAT TAGACTACGC TGAAGCTGGT GACAACATCG GTGCTTTATT	540
15	ACGTGGTGTT GCACGTGAAG ACGTACAACG TGGACAAGTA TTAGCAGCTC CTGGCTCTAT	600
	TACTCCACAC ACAAATTCA AAGCTGATGT TTACGTTTTA TCTAAAGAAG AAGGTGGACG	660
20	TCATACTCCA TTCTTCACTA ACTACCGCCC ACAATTCTAC TTCCGTACTA CTGACGTAAC	720
	TGGCGTTGTT CACTTACCAG AAGGTACTGA AATGGTTATG CCTGGCGATA ACGTAGAAAT	780
25	GACTGTTGAA TTGATCGCTC CAATCGCGAT TGAAGAC	817

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 144:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
  - (A) LONGITUD: 817 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
  - (A) ORGANISMO: *Streptococcus agalactiae*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 144:

## ES 2 329 202 T3

	CGGAGCTATC CTTGTAGTTG CTTCAACTGA TGGACCAATG CCACAACTC GTGAGCACAT	60
	CCTTCTTTCA CGTCAAGTTG GTGTTAAACA CCTTATCGTA TTCATGAACA AAGTTGACCT	120
5	TGTTGATGAT GAAGAAATTGC TTGAATTGGT TGAAATGGAA ATTCGTGACC TTCTTTCAGA	180
	ATACGACTTC CCAGGTGATG ACCTTCCAGT TATCCAAGGT TCAGCTCTTA AAGCACTTGA	240
10	AGGCGACGAA AAATACGAAG ACATCATCAT GGAATTGATG AGCACTGTTG ATGAGTACAT	300
	TCCAGAACCA GAACGTGATA CTGACAAACC TTTACTTCTT CCAGTTGAAG ATGTATTCTC	360
15	AATCACTGGA CGTGGTACAG TTGCTTCAGG ACGTATCGAC CGTGGTACTG TTCGTGTCAA	420
	CGACGAAGTT GAAATCGTTG GTATTAAAGA AGATATCCAA AAAGCAGTTG TTACTGGTGT	480
	TGAAATGTTT CGTAAACAAC TTGACGAAGG TCTTGCAAGG GACAACGTTG GTGTTCTTCT	540
20	TCGTGGTGTT CAACGTGATG AAATCGAACG TGGTCAAGTT CTTGCTAAAC CAGGTTCAAT	600
25	CAACCCACAC ACTAAATTTA AAGGTGAAGT TTACATCCTT TCTAAAGAAG AAGGTGGACG	660
	TCATACTCCA TTCTTCAACA ACTACCGTCC ACAATTCTAC TTCCGTACAA CTGACGTAAC	720
30	AGGTTCAATC GAACTTCCAG CAGGAACAGA AATGGTTATG CCTGGTGATA ACGTTACTAT	780
	CGAAGTTGAA TTGATTCACC CAATCGCCGT AGAACAA	817

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 145:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 817 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Streptococcus pneumoniae*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 145:

## ES 2 329 202 T3

	CGGAGCTATC CTTGTAGTAG CTTCAACTGA CGGACCAATG CCACAACTC GTGAGCACAT	60
5	CCTTCTTTCA CGTCAGGTTG GTGTTAAACA CCTTATCGTC TTCATGAACA AAGTTGACTT	120
	GGTTGACGAC GAAGAATTGC TTGAATTGGT TGAAATGGAA ATCCGTGACC TATTGTCAGA	180
	ATACGACTTC CCAGGTGACG ATCTTCCAGT TATCCAAGGT TCAGCACTTA AAGCTCTTGA	240
10	AGGTGACTCT AAATACGAAG ACATCGTTAT GGAATTGATG AACACAGTTG ATGAGTATAT	300
	CCCAGAACCA GAACGTGACA CTGACAAACC ATTGCTTCTT CCAGTCGAGG ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGA CGTGGTACAG TTGCTTCAGG ACGTATCGAC CGTGGTATCG TTAAAGTCAA	420
	CGACGAAATC GAAATCGTTG GTATCAAAGA AGAAACTCRA AAAGCAGTTG TTAAGTGGTGT	480
20	TGAAATGTTT CGTAAACAAC TTGACGAAGG TCTTGCTGGA GATAACGTAG GTGTCCTTCT	540
	TCGTGGTGGT CAACGTGATG AAATCGAACG TGGACAAGTT ATCGCTAAAC CAGGTTCAAT	600
	CAACCCACAC ACTAAATTCA AAGGTGAAGT CTACATCCTT ACTAAGAAG AAGGTGGACG	660
25	TCACACTCCA TTCTTCAACA ACTACCGTCC ACAATTCTAC TTCCGTACTA CTGACGTTAC	720
	AGGTTCAATC GAACTTCCAG CAGGTACTGA AATGGTAATG CCTGGTGATA ACGTGACAAT	780
30	CGACGTTGAG TTGATTCACC CAATCGCCGT AGAACAA	817

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 146:

- 35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 817 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 40 (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 45 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Streptococcus salivarius*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 146:

50

55

60

65

## ES 2 329 202 T3

	CGGTGCGATC CTTGTAGTAG CATCTACTGA CGGACCAATG CCACAAACTC GTGAGCACAT	60
5	CCTTCTTTCA CGTCAGGTTG GTGTTAAACA CCTTATCGTC TTCATGAACA AAGTTGACTT	120
	GGTTGACGAT GAAGAATTGC TTGAATTGGT TGAAATGGAA ATCCGTGACC TTCTTTCAGA	180
	ATACGATTTC CCAGGTGATG ACATTCCAGT TATCCAAGGT TCAGCTCTTA AAGCTCTTGA	240
10	AGGTGATTCT AAATACGAAG ACATCATCAT GGACTTGATG AACACTGTTG ACGAATACAT	300
	CCCAGAACCA GAACGTGACA CTGACAAACC ATTGTTGCTT CCAGTCGAAG ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGT CGTGGTACTG TTGCTTCAGG ACGTATCGAC CGTGGTGTTG TTCGTGTCAA	420
	TGACGAAGTT GAAATCGTTG GTCTTAAAGA AGACATCCAA AAAGCAGTTG TTA CTGGTGT	480
20	TGAAATGTTT CGTAAACAAC TTGACGRAGG TATTGCCGGA GATAACGTCG GTGTTCTTCT	540
	TCGTGGTATC CAACGTGATG AAATCGAACG TGGTCAAGTA TTGGCTGCAC CTGGTTCAAT	600
	CAACCCACAC ACTAAATTCA AAGGTGAAGT TTACATCCTT TCTAAAGAAG AAGGTGGACG	660
25	TCACACTCCA TTCTTCAACA ACTACCGTCC ACAGTTCTAC TTCCGTACAA CTGACGTAAC	720
	AGGTTCAATC GAACTTCCTG CAGGTACTGA AATGGTTATG CCTGGTGATA ACGTGACTAT	780
30	CGACGTTGAG TTGATCCACC CAATCGCCGT TGAACAA	817

### 35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 147:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 897 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### 45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Agrobacterium tumefaciens*

#### 50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 147:

	AACATGATCA CCGGTGCTGC CGAGATGGAC GGC GCGATCC TGGTTTGCTC GGCTGCCGAC	60
55	GGCCCGATGC CACAGACCCG CGAGCACATC CTGCTTGCCC GTCAGGTGGG CGTTCCGGCC	120



