



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**

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

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

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

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

(74) Agente: **Aznárez Urbieta, 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 5 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.) 15 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 20 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 25 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 30 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 35 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™, Uriscreen™ y otros) con

## ES 2 329 202 T3

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).

5

### *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 10 (de Becton Dickinson) y el sistema BacTAlert (de Organon Teknica 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 nutريente. 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% 15 (tabla 3).

20

### *Otras muestras clínicas*

Al recibirse en el laboratorio clínico de microbiología, todos los fluidos corporales que no son ni sangre ni orina y 25 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 30 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 35 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*

40 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 45 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 50 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*

55

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 60 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.

65 *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 5 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 10 (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 15 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 20 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 30 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 géneros 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 35 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 40 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, 45 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. 50 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 nuestros perfiles de resistencia. Además de esto, también son deseables 55 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 60 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.

## ES 2 329 202 T3

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.

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

15 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*.

20 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>*, *blaZ*, *aadB*, *aacC1*, *aacC2*, *aacC3*, *aacA4*, *aac6'-Ila*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *mecA*, *vanA*, *vanB*, *vanC*, *sat4*, *aac(6')-aph(2")*, *aad(6')*, *vat*, *vga*, *msrA*, *sul* e *int*.

25 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.

30 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.

35 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.

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

45 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.

50 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.

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

## ES 2 329 202 T3

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.

5 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 10 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.).

15 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 20 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 25 detección de los 26 genes de resistencia a los antibióticos clínicamente relevantes arriba mencionados.

25 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, 4<sup>a</sup> 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 30 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 35 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 40 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*

45 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 NO s: 109 y 172, que amplifican una porción 50 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, 2<sup>a</sup> 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 55 ID NO s: 107 y 108 podrían utilizarse para amplificar los genes *tuf* de cualquier especie bacteriana. Los cebadores de amplificación SEQ ID NO s: 109 y 172 podrían utilizarse para amplificar los genes *tuf* de cualquier especie fúngica.

60 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 desnaturización, 1 minuto a 30-50°C para la etapa de emparejamiento y 1 minuto a 72°C para 65 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

# ES 2 329 202 T3

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 dideoxinucleótido 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, confirmado 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 delecciones 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 delecciones 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 delecciones.

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  $\mu\text{l}$  de la suspensión bacteriana normalizada directamente a 19  $\mu\text{l}$  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, 1,2  $\mu\text{M}$  de sólo uno de los 20 cebadores de AP-PCR OPAD diferentes, 200  $\mu\text{M}$  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 desnaturización, 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

## ES 2 329 202 T3

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.

10 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* DH5 $\alpha$  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.

- 15 20 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 didesoxinucleótido 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

45 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.).

55 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 lisis 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 ribosomal 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

## ES 2 329 202 T3

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 5 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 10 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 15 en los cultivos microbianos.

Es evidente que pueden utilizarse otros métodos para la detección de productos de amplificación específica, que 20 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 Bio-tronics). 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 25 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 cualesquier productos de amplificación de DNA específicos de especie o específicos de género objeto de la presente invención. Como alternativa, las sondas internas para la 30 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 cualesquier otras moléculas reporter.

Para asegurar la eficacia de la PCR puede utilizarse glicerol, dimetilsulfóxido (DMSO) u otros disolventes afines, 35 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 40 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 45 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 seleccionadas incluidos(as) en este documento.

### 55 *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  $\gamma$ -<sup>32</sup>P (dATP) utilizando T4 polinucleótido-quinasa (Pharmacia) (Sambrook y col., 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2<sup>a</sup> 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 60 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.

## ES 2 329 202 T3

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, 2<sup>a</sup> 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, 2<sup>a</sup> 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. flavescentis*, *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. flavaescens*, *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.*

## ES 2 329 202 T3

*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.

5 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 10 de la invención.

15 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).

### 20 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 25 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 30 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 35 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 40 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 45 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 50 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.

### 55 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 60 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 65 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 desapareamiento. La inclusión de inosina y/o de degeneraciones en los cebadores de amplificación permite una tolerancia de desapareamiento, 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 morbillorum*, *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 desapareamiento. La inclusión de inosina y/o degeneraciones en los cebadores de amplificación permite una tolerancia de desapareamiento, 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 muestra en el anexo I, los cebadores seleccionados contienen diversas inosinas y degeneraciones. Esto era necesario 15 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 delecciones 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 35 se conservan dentro del género diana pero que discriminan secuencias de otros géneros estrechamente relacionados, 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 50 seleccionar uno de estos dos pares de cebadores PCR. Para seleccionar el otro par de cebadores se utilizó la misma 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.