## ES 2 329 202 T3

ATCGTCGTGT TCCTCAACAA GGTCGACCAG GTTGACGACG CCGAGCTTCT CGAGCTCGTC 180  
 GAGCTTGAAG TTCGCGAACT TCTGTCGTCC TACGACTTCC CGGGCGACGA TATCCCAGTC 240  
 ATCAAGGGTT CGGCACCTGC TGCTCTTGAA GATTCTGACA AGAAGATCGG TGAAGACGCG 300  
 ATCCGCGAGC TGATGGCTGC TGTCGACGCC TACATCCCGA CGCCTGAGCG TCCGATCGAC 360  
 CAGCCGTTCC TGATGCCGAT CGAAGACGTG TTCTCGATCT CGGGTCGTGG TACGGTTGTG 420  
 ACGGGTCGCG TTGAGCGCGG TATCGTCAAG GTTGGTGAAG AAGTCGAAAT CGTCGGCATC 480  
 CGTCCGACCT CGAAGACGAC TGTTACCGGC GTTGAAATGT TCCGCAAGCT GCTCGACCAG 540  
 GGCCAGGCCG GCGACAACAT CGGTGCACTC GTTCGCGGCG TTACCCGTGA CGGCGTCGAG 600  
 CGTGGTGAGA TCCTGTGCAA GCCGGGTTTCG GTCAAGCCGC ACAAGAAGTT CATGGCAGAA 660  
 GCCTACATCC TGACGAAGGA AGAAGGCGGC CGTCATACGC CGTTCTTCAC GAACTACCGT 720  
 CCGCAGTTCT ACTTCCGTAC GACTGACGTT ACCGGTATCG TTTCGCTTCC TGAAGGCACG 780  
 GAAATGGTTA TGCCTGGCGA CAACGTCACT GTTGAAGTCG AGCTGATCGT TCCGATCGCG 840  
 ATGGAAGAAA AGCTGCGCTT CGCTATCCGC GAAGGCGGCC GTACCGTCGG CGCCGGC 897

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 148:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 885 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Bacillus subtilis*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 148:

## ES 2 329 202 T3

	ATGATCACTG GTGCTGCGCA AATGGACGGA GCTATCCTTG TAGTATCTGC TGCTGATGGC	60
5	CCAATGCCAC AAACCTCGTA GCACATCCTT CTTTCTAAAA ACGTTGGTGT ACCATACATC	120
	GTTGTATTCT TAAACAAATG CGACATGGTA GACGACGAAG AGCTTCTTGA ACTAGTTGAA	180
	ATGGAAGTTC GCGATCTTCT TAGCGAATAC GACTTCCCTG GTGATGATGT ACCAGTTGTT	240
10	AAAGGTTCTG CTCTTAAAGC TCTTGAAGGA GACGCTGAGT GGGAAAGCTAA AATCTTCGAA	300
	CFTATGGATG CGGTTGATGA GTACATCCCA ACTCCAGAAC GCGACACTGA AAAACCATTC	360
15	ATGATGCCAG TTGAGGACGT ATTCTCAATC ACTGGTCGTG GTACAGTTGC TACTGGCCGT	420
	GTAGAACGCG GACAAGTTAA AGTCGGTGAC GAAGTTGAAA TCATCGGTCT TCAAGAAGAG	480
20		
	AACAAGAAAA CAACTGTTAC AGGTGTTGAA ATGTTCCGTA AGCTTCTTGA TTACGCTGAA	540
25	GCTGGTGACA ACATTGGTGC CCTTCTTCGC GGTGTATCTC GTGAAGAAAT CCAACGTGGT	600
	CAAGTACTTG CTAAACCAGG TACAATCACT CCACACAGCA AATTCAAAGC TGAAGTTTAC	660
	GTTCTTTCTA AAGAAGAGGG TGGACGTCAT ACTCCATTCT TCTCTAACTA CCGTCCTCAG	720
30	TTTACTTCC GTACAACTGA CGTAACTGGT ATCATCCATC TTCCAGAAGG CGTAGAAATG	780
	GTTATGCCTG GAGATAACAC TGAAATGAAC GTTGAACCTA TTTCTACAAT CGCTATCGAA	840
35	GAAGGAACTC GTTTCTCTAT TCGTGAAGGC GGACGTACTG TTGGT	885

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 149:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 882 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Bacteroides fragilis*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 149:

# ES 2 329 202 T3

	ATGGTTACTG GTGCTGCTCA GATGGACGGT GCTATCATTG TAGTTGCTGC TACTGATGGT	60
5	CCGATGCCTC AGACTCGTGA GCACATCCTT TTGGCTCGTC AGGTAAACGT TCCGAAGCTG	120
	GTTGTATTCA TGAACAAGTG CGATATGGTT GAAGATGCTG AGATGTTGGA ACTTGTTGAA	180
	ATGGAAATGA GAGAATTGCT TTCATTCTAT GATTTGACG GTGACAATAC TCCGATCATT	240
10	CAGGGTTCTG CTCTTGGTGC ATTGAACGGC GTAGAAAAAT GGGAAAGACAA AGTAATGGAA	300
	CTGATGGAAG CTGTTGATAC TTGGATTCCA CTGCCTCCGC GCGATGTTGA TAAACCTTTC	360
15	TTGATGCCGG TAGAAGACGT GTTCTCTATC ACAGGTCGTG GTACTGTAGC TACAGGTCGT	420
	ATCGAAACTG GTGTTATCCA TGTAGGTGAT GAAATCGAAA TCCTCGGTTT GGGTGAAGAT	480
20	AAGAAATCAG TTGTAACAGG TGTTGAAATG TTCCGCAAAC TTCTGGATCA GGGTGAAGCT	540
	GGTGACAACG TAGGTCTGTT GCTTCGTGGT GTTGACAAGA ACGAAATCAA ACGTGGTATG	600
	GTTCTTTGTA AACCAGGTCA GATTAAACCT CACTCTAAAT TCAAAGCAGA GGTTTATATC	660
25	CTGAAGAAAG AAGAAGGTGG TCGTCACACT CCATTCCATA ACAAATATCG TCCTCAGTTC	720
	TACCTGCGTA CTATGGACTG TACAGGTGAA ATCACTCTTC CGGAAGGAAC TGAAATGGTA	780
30	ATGCCGGGTG ATAACGTAAC TATCACTGTA GAGTTGATCT ATCCGGTTGC ACTGAACATC	840
35	GGTCTTCGTT TCGCTATCCG CGAAGGTGGA CGTACAGTAG GT	882

## (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 150:

- 40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 888 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 45 (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 50 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Borrelia burgdorferi*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 150:

# ES 2 329 202 T3

	AATATGATTA CAGGAGCAGC TCAAATGGAT GCAGCGATAC TTTTAGTTGC TGCTGATAGT	60
5	GGTGCTGAGC CTCAAACAAA AGAGCATTTC CTTCTTGCTC AAAGAATGGG AATAAAGAAA	120
	ATAATAGTTT TTTTAAATAA ATTGGACTTA GCAGATCCTG AACTTGTTGA GCTTGTTGAA	180
	GTTGAAGTTT TAGAACTTGT TGAAAAATAT GGCTTTTCAG CTGATACTCC AATAATCAAA	240
10	GGTTCAGCTT TTGGGGCTAT GTCAAATCCA GAAGATCCTG AATCTACAAA ATGCGTTAAA	300
	GAACTTCTTG AATCTATGGA TAATTATTTT GATCTTCCAG AAAGAGATAT TGACAAGCCA	360
15	TTTTTGCTTG CTGTTGAAGA TGTATTTTCT ATTTTCAGGAA GAGGCACTGT TGCTACTGGG	420
	CGTATTGAAA GAGGTATTAT TAAAGTTGGT CAAGAAGTTG AAATAGTTGG AATTAAAGAA	480
20	ACCAGAAAAA CTACTGTTAC TGGTGTGAA ATGTTCCAGA AAATTCTTGA GCAAGGTCAA	540
	GCAGGGGATA ATGTTGGTCT TCTTTTGAGA GGCCTTGATA AAAAAGACAT TGAGAGGGGG	600
25	CAAGTTTTGT CAGCTCCAGG TACAATTACT CCACACAAGA AATTTAAAGC TTCAATTTAT	660
	TGTTTGACTA AAGAAGAAGG CGGTAGGCAC AAGCCATTTT TCCCAGGGTA TAGACCACAG	720
	TTCTTTTTTA GAACAACCGA TGTTACTGGA GTTGTTGCTT TAGAGGGCAA AGAAATGGTT	780
30	ATGCCTGGTG ATAATGTTGA TATTATTGTT GAGCTGATCT CTTCAATAGC TATGGATAAG	840
	AATGTAGAAT TTGCTGTTCC AGAAGGTGGA AGAACCGTTG CTTTCAGGA	888

35

## (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 151:

### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

40

(A) LONGITUD: 894 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

45

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

50

(A) ORGANISMO: *Brevibacterium linens*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 151:

55

60

65

## ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CCGGTGCCGC TCAGATGGAC GGTGCGATCC TCGTCGTCGC CGCTACCGAC	60
	GGACCGATGC CCCAGACCCG TGAGCACGTG CTGCTCGCGC GTCAGGTCGG CGTTCCCTAC	120
5	ATCGTCGTGG CTCTGAACAA GTCCGACATG GTCGATGACG AGGAGCTCCT CGAGCTCGTC	180
	GAATTCGAGG TCCGCGACCT GCTCTCGAGC CAGGACTTCG ACGGAGACAA CGCTCCGGTC	240
10	ATTCCGGTGT CCGCTCTCAA GGCCTGGAA GCGGACGAGA AGTGGGTCAA GAGCGTTCAG	300
	GATCTCATGG CTGCCGTCGA TGACAACGTT CCGGAGCCGG AGCGCGATGT CGACAAGCCG	360
15	TTCCTCATGC CCGTCGAGGA CGTCTTCACG ATCACC GGTC GTGAACCGT CGTCACCGGT	420
	CGTGTGAGC GCGGCGTGCT CCTGCCTAAC GACGAAATCG AAATCGTCGG CATCAAGGAG	480
20	AAGTCGTCCA AGACGACTGT CACCGCTATC GAGATGTTCC GCAAGACCCT GCCGGATGCC	540
	CGTGCAGGTG AGAACGTCGG TCTGCTCCTC CGCGGCACCA AGCGCGAGGA TGTGAGCGC	600
25	GGTCAGGTCA TCGTGAAGCC GGGTTCGATC ACCCGGCACA CCAAGTTCGA GGCTCAGGTC	660
	TACATCCTGA GCAAGGACGA GGGCGGACGT CACAACCGT TCTACTCGAA CTACCGTCCG	720
30	CAGTTCTACT TCCGGACCAC GGACGTCACC GGTGTCATCA CGCTGCCCGA GGGCACCAG	780
	ATGGTCATGC CCGGCGACAA CACCGATATG TCGGTCGAGC TCATCCAGCC GATCGCTATG	840
	GAGGACCGCC TCCGCTTCGC AATCCGCGAA GGTGGCCGCA CCGTCGGCGC CGGT	894

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 152:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 888 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Burkholderia cepacia*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 152:

## ES 2 329 202 T3

	ATGATCACGG GCGCAGCGCA GATGGACGGC GCGATCCTGG TTTGCTCGGC AGCAGACGGC	60
5	CCGATGCCGC AAACGCGTGA GCACATCCTG CTGGCGCGTC AGGTTGGTGT TCCGTACATC	120
	ATCGTGTTCC TGAACAAGTG CGACAGTGTG GACGACGCTG AACTGCTCGA GCTGGTCGAG	180
10	ATGGAAGTTC GCGAACTCCT GTCGAAGTAC GACTTCCCGG GCGACGACAC GCCGATCGTG	240
	AAGGGTTTCGG CCAAGCTGGC GCTGGAAGGC GACACGGGCG AGCTGGGCGA AGTGGCGATC	300
15	ATGAGCCTGG CAGACGCGCT GGACACGTAC ATCCCGACGC CGGAGCGTGC AGTTGACGGC	360
	GCGTTCCTGA TGCCGGTGGA AGACGTGTTT TCGATCTCGG GCCGTGGTAC GGTGGTGACG	420
20	GGTCGTGTG AGCGCGGCAT CGTGAAGGTC GGCGAAGAAA TCGAAATCGT CGGTATCAAG	480
	CCGACGGTGA AGACGACCTG CACGGGCGTT GAAATGTTCC GCAAGCTGCT GGACCAAGGT	540
25	CAGGCAGGCG ACAACGTCGG TATCCTGCTG CGCGGCACGA AGCGTGAAGA CGTGGAGCGT	600
	GGCCAGGTTT TGGCGAAGCC GGGTTCGATC ACGCCGCACA CGCACTTCAC GGCTGAAGTG	660
30	TACGTGCTGA GCAAGGACGA AGGCGGCCGT CACACGCCGT TCTTCAACAA CTACCGTCCG	720
	CAGTTCTACT TCCGTACGAC GGACGTGACG GGCTCGATCG AGCTGCCGAA GGACAAGGAA	780
35	ATGGTGATGC CGGGCGACAA CGTGTCGATC ACGGTGAAGC TGATTGCTCC GATCGCGATG	840
	GAAGAAGGTC TGCGCTTCGC AATCCGTGAA GGCGGCCGTA CGGTCGGC	888

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 153:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 891 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Chlamydia trachomatis*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 153:

# ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CCGGTGCGGC TCAAATGGAC GGGGCTATTC TAGTAGTTTC TGCAACAGAC	60
5	GGAGCTATGC CTCAAATAA AGAGCATATT CTTTTGGCAA GACAAGTTGG GGTTCCTTAC	120
	ATCGTTGTTT TTCTCAATAA AATTGACATG ATTTCCGAAG AAGACGCTGA ATTGGTCGAC	180
	TTGGTTGAGA TGGAGTTGGC TGAGCTTCTT GAAGAGAAAG GATACAAAGG GTGTCCAATC	240
10	ATCAGAGGTT CTGCTCTGAA AGCTTTGGAA GGAGATGCTG CATACATAGA GAAAGTTCGA	300
	GAGCTAATGC AAGCCGTCGA TGATAATATC CCTACTCCAG AAAGAGAAAT TGACAAGCCT	360
15	TTCTTAATGC CTATTGAGGA CGTGTCTCT ATCTCCGGAC GAGGAACTGT AGTAACTGGA	420
	CGTATTGAGC GTGGAATTGT TAAAGTTTCC GATAAAGTTC AGTTGGTCGG TCTTAGAGAT	480
20	ACTAAAGAAA CGATTGTTAC TGGGGTTGAA ATGTTTCAGAA AAGAACTCCC AGAAGGTCGT	540
	GCAGGAGAGA ACGTTGGATT GCTCCTCAGA GGTATTGGTA AGAACGATGT GGAAAGAGGA	600
25	ATGGTTGTTT GCTTGCCAAA CAGTGTTAAA CCTCATACAC AGTTTAAGTG TGCTGTTTAC	660
	GTTCTGCAAA AAGAAGAAGG TGGACGACAT AAGCCTTTCT TCACAGGATA TAGACCTCAA	720
30	TTCTTCTTCC GTACAACAGA CGTTACAGGT GTGGTAACTC TGCCTGAGGG AGTTGAGATG	780
	GTCATGCCTG GGGATAACGT TGAGTTTGAA GTGCAATTGA TTAGCCCTGT GGCTTTAGAA	840
35	GAAGGTATGA GATTTGCGAT TCGTGAAGGT GGTCGTACAA TCGGTGCTGG A	891

## (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 154:

- 40
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 891 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- 45
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 50
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Escherichia coli*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 154:
- 55
- 60
- 65

## ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CCGGTGCTGC GCAGATGGAC GGCGCGATCC TGGTAGTTGC TGCGACTGAC	60
	GGCCCGATGC CGCAGACTCG TGAGCACATC CTGCTGGGTC GTCAGGTAGG CGTTCCGTAC	120
5	ATCATCGTGT TCCTGAACAA ATGCGACATG GTTGATGACG AAGAGCTGCT GGAAC TG GTT	180
	GAAATGGAAG TTCGTGAACT TCTGTCTCAG TACGACTTCC CGGGCGACGA CACTCCGATC	240
10	GTTCGTGGTT CTGCTCTGAA AGCGCTGGAA GGCGACGCAG AGTGGGAAGC GAAAATCCTG	300
	GAACTGGCTG GCTTCCTGGA TTCTTACATT CCGGAACCAG AGCGTGCAT TGACAAGCCG	360
15	TTCTGCTGC CGATCGAAGA CGTATTCTCC ATCTCCGGTC GTGGTACCGT TGTTACCGT	420
	CGTGTAGAAC GCGGTATCAT CAAAGTTGGT GAAGAAGTTG AAATCGTTGG TATCAAAGAG	480
20	ACTCAGAACT CTACCTGTAC TGGCGTTGAA ATGTTCCGCA AACTGCTGGA CGAAGGCCGT	540
	GCTGGTGAGA ACGTAGGTGT TCTGCTGCGT GGTATCAAAC GTGAAGAAAT CGAACGTGGT	600
	CAGGTACTGG CTAAGCCGGG CACCATCAAG CCGCACACCA AGTTCGAATC TGAAGTGATC	660
25	ATTCTGTCCA AAGATGAAGG CGGCCGTCAT ACTCCGTTCT TCAAAGGCTA CCGTCCGCAG	720
	TTCTACTTCC GTACTACTGA CGTGA CTGGT ACCATCGAAC TGCCGGAAGG CGTAGAGATG	780
30	GTAATGCCGG GCGACAACAT CAAAATGGTT GTTACCCTGA TCCACCCGAT CGCGATGGAC	840
	GACGGTCTGC GTTTCGCAAT CCGTGAAGGC GGCCGTACCG TTGGCGCGGG C	891