**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 65 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 otras especies de *Candida* estrechamente relacionadas y otras especies fúngicas, haciendo así posible la detección y

## ES 2 329 202 T3

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.

5

### Ejemplo 4

(Comparativo)

#### 10 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 20 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).

#### 25 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 30 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 35 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

40 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.

45

### Ejemplo 6

#### Marcado de oligonucleótidos para ensayos de hibridación

50 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.

#### 55 Ensayo de especificidad para sondas de oligonucleótido

Todas las sondas de oligonucleótido marcadas se analizaron en cuanto a su especificidad mediante hibridación 60 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 65 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

15 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*

25 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.

40 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 estandar McFarland de 0,5 (que corresponde a aproximadamente 1,5 x 50 10<sup>8</sup> 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 µl 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, 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.). Para la suspensión bacteriana se añadió 1 µl de la suspensión celular a 19 µl de la misma mezcla de reacción PCR. Para la identificación a partir de cultivos de levaduras se añadió directamente a la reacción PCR 1 µl de un estandar McFarland 1,0 (que corresponde a aproximadamente 3,0 x 10<sup>8</sup> 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. Despues 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 µg/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.

### 10 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<sub>2</sub> 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.

### 25 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™, Diogene 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

## ES 2 329 202 T3

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.

5 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.

20 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.

30 35 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>*, *blaZ*, *aadB*, *aacC1*, *aacC2*, *aacC3*, *aacA4*, *aac6'-Ia*, *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.

55 Ejemplo 17  
60 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

## ES 2 329 202 T3

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.

- 5 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.
- 10

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.

15

### Ejemplo 18

20 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, 25 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.

30

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

ES 2 329 202 T3

<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>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

40 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	
<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

## ES 2 329 202 T3

Organismo	Quebec <sup>1</sup>	Canadá <sup>2</sup>	RU <sup>3</sup>		EEUU <sup>4</sup>
			de origen comunitario	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
Esputo	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 baumannii</i>	1	<i>Moraxella phenylpyruvica</i>	1
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	3	<i>Morganella morganii</i>	1
<i>Actinobacillus lignieresii</i>	1	<i>Neisseria animalis</i>	1
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1	<i>Neisseria canis</i>	1
<i>Alcaligenes odorans</i>	1	<i>Neisseria caviae</i>	1
<i>Alcaligenes xylosoxydans</i>		<i>Neisseria cinerea</i>	1
subesp. <i>denitriticans</i>	1	<i>Neisseria cuniculi</i>	1
<i>Bacteroides distasonis</i>	1	<i>Neisseria elongata</i>	1
		subesp. <i>elongata</i>	

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>
<i>Bacteroides fragilis</i>	1	<i>Neisseria elongata</i> subesp. <i>glycoytica</i>	1
<i>Bacteroides ovatus</i>	1	<i>Neisseria</i> <i>flavescens</i>	1
<i>Bacteroides</i>	1	<i>Neisseria</i> <i>flavescens</i>	1
<i>thetaiotaomicron</i>		<i>Branham</i>	
<i>Bacteroides</i>	1	<i>Neisseria</i>	18
<i>vulgatus</i>		<i>gonorrhoeae</i>	
<i>Bordetella</i>	1	<i>Neisseria lactamica</i>	1
<i>bronchiseptica</i>			
<i>Bordetella</i>	1	<i>Neisseria</i>	4
<i>parapertussis</i>		<i>meningitidis</i>	
<i>Bordetella pertussis</i>	2	<i>Neisseria mucosa</i>	2
<i>Burkholderia</i>	1	<i>Neisseria</i>	1
<i>cepacia</i>		<i>polysaccharea</i>	
<i>Citrobacter</i>	1	<i>Neisseria sicca</i>	3
<i>amalonaticus</i>			
<i>Citrobacter diversus</i>	2	<i>Neisseria subflava</i>	3
subesp. <i>koseri</i>			
<i>Citrobacter freundii</i>	1	<i>Neisseria weaveri</i>	1
<i>Comamonas</i>	1	<i>Ochrobactrum</i>	1
<i>acidovorans</i>		<i>antropi</i>	
<i>Enterobacter</i>	1	<i>Pasteurella</i>	1
<i>aerogenes</i>		<i>aerogenes</i>	
<i>Enterobacter</i>	1	<i>Pasteurella</i>	1
<i>agglomerans</i>		<i>multocida</i>	
<i>Enterobacter</i>	1	<i>Prevotella</i>	1
<i>cloacae</i>		<i>melaninogenica</i>	
<i>Escherichia coli</i>	9	<i>Proteus mirabilis</i>	3
<i>Escherichia</i>	1	<i>Proteus vulgaris</i>	1
<i>ergusonii</i>			
<i>Escherichia</i>	1	<i>Providencia</i>	1

## ES 2 329 202 T3

	Species bacterianas	Nº de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>	Species 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</i>	1
			<i>rustigianii</i>	
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</i>	2
25			<i>fluorescens</i>	
	<i>necrophorum</i>			
30	<i>Gardnerella</i>	1	<i>Pseudomonas</i>	1
	<i>vaginalis</i>		<i>stutzeri</i>	
	<i>Haemophilus</i>	1	<i>Salmonella</i>	1
			<i>arizonaee</i>	
35	<i>haemolyticus</i>			
	<i>Haemophilus</i>	12	<i>Salmonella</i>	1
40	<i>influenzae</i>		<i>choleraesuis</i>	
	<i>Haemophilus</i>	1	<i>Salmonella</i>	1
			<i>gallinarum</i>	
45	<i>parahaemolyticus</i>			
	<i>Haemophilus</i>	2	<i>Salmonella</i>	3
			<i>typhimurium</i>	
50	<i>parainfluenzae</i>			
	<i>Hafnia alvei</i>	1	<i>Serratia</i>	1
			<i>liquefaciens</i>	
55	<i>Kingella</i>	1	<i>Serratia</i>	1
	<i>indologenes</i>		<i>marcescens</i>	
	<i>subesp. suttonella</i>			
60	<i>Kingella kingae</i>	1	<i>Shewanella putida</i>	1
	<i>Klebsiella</i>	1	<i>Shigella boydii</i>	1
	<i>ornithinolytica</i>			
65	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	<i>Shigella</i>	1

ES 2 329 202 T3

	5 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>	
10	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	<i>Shigella flexneri</i>	1
15	<i>Moraxella atlantae</i>	1	<i>Shigella sonnei</i>	1
20	<i>Moraxella catarrhalis</i>	5	<i>Stenotrophomonas</i>	1
			<i>malophilia</i>	
25	<i>Moraxella lacunata</i>	1	<i>Yersinia enterocolitica</i>	1
30	<i>Moraxella osloensis</i>	1		
35				

<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

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

	45 Especies bacterianas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>	Especies bacterianas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>
50	<i>Abiotrophia adiacens</i>	1	<i>Micrococcus kristinae</i>	1
55	<i>Abiotrophia defectiva</i>	1	<i>Micrococcus luteus</i>	1
60	<i>Actinomyces israelii</i>	1	<i>Micrococcus lylae</i>	1
65	<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 bovis</i>	1	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1
15	<i>Corynebacterium cervicis</i>	1	<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>	1
20	<i>Corynebacterium diphтерiae</i>	6	<i>Staphylococcus aureus</i>	10
25	<i>Corynebacterium flavescens</i>	1	<i>Staphylococcus auricularis</i>	1
30	<i>Corynebacterium genitalium</i>	6	<i>Staphylococcus capitis</i>	1
			<i>subesp. urealyticus</i>	
35	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	1	<i>Staphylococcus cohnii</i>	1
	<i>Corynebacterium kutcheri</i>	1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2
40	<i>Corynebacterium matruchotii</i>	1	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2
	<i>Corynebacterium minutissimum</i>	1	<i>Staphylococcus hominis</i>	2
45	<i>Corynebacterium mycetoides</i>	1	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1
	<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	1	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3
50	<i>Corynebacterium pseudogenitalium</i>	6	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	1
	<i>Corynebacterium renale</i>	1	<i>Staphylococcus sciuri</i>	1
55	<i>Corynebacterium striatum</i>	1	<i>Staphylococcus simulans</i>	1
	<i>Corynebacterium ulcerans</i>	1	<i>Staphylococcus warneri</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>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 flavescentis</i>	1	Grupo C	1
60	<i>Enterococcus gallinarum</i>	3	<i>Streptococci</i>	1
65	<i>Enterococcus hirae</i>	1	Grupo D	1
			Grupo E	1
			<i>Streptococci</i>	1
			Grupo F	1
	<i>Enterococcus mundtii</i>	1	<i>Streptococci</i>	1
	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	1	Grupo G	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