35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 155:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 891 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Fibrobacter succinogenes*

50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 155:



## ES 2 329 202 T3

	AACATGGTGA CTGGTGCTGC TCAGATGGAC GCGCTATCC TCGTTGTTGC CGCTACTGAC	60
	GGTCCGATGC CGCAGACTCG CGAACACATC CTTCTCGCTC ACCAGGTTGG CGTGCCGAAG	120
5	ATCGTCGTGT TCATGAACAA GTGCGACATG GTTGACGATG CTGAAATTCT CGACCTCGTC	180
	GAAATGGAAG TTCGCGAACT CCTCTCCAAG TATGACTTCG ACGGTGACAA CACCCCGATC	240
10	ATCCGTGGTT CCGCTCTCAA GGCCCTCGAA GCGATCCGG AATACCAGGA CAAGGTCATG	300
	GAACTCATGA ACGCTTGCGA CGAATACATC CCGCTCCCGC AGCGCGATAC CGACAAGCCG	360
15	TTCTTCATGC CGATCGAAGA CGTGTTACG ATTACTGGCC GCGGCACTGT CGCTACTGGC	420
	CGTATCGAAC GCGGTGTCGT TCGCTTGAAC GACAAGGTTG AACGTATCGG TCTCGGTGAA	480
	ACCACCGAAT ACGTCATCAC CCGTGTTGAA ATGTTCCGTA AGCTCCTCGA CGACGCTCAG	540
20	GCAGGTGACA ACGTTGGTCT CCTCCTCCGT GGTGCTGAAA AGAAGGACAT CGTCCGTGGC	600
	ATGGTTCTCG CAGCTCCGAA GTCTGTCACT CCGCACACCG AATTTAAGGC TGAAATCTAC	660
25	GTTCTCACGA AGGACGAAGG TGGCCGTCAC ACGCCGTTCA TGAATGGCTA CCGTCCGCAG	720
	TTCTACTTCC GCACCACCGA CGTTACTGGT ACGATCCAGC TCCCGGAAGG TGTCGAAATG	780
	GTTACTCCGG GTGACACGGT CACGATCCAC GTGAACCTCA TCGCTCCGAT CGCTATGGAA	840
30	AAGCAGCTCC GCTTCGCTAT CCGTGAAGGT GGACGTTACTG TTGGTGCTGG C	891

### 35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 156:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 894 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### 45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Flavobacterium ferrugineum*

#### 50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 156:

55

60

65

## ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CCGGTGCTGC CCAGATGGAC GGTGCTATCT TAGTTGTGGC TGCATCAGAC	60
5	GGTCCTATGC CTCAAACAAA AGAACACATC CTGCTTGCTG CCCAGGTAGG TGTACCTAAA	120
	ATGGTTGTGT TTCTGAATAA AGTTGACCTC GTTGACGACG AAGAGCTCCT GGAGCTGGTT	180
	GAGATCGAGG TTCGCGAAGA ACTGACTAAA CGCGGTTTCG ACGGCGACAA CACTCCAATC	240
10	ATCAAAGGTT CCGCTACAGG CGCCCTCGCT GGTGAAGAAA AGTGGGTAA AGAAATTGAA	300
	AACCTGATGG ACGCTGTTGA CAGCTACATC CCACTGCCTC CTCGTCCGGT TGATCTGCCG	360
15	TTCTTGATGA GCGTAGAGGA CGTATTCTCT ATCACTGGTC GTGGTACTGT TGCTACCGGT	420
	CGTATCGAGC GTGGCCGTAT CAAAGTTGGT GAGCCTGTTG AGATCGTAGG TCTGCAGGAG	480
20	TCTCCCTGA ACTCTACCGT TACAGGTGTT GAGATGTTCC GCAAACCTCT CGACGAAGGT	540
	GAAGCTGGTG ATAACGCCGG TCTCCTCCTC CGTGGTGTG AAAAAACACA GATCCGTCGC	600
25	GGTATGGTAA TCGTTAAACC CGGTTCCATC ACTCCGCACA CGGACTTCAA AGGCGAAGTT	660
	TACGTACTGA GCAAAGACGA AGGTGGCCGT CACACTCCAT TCTTCAACAA ATACCGTCCT	720
30	CAATTCTACT TCCGTACAAC TGACGTTACA GGTGAAGTAG AACTGAACGC AGGAACAGAA	780
	ATGGTTATGC CTGGTGATAA CACCAACCTG ACCGTTAAAC TGATCCAACC GATCGCTATG	840
	GAAAAAGGTC TGAAATTCGC GATCCGCGAA GGTGGCCGTA CCGTAGGTGC AGGA	894

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 157:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 891 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Haemophilus influenzae*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 157:

## ES 2 329 202 T3

	AATATGATTA CTGGTGC GGC ACAAATGGAT GGTGCTATTT TAGTAGTAGC AGCAACAGAT	60
5	GGTCCTATGC CACAACTCG TGAACACATC TTATTAGGTC GCCAAGTAGG TGTTCATAC	120
	ATCATCGTAT TCTTAAACAA ATGCGACATG GTAGATGACG AAGAGTTATT AGAATTAGTC	180
10	GAAATGGAAG TTCGTGAACT TCTATCTCAA TATGACTTCC CAGGTGACGA TACACCAATC	240
	GTACGTGGTT CAGCATTACA AGCGTTAAAC GGCCTAGCAG AATOGGAAGA AAAATCCTT	300
15	GAGTTAGCAA ACCACTTAGA TACTTACATC CCAGAACCAG AACGTGCGAT TGACCAACCG	360
	TTCCTTCTTC CAATCGAAGA TGTGTTCTCA ATCTCAGGTC GTGGTACTGT AGTAACAGGT	420
20	CGTGTAGAAC GAGGTATTAT CCGTACAGGT GATGAAGTAG AAATCGTCGG TATCAAAGAT	480
	ACAGCGAAAA CTACTGTAAC GGGTGTGAA ATGTTCCGTA AATTACTTGA CGAAGGTCGT	540
25	GCAGGTGAAA ACATCGGTGC ATTATTACGT GGTACCAAAC GTGAAGAAAT CGAACGTGGT	600
	CAAGTATTAG CGAAACCAGG TTCAATCACA CCACACACTG ACTTCGAATC AGAAGTGTAC	660
30	GTATTATCAA AAGATGAAGG TGGTCGTCAT ACTCCATTCT TCAAAGGTTA CCGTCCACAA	720
	TTCTATTTCC GTACAACAGA CGTGAAGTGGT ACAATCGAAT TACCAGAAGG CGTGGAATG	780
35	GTAATGCCAG GCGATAACAT CAAGATGACA GTAAGCTTAA TCCACCCAAT TCGATGGAT	840
	CAAGGTTTAC GTTTCGCAAT CCGTGAAGGT GGCCGTACAG TAGGTGCAGG C	891

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 158:

- 40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 906 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 45 (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 50 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Helicobacter pylori*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 158:

# ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CCGGTGCGGC GCAAATGGAC GGAGCGATTT TGGTTGTTTC TGCAGCTGAT	60
5	GGCCCTATGC CTCAAAC TAG GGAGCATATC TTATTGTCTC GTCAAGTAGG CGTGCCTCAC	120
	ATCGTTGTTT TCTTAAACAA ACAAGACATG GTAGATGACC AAGAATTGTT AGAACTTGTA	180
	GAAATGGAAG TGC GCGAATT GTTGAGCGCG TATGAATTTCT CTGGCGATGA CACTCCTATC	240
10	GTAGCGGGTT CAGCTTTAAG AGCTTTAGAA GAAGCAAAGG CTGGTAATGT GGGTGAATGG	300
	GGTGAAAAAG TGCTTAAACT TATGGCTGAA GTGGATGCCT ATATCCCTAC TCCAGAAAGA	360
15	GACACTGAAA AAACCTTTCTT GATGCCGGTT GAAGATGTGT TCTCTATTGC GGGTAGAGGG	420
	ACTGTGGTTA CAGGTAGGAT TGAAAGAGGC GTGGTGAAAG TAGGCGATGA AGTGGAATC	480
	GTTGGTATCA GACCTACACA AAAAACGACT GTAACCGGTG TAGAAATGTT TAGGAAAGAG	540
20	TTGGAAAAAG GTGAAGCCGG CGATAATGTG GCGTGCTTT TGAGAGGAAC TAAAAAAGAA	600
25	GAAGTGGAAC GCGGTATGGT TCTATGCAAA CCAGGTTCTA TCACTCCGCA CAAGAAATTT	660
	GAGGGAGAAA TTTATGTCCT TTCTAAAGAA GAAGGCGGGA GACACACTCC ATTCTTCACC	720
30	AATTACCGCC CGCAATTCTA TGTGCGCACA ACTGATGTGA CTGGCTCTAT CACCCTTCCT	780
	GAAGGCGTAG AAATGGTTAT GCCTGGCGAT AATGTGAAAA TCACTGTAGA GTTGATTAGC	840
	CCTGTTGCGT TAGAGTTGGG AACTAAATTT GCGATTCTGT AAGGCGGTAG GACCGTTGGT	900
35	GCTGGT	906

## 40 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 159:

### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 891 pares de bases

45 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

50 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Micrococcus luteus*

55 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 159:

60

65

## ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CCGGCGCCGC TCAGATGGAC GCGCGATCC TCGTGGTCGC CGCTACCGAC	60
5	GGCCCGATGG CCCAGACCCG TGAGCACGTG CTCCTGGCCC GCCAGGTCGG CGTGCCGGCC	120
	CTGCTCGTGG CCCTGAACAA GTCGGACATG GTGGAGGACG AGGAGCTCCT CGAGCGTGTC	180
	GAGATGGAGG TCCGGCAGCT GCTGTCTCTCC AGGAGCTTCG ACGTCGACGA GGCCCCGGTC	240
10	ATCCGCACCT CCGCTCTGAA GGCCCTCGAG GCGGACCCCC AGTGGGTCAA GTCCGTCGAG	300
	GACCTCATGG ATGCCGTGGA CGAGTACATC CCGGACCCGG TCGCGACAA GGACAAGCCG	360
15	TTCCTGATGC CGATCGAGGA CGTCTTCAAG ATCACC GGCC GTGGCACC GTGACCGGT	420
	CGCGCCGAGC GCGGCACCTT GAAGATCAAC TCCGAGGTCG AGATCGTCGG CATCCGCGAC	480
20	GTGCAGAAGA CCACTGTCAC CGGCATCGAG ATGTTCCACA AGCAGCTCGA CGAGGCCTGG	540
	GCCCGCGAGA ACTGCGGTCT GCTCGTGCGC GGTCTGAAGC GCGACGACGT CGAGCGCGGC	600
	CAGGTGCTGG TGGAGCCGGG CTCCATCACC CCGCACACCA ACTTCGAGGC GAACGTCTAC	660
25	ATCCTGTCCA AGGACGAGGG TGGGCGTCAC ACCCGTTCT ACTCGAACTA CCGCGCGCAG	720
	TTCTACTTCC GCACCACCGA CGTCACCGGC GTCATCACGC TGCCCGAGGG CACCGAGATG	780
30	GTCATGCCCG GCGACACCAC CGAGATGTCG GTCGAGCTCA TCCAGCCGAT CGCCATGGAG	840
	GAGGGCCTCG GCTTCGCCAT CCGCGAGGGT GGCCGCACCG TGGGCTCCGG C	891

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 160:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 891 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Mycobacterium tuberculosis*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 160:

## ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CCGGCGCCGC GCAGATGGAC GGTGCGATCC TGGTGGTCGC CGCCACCGAC	60
5	GGCCCCGATGC CCCAGACCCG CGAGCACGTT CTGCTGGCGC GTCAAGTGGG TGTGCCCTAC	120
	ATCCTGGTAG CGCTGAACAA GGCCGACGCA GTGGACGACG AGGAGCTGCT CGAACTCGTC	180
	GAGATGGAGG TCCGCGAGCT GCTGGCTGCC CAGGAATTCG ACGAGGACGC CCCGGTTGTG	240
10	CGGGTCTCGG CGCTCAAGGC GCTCGAGGGT GACGCGAAGT GGGTTGCCTC TGTGAGGAA	300
	CTGATGAACG CGGTCGACGA GTCGATTCCG GACCCGGTCC GCGAGACCGA CAAGCCGTTT	360
15	CTGATGCCGG TCGAGGACGT CTTACCATT ACCGGCCGCG GAACCGTGGT CACCGGACGT	420
	GTGAGCGCG GCGTGATCAA CGTGAACGAG GAAGTTGAGA TCGTCGGCAT TCGCCCATCG	480
20	ACCACCAAGA CCACCGTCAC CGGTGTGGAG ATGTTCCGCA AGCTGCTCGA CCAGGGCCAG	540
	GCGGGCGACA ACGTTGGTTT GCTGCTGCGG GCGGTCAAGC GCGAGGACGT CGAGCGTGGC	600
	CAGGTTGTCA CCAAGCCCGG CACCACCAG CCGCACACCG AGTTCGAAGG CCAGGTCTAC	660
25	ATCCTGTCCA AGGACGAGGG CGGCCGGCAC ACGCCGTTCT TCAACAATA CCGTCCGCAG	720
	TTCTACTTCC GCACCACCGA CGTGACCGGT GTGGTGACAC TGCCGGAGGG CACCGAGATG	780
30	GTGATGCCCG GTGACAACAC CAACATCTCG GTGAAGTTGA TCCAGCCCGT CGCCATGGAC	840
	GAAGGTCTGC GTTTCGCGAT CCGCGAGGGT GGCCGCACCG TGGGCGCCGG C	891

35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 161:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 891 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Mycoplasma genitalium*

50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 161:

## ES 2 329 202 T3

	AATATGATCA CAGGTGCTGC ACAAATGGAT GGAGCTATTC TAGTTGTTTC AGCAACTGAT	60
5	AGTGTGATGC CCCAAACCCG CGAGCACATC TTACTTGCCC GCCAAGTAGG GGTTCCTAAA	120
	ATGGTAGTTT TTCTAAACAA GTGTGATATT GCTAGTGATG AAGAGGTACA AGAACTTGTT	180
	GCTGAAGAAG TACGTGATCT GTTAACTTCC TATGGTTTTG ATGGTAAGAA CACTCCTATT	240
10	ATTTATGGCT CAGCTTTAAA AGCATTGGAA GGTGATCCAA AGTGGGAGGC TAAGATCCAT	300
	GATTTGATTA AAGCAGTTGA TGAATGGATT CCAACTCCTA CACGTGAAGT AGATAAACCT	360
15	TTCTTATTAG CAATTGAAGA TACGATGACC ATTACTGGTA GAGGTACAGT TGTTACAGGA	420
	AGAGTTGAAA GAGGTGAACT CAAAGTAGGT CAAGAAGTTG AAATTGTTGG TTTAAAACCA	480
	ATTAGAAAAG CAGTTGTTAC TGGGAATTGAA ATGTTCAAAA AGGAACTTGA TTCAGCAATG	540
20	GCTGGTGACA ATGCTGGGGT ATTATTACGT GGTGTTGAAC GTAAAGAAGT TGAAAGAGGT	600
	CAAGTTTTAG CAAAACCAGG CTCTATTAAA CCGCACAAGA AATTTAAAGC TGAGATCTAT	660
25	GCTTTAAAGA AAGAAGAAGG TGGTAGACAC ACTGGTTTTT TAAACGGTTA CCGTCCTCAA	720
	TTCTATTGCC GTACCACTGA TGTAAGTGGT TCTATTGCTT TAGCTGAAAA TACTGAAATG	780
30	GTTCTACCTG GTGATAATGC TTCTATTACT GTTGAGTTAA TTGCTCCTAT CGCTTGTGAA	840
	AAAGGTAGTA AGTTCTCAAT TCGTGAAGGT GGTAGAACTG TAGGGGCAGG C	891