5	Especies bacterianas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>	Especies bacterianas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>
10	<i>Enterococcus solitarius</i>	1	<i>Streptococcus mutans</i>	1
15	<i>Eubacterium lendum</i>	1	<i>Streptococcus oralis</i>	1
20	<i>Gemella haemolysans</i>	1	<i>Streptococcus parasanguis</i>	1
25	<i>Gemella morbillorum</i>	1	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6
30	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1	<i>Streptococcus pyogenes</i>	3
35	<i>Listeria innocua</i>	1	<i>Streptococcus salivarius</i>	2
40	<i>Listeria ivanovii</i>	1	<i>Streptococcus sanguis</i>	2
45	<i>Listeria grayi</i>	1	<i>Streptococcus sobrinus</i>	1
50	<i>Listeria monocytogenes</i>	3	<i>Streptococcus suis</i>	1
55	<i>Listeria murrayi</i>	1	<i>Streptococcus uberis</i>	1
60	<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).

## ES 2 329 202 T3

TABLA 6

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

	5	Especies fúngicas	Número de cepas de referencia analizadas <sup>a</sup>
10		<i>Candida albicans</i>	12
		<i>Candida glabrata</i>	1
15		<i>Candida guilliermondii</i>	1
		<i>Candida kefyr</i>	3
20		<i>Candida krusei</i>	2
		<i>Candida lusitaniae</i>	1
25		<i>Candida parapsilosis</i>	2
		<i>Candida tropicalis</i>	3
30		<i>Rhodotorula glutinis</i>	1
		<i>Rhodotorula minuta</i>	1
		<i>Rhodotorula rubra</i>	1
35		<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

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

## ES 2 329 202 T3

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>g</sup>	21-22	153	210/214 <sup>g</sup>	+	+
Detección universal <sup>h</sup> (95 especies) <sup>i</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

## ES 2 329 202 T3

TABLA 9

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

Genes	SEQ ID NO		Antibioticos	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>blaZ</i>	51-52	111	β-lactamas	<i>Enterococcus</i> spp.
<i>aac6'-Ila</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	Antibioticos	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,

## ES 2 329 202 T3

	Genes	SEQ ID NO de cebadores seleccionados	Antibióticos	Bacterias <sup>a</sup>
5				<i>Enterobacteriaceae</i>
10	<i>aadB</i>	53-54	Aminoglucósidos	<i>Enterobacteriaceae,</i>
	<i>aacC1</i>	55-56		<i>Pseudomonadaceae</i>
	<i>aacC2</i>	57-58		
15	<i>aacC3</i>	59-60		
	<i>aacA4</i>	65-66		
	<i>mecA</i>	97-98	β-lactamas	<i>Staphylococcus</i> spp.
20	<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.,
25				<i>Staphylococcus</i> spp.
	<i>vat</i>	87-88	Macrólidos	<i>Staphylococcus</i> spp.
	<i>vga</i>	89-90	Macrólidos	<i>Staphylococcus</i> spp.
30	<i>msrA</i>	77-80	Eritromicina	<i>Staphylococcus</i> spp.,
	<i>int</i>	99-102	β-lactamas, trimetoprim,	<i>Enterobacteriaceae</i>
35	<i>sul</i>	103-106	aminoglucósidos, antiséptico, cloramfenicol	<i>Pseudomonadaceae</i>
40				

<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

50 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
55	Penicilina	<i>blaZ</i>	+	165	0	0
			-	0	0	31
60	Oxacilina	<i>mecA</i>	+	51	11	4
			-	2	0	128
65	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. capititis* (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).

## ES 2 329 202 T3

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

## ES 2 329 202 T3

SEQ ID NO	Especies bacterianas o fúngicas	Fuente
5	<b>150</b> <i>Borrelia burgdorferi</i>	Base de datos
10	<b>151</b> <i>Brevibacterium linens</i>	Base de datos
15	<b>152</b> <i>Burkholderia cepacia</i>	Base de datos
20	<b>153</b> <i>Chlamydia trachomatis</i>	Base de datos
25	<b>154</b> <i>Escherichia coli</i>	Base de datos
30	<b>155</b> <i>Fibrobacter succinogenes</i>	Base de datos
35	<b>156</b> <i>Flavobacterium ferrugineum</i>	Base de datos
40	<b>157</b> <i>Haemophilus influenzae</i>	Base de datos
45	<b>158</b> <i>Helicobacter pylori</i>	Base de datos
50	<b>159</b> <i>Micrococcus luteus</i>	Base de datos
55	<b>160</b> <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Base de datos
60	<b>161</b> <i>Mycoplasma genitalium</i>	Base de datos
65	<b>162</b> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Base de datos
	<b>163</b> <i>Rickettsia prowazekii</i>	Base de datos
	<b>164</b> <i>Salmonella typhimurium</i>	Base de datos
	<b>165</b> <i>Shewanella putida</i>	Base de datos
	<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
	<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*

		491	517...776	802	SEQ ID NO
5	<i>Abiotrophia adiacens</i>	<b>CAACTGTAAC</b>	<b>TGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCCTGGT</b>		118
			<b>GATAACGTA</b>		
10	<i>Abiotrophia defectiva</i>	<b>CTACCGTTAC</b>	<b>CGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCAGGC</b>		119
			<b>GACAACGTC</b>		
	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<b>CGACTGTTAC</b>	<b>CGGCGTTGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCCTGGC</b>		147
			<b>GACAACGTC</b>		
15	<i>Bacillus subtilis</i>	<b>CAACTGTTAC</b>	<b>AGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCCTGGA</b>		148
			<b>GATAACACTG</b>		
	<i>Bacteroides fragilis</i>	<b>CAGTTGTAAC</b>	<b>AGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCGGGT</b>		149
			<b>GATAACGTA</b>		
20	<i>Borrelia burgdorferi</i>	<b>CTACTGTTAC</b>	<b>TGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCCTGGT</b>		150
			<b>GATAATGTT</b>		
	<i>Brevibacterium linens</i>	<b>CGACTGTCAC</b>	<b>CGCTATCGAG ATGTTCC...AGATGGT</b>		151
			<b>CATGCCCGGC GACACCACCG</b>		
25	<i>Burkholderia cepacia</i>	<b>CGACCTGCAC</b>	<b>GGGC GTTGAA ATGTTCC...AAATGGT</b>		152
			<b>CATGCCGGGC GACAACGTTG</b>		
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<b>CGATTGTTAC</b>	<b>TGGGGTTGAA ATGTTCA...AGATGGT CATGCCCTGGG</b>		153
			<b>GATAACGTT</b>		
30	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<b>CCACCGTTAC</b>	<b>CGGTATCGAG ATGTTCC...AGATGGT CATGCCCTGGC</b>		126
			<b>GACAACGTC</b>		
	<i>Corynebacterium genitalium</i>	<b>CCACCGTTAC</b>	<b>CTCCATCGAG ATGTTCA...AGATGGT TATGCCGGGC</b>		127
			<b>GACAACGTT</b>		
35	<i>Corynebacterium jeikeium</i>	<b>CCACCGTTAC</b>	<b>CTCCATCGAG ATGTTCA...AGATGGT TATGCCGGGC</b>		128
			<b>GACAACGTT</b>		
	<i>Enterococcus faecalis</i>	<b>CAACYGTTAC</b>	<b>AGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCCTGGT</b>		132
			<b>GATAACGTT</b>		
	<i>Enterococcus faecium</i>	<b>CAACAGTTAC</b>	<b>TGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT CATGCCCGGT</b>		133
			<b>GACAACGT..</b>		
40	<i>Escherichia coli</i>	<b>CTACCTGTAC</b>	<b>TGGCGTTGAA ATGTTCC...AGATGGT AATGCCGGGC</b>		154
			<b>GACAACATCA</b>		
	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	<b>ACGT CATCAC</b>	<b>CGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT TACTCCGGGT</b>		155
			<b>GACACGGTC</b>		
45	<i>Flavobacterium ferrugineum</i>	<b>CTACCGTTAC</b>	<b>AGGTGTGAG ATGTTCC...AAATGGT TATGCCCTGGT</b>		156
			<b>GATAACACCA</b>		
	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<b>CCACCGTCAC</b>	<b>CTCTATCGAG ACCTTCC...AAATGGT CAGCCAGGC</b>		135
			<b>GATCACGCAA</b>		
50	<i>Haemophilus influenzae</i>	<b>CTACTGTAAC</b>	<b>GGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCAGGC</b>		157
			<b>GATAACATCA</b>		
	<i>Helicobacter pylori</i>	<b>CGACTGTAAC</b>	<b>CGGTGTAGAA ATGTTA...AAATGGT TATGCCCTGGC</b>		158
			<b>GATAATGTGA</b>		
55	<i>Listeria monocytogenes</i>	<b>TAGTAGTAAC</b>	<b>TGGAGTAGAA ATGTTCC...AAATGGT AAYGCCCTGGT</b>		138
			<b>GATAACATTG</b>		
	<i>Micrococcus luteus</i>	<b>CCACTGTCAC</b>	<b>CGGCATCGAG ATGTTCC...AGATGGT</b>		159
			<b>CATGCCCGGC GACAACACCG</b>		
60	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<b>CCACCGTCAC</b>	<b>CGGTGTGGAG ATGTTCC...AGATGGT</b>		160
			<b>GATGCCCGGT GACAACACCA</b>		
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<b>CAGTTGTTAC</b>	<b>TGGAATTGAA ATGTTCA...AAATGGT TCTACCTGGT</b>		161
			<b>GATAATGCTT</b>		