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 162:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 891 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Neisseria gonorrhoeae*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 162:

## ES 2 329 202 T3

	AACATGATTA CCGGCGCCGC ACAAATGGAC GGTGCAATCC TGGTATGTTT TGCTGCCGAC	60
	GGCCCTATGC CGCAAACCCG CGAACACATC CTGCTGGCCC GTCAAGTAGG CGTACCTTAC	120
5	ATCATCGTGT TCATGAACAA ATGCGACATG GTCGACGATG CCGAGCTGTT CCAACTGGTT	180
	GAAATGGAAA TCCGCGACCT GCTGTCCAGC TACGACTTCC CCGGCGACGA CTGCCCGATC	240
10		
	GTACAAGGTT CCGCACTGAA AGCCTTGGAA GGCATGCCG CTTACGAAGA AAAAATCTTC	300
	GAACTGGCTA CCGCATTGGA CAGATACATC CCGACTCCCG AGCGTGCCGT GGACAAACCA	360
15	TTCCTGCTGC CTATCGAAGA CGTGTTCCTC ATTTCCGGCC GCGGTACCGT AGTCACCGGC	420
	CGTGTAGAGC GAGGTATCAT CCACGTTGGT GACGAGATTG AAATCGTCGG TCTGAAAGAA	480
20	ACCCAAAAAA CCACCTGTAC CGGCGTTGAA ATGTTCCGCA AACTGCTGGA CGAAGGTCAG	540
	GCGGGCGACA ACGTAGGCGT ATTGCTGCGC GGTACCAAAC GTGAAGACGT AGAACGCGGT	600
25	CAGGTATTGG CCAAACGGGG TACTATCACT CCTCACACCA AGTTCAAAGC AGAAGTGTAC	660
	GTATTGAGCA AAGAAGAGGG CGGCCCCCAT ACCCGTTTTT TCGCCAACTA CCGTCCCCAA	720
30	TTCTACTTCC GTACCACTGA CGTAACCGGC ACGATTACTT TGGAAAAAGG TGTGGAAATG	780
	GTAATGCCGG GTGAGAACGT AACCATTACT GTAGAACTGA TTGCGCCTAT CGCTATGGAA	840
35	GAAGGTCTGC GCTTTGCGAT TCGCGAAGGC GGCCGTACCG TGGGTGCCGG C	891

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 163:

- 40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 891 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 45 (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- 50 (A) ORGANISMO: *Rickettsia prowazekii*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 163:

55

60

65



# ES 2 329 202 T3

	AATATGATAA CTGGTGCCGC TCAGATGGAT GGTGCTATAT TAGTAGTTTC TGCTGCTGAT	60
5	GGTCCTATGC CTCAACTAG AGAACATATA TTAGTGCAA AACAGGTAGG TGTACCTGCT	120
	ATGGTAGTAT TTTTGAATAA AGTAGATATG GTAGATGATC CTGACCTATT AGAATTAGTT	180
	GAGATGGAAG TAAGAGAATT ATTATCAAAA TATGGTTTCC CTGGTAATGA AATACCTATT	240
10	ATTAAAGGTT CTGCACTTCA AGCTTTAGAA GGAAAACCTG AAGGTGAAAA AGCTATTAAT	300
	GAGTTAATGA ATGCAGTAGA TACGTATATA CCTCAGCCTA TAGAGCTACA AGATAAACCT	360
15	TTTTTAATGC CAATAGAGGA TGTATTTTCT ATTTCAGGCA GAGGTACCGT TGTAAGTGGT	420
	AGAGTGGAGT CAGGCATAAT TAAGGTGGGT GAAGAAATTG AAATAGTAGG TCTAAAAAAT	480
20	ACGCAAAAAA CGACTTGTAC AGGTGTAGAA ATGTTTCAGAA AATTACTTGA TGAAGGACAA	540
	TCTGGAGATA ATGTCGGTAT ATTACTACGT GGTACAAAAA GAGAAGAAGT AGAAAGAGGA	600
25	CAAGTACTTG CAAAACCTGG GAGCATAAAA CCGCATGATA AATTGGAAGC TGAAGTGTAT	660
	GTGCTTAGTA AAGAGGAAGG TGGACGTCAT ACCCCATTTA CTAATGATTA TCGCCCACAG	720
30	TTCTATTTTA GAACAACAGA TGTTACCGGC ACAATAAAAT TGCCTTCTGA TAAGCAGATG	780
	GTTATGCCCTG GAGATAATGC TACTTTTTCA GTAGAATTAA TTAAGCCGAT TGCTATGCAA	840
35	GAAGGGTTAA AATTCTCTAT ACGTGAAGGT GGTAGAACAG TAGGAGCCGG T	891

## (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 164:

- 40
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 891 pares de bases
- 45 (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 50 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Salmonella typhimurium*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 164:
- 55
- 60
- 65

## ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CCGGTGCTGC TCAGATGGAC GGC GCGATCC TGGTTGTTGC TCGACTGAC	60
5	GGCCCGATGC CGCAGACCCG TGAGCACATC CTGCTGGGTC GTCAGGTAGG CGTTCCGTAC	120
	ATCATCGTGT TCCTGAACAA ATGCGACATG GTTGATGACG AAGAGCTGCT GGAAGTGGTT	180
	GAGATGGAAG TTCGCGAACT GCTGTCTCAG TACGACTTCC CGGGCGACGA CACTCCGATC	240
10	GTTTCGTGGTT CTGCTCTGAA AGCGCTGGAA GCGGACGCAG AGTGGGAAGC GAAAATCATC	300
	GAACTGGCTG GCTTCCTGGA TTCTTATATT CCGGAACCAG AGCGTGCAT TGACAAGCCG	360
15	TTCTGCTGC CGATCGAAGA CGTATTCTCC ATCTCCGGTC GTGGTACCGT TGTACCGGT	420
	CGGTAGAGC GCGGTATCAT CAAAGTGGGC GAAGAAGTTG AAATCGTTGG TATCAAAGAG	480
20	ACTCAGAAGT CTACCTGTAC TGGCGTTGAA ATGTTCCGCA AACTGCTGGA CGAAGGCCGT	540
	GCCGGTGAGA ACGTAGGTGT TCTGCTGCGT GGTATCAAAC GTGAAGAAAT CGAACGTGGT	600
25	CAGGTACTGG CTAAGCCGGG CACCATCAAG CCGCACACCA AGTTCGAATC TGAAGTGTAC	660
	ATTCTGTCCA AAGATGAAGG CGGCCGTCAT ACTCCGTTCT TCAAAGGCTA CCGTCCGCAG	720
	TTCTACTTCC GTACTACTGA CGTGAAGTGGT ACCATCGAAC TGCCGGAAGG CGTAGAGATG	780
30	GTAATGCCGG GCGACAACAT CAAAATGGTT GTTACCCTGA TCCACCCGAT CCGATGGAC	840
	GACGGTCTGC GTTTCGCAAT CCGTGAAGGC GGCCGTACCG TTGGCGCGGG C	891

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 165:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 881 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Shewanella putida*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 165:

## ES 2 329 202 T3

	ATGATCACTG GTGCTGCACA GATGGACGGC GCGATTCTGG TAGTCGCTTC AACAGACGGT	60
	CCAATGCCAC AGACTCGTGA GCACATCCTG CTTTCTCGTC AGGTGGCGT ACCATTCATC	120
5	ATCGTATTCA TGAACAAATG TGACATGGTA GATGACGAAG AGCTGTTAGA GCTAGTTGAG	180
	ATGGAAGTGC GTGAACTGTT ATCAGAATAC GATTTCCCAG GTGATGACTT ACCGGTAATC	240
10	CAAGGTTTCAG CTCTGAAAGC GCTAGAAGGC GAGCCAGAGT GGGAAAGCAA AATCCTTGAA	300
	TTAGCAGCGG CGCTGGATTC TTACATTCCA GAACCACAAC GTGACATCGA TAAGCCGTTT	360
15	CTACTGCCAA TCGAAGACGT ATTCTCAATT TCAGGCCGTG GTACAGTAGT AACAGGTCGT	420
	GTTGAGCGTG GTATTGTACG CGTAGGCGAC GAAGTTGAAA TCGTTGGTGT ACGTGCAGCA	480
20	ACTAAGACAA CGTGTAAGTGG TGTAAGAAATG TTCCGTAAAC TGCTTGACGA AGGTCGTGCA	540
	GGTGAGAACT GTGGTATTTT GTTACGTGGT ACTAAGCGTG ATGACGTAGA ACGTGGTCAA	600
	GTATTAGCGA AGCCAGGTTT AATCAACCCA CACACTACTT TTGAATCAGA AGTTTACGTA	660
25	CTGTCAAAAG AAGAAGGTGG TCGTCACACG CCATTCTTCA AAGGCTACCG TCCACAGTTC	720
	TACTTCCGTA CAACTGACGT AACCAGTACT ATCGAACTGC CAGAAGGCGT AGAGATGGTA	780
30	ATGCCAGGCG ATAACATCAA GATGGTAGTG AACTGATTT GCCCAATCGC GATGGACGAA	840
	GGTTTACGCT TCGCAATCCG TGAAGGCGGT CGTACAGTGG T	881

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 166:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 897 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Stigmatella aurantiaca*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 166:

## ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CGGGCGCGGC GCAGATGGAC GGAGCGATTC TGGTGGTGTC CGCGGCCGAC	60
5	GGCCCCGATGC CCCAGACGCG TGAGCACATC CTGCTGGCCA GGCAGGTGGG CGTGCCCTAC	120
	ATCGTCGTCT TCCTGAACAA GGTGGACATG CTGGACGATC CGGAGCTGCG CGAGCTGGTG	180
	GAGATGGAGG TGC CGACCT GCTCAAGAAG TACGAGTTCC CGGGCGACAG CATCCCCATC	240
10	ATCCCTGGCA GCGCGCTCAA GGCCTGGAG GGAGACACCA GCGACATCGG CGAGGGAGCG	300
	ATCCTGAAGC TGATGGCGGC GGTGGACGAG TACATCCCGA CGCCGCAGCG TGCGACGGAC	360
15	AAGCCGTTCC TGATGCCGGT GGAAGACGTG TTCTCCATCG CAGGCCGAGG AACGGTGGCG	420
	ACGGGCCGAG TGGAGCGCG CAAGATCAAG GTGGGCGAGG AAGTGGAGAT CGTGGGGATC	480
20	CGTCCGACGC AGAAGACGGT CATCACGGGG GTGGAGATGT TCCGCAAGCT GCTGGACGAG	540
	GGCATGGCGG GAGACAACAT CGGAGCGCTG CTGCGAGGCC TGAAGCGCGA GGACCTGGAG	600
25	CGTGGGCAGG TGCTGGCGAA CTGGGGGAGC ATCAACCCGC ACACGAAGTT CAAGGCGCAG	660
	GTGTACGTGC TGTCGAAGGA AGAGGGAGGG CGGCACACGC CGTTCTTCAA GGGATACCGG	720
	CCGCAGTTCT ACTTCCGGAC GACGGACGTG ACCGGAACGG TGAAGCTGCC GGACAACGTG	780
30	GAGATGGTGA TGCCGGGAGA CAACATCGCC ATCGAGGTGG AGCTCATTAC TCCGGTCGCC	840
	ATGGAGAAGG AGCTGCCGTT CGCCATCCGT GAGGGTGGCC GCACGGTGGG CGCCGGC	897

35

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 167:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

40

(A) LONGITUD: 894 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

45

(D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

50

(A) ORGANISMO: *Streptococcus pyogenes*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 167:

55

60

65

# ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CTGGTGCCGC TCAAATGGAC GGAGCTATCC TTGTAGTTGC TTCAACTGAT	60
5	GGACCAATGC CACAACTCG TGAGCACATC CTTCTTTCAC GTCAGGTTGG TGTAAACAC	120
	CTTATCGTGT TCATGAACAA AGTTGACCTT GTTGATGACG AAGAGTTGCT TGAATTAGTT	180
	GAGATGGAAA TTCGTGACCT TCTTTCAGAA TACGATTTCC CAGGTGATGA CCTTCCAGTT	240
10	ATCCAAGGTT CAGCTCTTAA AGCTCTTGAA GGCACACTA AATTTGAAGA CATCATCATG	300
15	GAATTGATGG ATACTGTTGA TTCATACATT CCAGAACCAG AACGCGACAC TGACAAACCA	360
	TTGCTTCTTC CAGTCGAAGA CGTATTCTCA ATTACAGGTC GTGGTACAGT TGCTTCAGGA	420
20	CGTATCGACC GTGGTACTGT TCGTGCAAC GACGAAATCG AAATCGTTGG TATCAAAGAA	480
	GAAACTAAAA AAGCTGTTGT TACTGGTGTT GAAATGTTCC GTAAACAACT TGACGAAGGT	540
25	CTTGCAGGAG ACAACGTAGG TATCCTTCTT CGTGGTGTTT AACGTGACGA AATCGAACGT	600
	GGTCAAGTTA TTGCTAAACC AAGTTCAATC AACCACACA CTAAATTCAA AGGTGAAGTA	660
30	TATATCCTTT CTAAAGACGA AGGTGGACGT CACACTCCAT TCTTCAACAA CTACCGTCCA	720
	CAATTCTACT TCCGTACAAC TGACGTAACA GGTTCATCG AACTTCCAGC AGGTACAGAA	780
	ATGGTTATGC CTGGTGATAA CGTGACAATC AACGTTGAGT TGATCCACCC AATCGCCGTA	840
35	GAACAAGGTA CTACTTCTC AATCCGTGAA GGTGGACGTA CTGTTGGTTC AGGT	894

## 40 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 168:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 897 pares de bases
  - 45 (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Thiobacillus cuprinus*
- 55 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 168:

60

65

## ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CCGGTGCGGC CCAGATGGAC GGCGCCATCC TGGTCGTGTC CGCCGCCGAC	60
5	GGCCCCATGC CCCAAACCCG CGAGCACATC CTGCTGGCGC GTCAGGTGGG CGTGCCCTAC	120
	ATCATCGTGT TCCTCAACAA GTGCGACATG GTCGACGACG CCGAGCTGCT CGAACTCGTC	180
	GAGATGGAAG TGC GCGAGCT GCTGTCCAAG TACGACTTCC CCGGTGACGA CACCCCATC	240
10	ATCAAGGGCT CGGCCAAGCT GGCCTCGAA GGC GACAAGG GCGAACTGGG CGAAGGCGCC	300
	ATTCTCAAGC TGGCCGAGGC CCTGGACACC TACATCCCCA CGCCCGAGCG GGCCGTCGAC	360
15	GGCGCGTTCC TCATGCCCGT GGAAGACGTG TTCTCCATCT CCGGGCGCGG CACGGTGGTC	420
	ACCGGGCGTG TGGAGCGCGG CATCATCAAG GTCGGCGAGG AAATCGAGAT TGTCGGCCTC	480
20	AAGCCCACCC TCAAGACCAC CTGCACCGGC GTGGAAATGT TCAGGAAGCT GCTCGACCAG	540
	GGCCAGGCCG GCGACAACGT CGGCATCTTG CTGCGCGGCA CCAAGCGCGA GGAAGTCGAG	600
25	CGCGGCCAGG TGCTGTGCAA ACCCGGCTCG ATCAAGCCCC ACACCCACTT CACCGCCGAG	660
	GTGTACGTGC TGAGCAAGGA CGAGGGCGGC CGCCACACCC CTTTCTTCAA CACTACCGC	720
30	CCGCAGTTCT ACTTCCGCAC CACCGACGTC ACCGGCGCCA TCGAACTGCC CAAGGACAAG	780
	GAAATGGTCA TGCCCGGCGA TAATGTGAGC ATCACCGTCA AGCTCATCGC CCCCATCGCC	840
35	ATGGAAGAAG GCCTGCGCTT CGCCATCCGC GAAGGCGGCC GCACCGTCGG CGCCGGC	897