ES 2 329 202 T3

		491	517...776	802	SEQ ID NO
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<b>CCACCTGTACC CGGCGTTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCGGGT</b>	<b>GAGAACGTAA</b>	162	
5	<i>Rickettsia prowazekii</i>	<b>CGACTTGTAC AGGTGTAGAA ATGTTCA...AGATGGT TATGCCTGGA</b>	<b>GATAATGCTA</b>	163	
	<i>Salmonella typhimurium</i>	<b>CTACCTGTACT TGGCGTTGAA ATGTTCC...AGATGGT AATGCCGGGC</b>	<b>GACAACATCA</b>	164	
10	<i>Shewanella putida</i>	<b>CAACGTGTACT TGGGTAGAA ATGTTCC...AGATGGT AATGCCAGGC</b>	<b>GATAACATCA</b>	165	
	<i>stigmatella aurantiaca</i>	<b>CGGT CATCAC GGGGGTGGAG ATGTTCC...AGATGGT</b>	<b>GATGCCGGGA GACAACATCG</b>	166	
15	<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>CAACTGTTAC AGGTGTTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCTGGT</b>	<b>GATAACGTG</b>	140	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<b>CAACTGTTAC TGGTGTAGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCTGGC</b>	<b>GACAACGTTG</b>	141	
20	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<b>CAGTTGTTAC TGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCTGGT</b>	<b>GATAACGTTA</b>	144	
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<b>CAGTTGTTAC TGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT AATGCCTGGT</b>	<b>GATAACGTGA</b>	145	
25	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<b>CTGTTGTTAC TGGTGTGAA ATGTTCC...AAATGGT TATGCCTGGT</b>	<b>GATAACGTGA</b>	167	
	<i>Thiobacillus cuprinus</i>	<b>CCACCTGCAC CGGCGTGGAA ATGTTCA...AAATGGT</b>	<b>CATGCCCGC GATAATGTGA</b>	168	
30	<i>Treponema pallidum</i>	<b>CAGTGGTTACT TGGCATTGAGATGTTA...ACATGGT GAAGCCGGGG</b>	<b>GATAACACCA</b>	169	
	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	<b>CTGTTGTTAC AGGAATTGAA ATGTTA...ATTTGGT TATGCCAGGT</b>	<b>GATGACGTTG</b>	170	
35	<i>wolinella succinogenes</i>	<b>CAACCGTAAC TGGCGTTGAG ATGTTCC...AGATGGT TATGCCTGGT</b>	<b>GACAACGTTA</b>	171	
	<i>Candida albicans</i>	<b>GTTTACCACTGAAGTCAARTCCGTTG...AGRAATT GGAAGAAAAT</b>	<b>CCAAAATTG</b>	120	
40	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	<b>GTGTCACTASCGAAGTCAAGTCTGTTG...AGAAGATTGAGGAGTCC</b>	<b>CCTAAGTTG</b>		
	Human	<b>TGACAGGCATTGAGATGTTTC CACAAGA...AGAAGGAGCTTGCCATG</b>	<b>CCCGGGAGG</b>		
	Secuencias seleccionadas	<b>ACIKKIAC IGGIGTICAR ATGTT</b>	<b>ATGGT IATSCCIGCI GAIAAYRT</b>		
45	Secuencias de cebador	SEQ ID NO:23 <b>ACIKKIAC IGGIGTIGAR ATGTT</b>	SEQ ID NO: 24 <sup>b</sup> <b>AYRTT ITCICCIGGC ATIACCAT</b>		