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 169:

- 40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 894 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 45 (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 50 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Treponema pallidum*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 169:

## ES 2 329 202 T3

	AATATGATCA CGGGTGCTGC GCAGATGGAC GGTGGTATTC TCGTCGTGTC TGCGCCTGAC	60
	GGCGTTATGC CACAGACGAA GGAGCATCTT CTGCTCGCCC GTCAGGTTGG TGTTCCCTCC	120
5	ATCATTGTTT TTTTGAACAA GGTGATTTG GTTGATGATC CTGAGTTGCT AGAGCTGGTG	180
	GAAGAAGAGG TCGGTGATGC GCTTGCTGGA TATGGGTTTT CGCGTGAGAC GCCTATCGTC	240
10	AAGGGGCTG CGTTTAAAGC TCTGCAGGAT GCGGCTTCCC CGGAGGATGC AGCTTGTATT	300
	GAGGAACTGC TTGCGGCCAT GGATTCCTAC TTTGAAGACC CAGTGGGTGA CGACGCAAGA	360
15	CCTTTCCTGC TCTCTATCGA GGATGTGTAC ACTATTTCTG GCGTGGTAC CGTTGTCACG	420
	GGGCGCATCG AATGTGGGGT AATTAGTCTG AATGAAGAGG TCGAGATCGT CGGGATTAAAG	480
20	CCCACTAAGA AAACAGTGGT TACTGGCATT GAGATGTTTA ATAAGTTGCT TGATCAGGGA	540
	ATTGCAGGTG ATAACGTGGG GCTGCTTTTG CGCGGGGTGG ATAAAAAGA GGTGAGCGC	600
	GGTCAGGTGC TTTCTAAGCC CGGTTCTATT AAGCCACACA CCAAGTTTGA GGCGCAGATC	660
25	TACGTGCTCT CTAAGGAAGA GGGTGCCCGT CACAGTCCTT TTTTCAAGG TTATCGTCCG	720
	CAGTTTTATT TTAGAACTAC TGACATTACC GGTACGATTT CTCTTCCTGA AGGGGTAGAC	780
30	ATGGTGAAGC CGGGGGATAA CACCAAGATT ATAGGTGAGC TCATCCACCC GATAGCTATG	840
	GACAAGGGTC TGAAGCTTGC GATTCGTGAA GGGGGGCGCA CTATTGCTTC TGGT	894

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 170:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 891 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Ureaplasma urealyticum*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 170:

## ES 2 329 202 T3

	AATATGATTA CAGGGGCAGC ACAAATGGAT GGAGCAATTT TAGTTATTGC TGCATCTGAT	60
5	GGGGTTATGG CTCAAACATA AGAACATATT TTATTAGCAC GTCAAGTTGG TGTTCACAAA	120
	ATCGTTGTTT TCTTAAACAA ATGTGATTTT ATGACAGATC CAGATATGCA AGATCTTGTT	180
	GAAATGGAAG TTCGTGAATT ATTATCTAAA TATGGATTTG ATGGCGATAA CACACCAGTT	240
10	ATTCGTGGTT CAGGTCTTAA GGCTTTAGAA GGAGATCCAG TTTGAGAAGC AAAAATTGAT	300
	GAATTAATGG ACGCAGTTGA TTCATGAATT CCATTACCAG AACGTAGTAC TGACAAACCA	360
15	TTCTTATTAG CAATTGAAGA TGTATTACAA ATTTACAGAC GTGGTACAGT AGTAACTGGA	420
	CGTGTTGAAC GTGGTGTATT AAAAGTTAAT GATGAGGTTG AAATTGTTGG TCTAAAAGAC	480
20	ACTCAAAAAA CTGTTGTTAC AGGAATTGAA ATGTTTAGAA AATCATTAGA TCAAGCTGAA	540
	GCTGGTGATA ATGCTGGTAT TTTATTACGT GGTATTAAAA AAGAAGATGT TGAACGTGGT	600
25	CAAGTACTTG TAAAACCAGG ATCAATTAAA CCTCACCGTA CTTTTACTGC TAAAGTTTAT	660
	ATTCTTAAAA AAGAAGAAGG TGGACGTCAT ACACCTATTG TTTCAGGATA CCGTCCACAA	720
30	TTCTATTTTA GAACAACAGA TGTAACAGGT GCTATTTTCAT TACCTGCTGG TGTTGATTTG	780
	GTTATGCCAG GTGATGACGT TGAAATGACT GTAGAATTAA TTGCTCCAGT TGCATTTGAA	840
	GATGGATCTA AATTCTCAAT CCGTGAAGGT GGTAAAACTG TAGGTCATGG T	891

### (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 171:

#### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 909 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

#### (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

#### (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Wolinella succinogenes*

#### (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 171:



# ES 2 329 202 T3

	AACATGATTA CAGGTGCTGC TCAAATGGAT GGC GCGATTTC TTGTTGTTTC TGCGGCGGAT	60
5	GGCCCCATGC CCCAACTAG GGAGCACATT CTTCTTTCTC GACAAGTAGG CGTTCCTTAC	120
	ATCGTGGTTT TCTTGAACAA AGAAGATATG GTTGATGACG CTGAGCTTCT TGAGCTTGTT	180
	GAAATGGAAG TTAGAGAACT TCTTAGCAAC TACGACTTCC CTGGAGATGA CACTCCTATC	240
10	GTTGCAGGTT CCGCTCTTAA AGCTCTTGAA GAGGCTAACG ACCAGGAAAA TGTTGGCGAG	300
	TGGGCGGAGA AAGTATTGAA GCTTATGGCT GAGGTTGACC GATATATTCC TACGCCTGAG	360
15	CGAGATGTGG ATAAGCCTTT CTTATGCCT GTTGAAGACG TATTCTCCAT CGCGGGTCGT	420
	GGAACCGTTG TGACAGGAAG AATTGAAAGA GCGTGTTA AAGTCGGTGA CGAAGTAGAA	480
20	ATCGTTGGTA TCCGAAACAC AAAAAAACA ACCGTAAGT GCGTTGAGAT GTTCCGAAAA	540
	GAGCTCGACA AGGGTGAGGC GGGTGACAAC GTTGGTGTTC TTTTGAGAGG CACCAAGAAA	600
	GAAGATGTTG AGAGAGGTAT GGTTCCTTGT AAAATAGGTT CTATCACTCC TCACACTAAC	660
25	TTTGAAGGTG AAGTTTACGT TCTTTCCAAA GAGGAAGGCG GACGACACAC TCCATTCTTC	720
	AATGGATACC GACCTCAGTT CTATGTTAGA ACTACAGACG TTACCGGTTT TATCTCTCTT	780
30	CCTGAGGGCG TAGAGATGGT TATGCCTGGT GACAACGTTA AGATCAATGT TGAGCTTATC	840
	GCTCCTGTAG CCCTCGAAGA GGGAACACGA TTCGCGATCC GTGAAGGTGG TCGAACCGTT	900
35	GGTGCGGGT	909

## (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 172:

- 40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 26 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 45 (C) CADENA: simple
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 50 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
  - (B) POSICIÓN: 6
  - 55 (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"
- (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
  - 60 (B) POSICIÓN: 12
  - (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"
- (ix) CARACTERÍSTICA:
- 65 (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
  - (B) POSICIÓN: 18
  - (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

## ES 2 329 202 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 172:

TARTCNGTRA ANGCYTCNAC RCACAT

26

5

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 173:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

10

(A) LONGITUD: 21 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

15

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 173:

20

TCTTTAGCAG AACAGGATGA A

21

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 174:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

25

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

30

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 174:

35

GAATAATTCC ATATCCTCCG

20

40

45

50

55

60

65