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 AAAAAC</u> CATT CATGATGCCA GTTGA...CGCGG ACAAG <u>TAAA GTCGGTGACG AAGTT</u> GAAAT				148
10	<i>Bacteroides fragilis</i>	CGCG <u>ATTTG ATAAAC</u> CTTT CTTGATGCCG GTAGA...ACTGG TGTT <u>ATCCAT GTAGGTGATG AAATCGAA</u> AT				149
	<i>Burkholderia cepacia</i>	CGTG <u>CAGTT ACGGCG</u> GT CCTGATGCCG GTGGA...CGCGG CAT <u>CGTGAAG GTCGGC</u> GAAG AAATCGAAAT				152
15	<i>Chlamydia trachomatis</i>	AGAG <u>AATTG ACAAGC</u> CTTT CTTAATGCC ATTGA...CGTGG AATT <u>GTTAAA GTTCCCATA AAGTTC</u> CAGTT				153
	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	CGTG <u>GACCG ACAAGC</u> CATT CCTCATGCC ATCGA...CGTGG CTCC <u>CTGAAG GTCAACGAGG ACGTCGAG</u> AT				126
20	<i>Enterococcus avium</i>	CGTG <u>ATACTG ACAAA</u> CCATT CATGATGCCA GTCGA...CGTGG ACAAG <u>TTCGC GTTGGT</u> GACG AAGTTGAAAT				131
	<i>Enterococcus faecalis</i>	CGTG <u>ATACTG ACAAA</u> CCATT CATGATGCCA GTCGA...CGTGG TGAAG <u>TTCGC GTTGGT</u> GACG AAGTTGAAAT				132
25	<i>Enterococcus faecium</i>	CGTG <u>ACAACG ACAAA</u> CCATT CATGATGCCA GTTGA...CGTGG ACAAG <u>TTCGC GTTGGT</u> GACG AAGTTGAAAT				133
	<i>Enterococcus gallinarum</i>	CGTG <u>TACTG ACAAA</u> CCATT CATGATGCCA GTCGA...CGTGG ACAAG <u>TTCGC GTTGGT</u> GATG AAGTAGAAAT				134
	<i>Escherichia coli</i>	CGTG <u>CGATTG ACAAGC</u> CGT CCTGCTGCCG ATCGA...CGCGG TAT <u>CATCAA GTTGGTOAAG AAGTT</u> GAAAT				154
30	<i>Gardnerella vaginalis</i>	CACG <u>ATTTG ACAAGC</u> CATT CTTGATGCCA ATCGA...CGTGG TAAG <u>CTCCA ATCAACACCC CAGTT</u> GAGAT				135
	<i>Haemophilus influenzae</i>	CGTG <u>CGATTG ACCAAC</u> CGT CCTTCTCCA ATCGA...CGAGG TATT <u>ATCCGT ACAGGTGATG AAGTAGAA</u> AT				157
35	<i>Helicobacter pylori</i>	AGAG <u>ACACTG AAAAAC</u> CTTT CTTGATGCCG GTTGA...AGAGG CGT <u>GGTAAA GTAGGC</u> GATG AAGTAGGAAAT				158
	<i>Listeria monocytogenes</i>	CGTG <u>ATACTG ACAAA</u> CCATT CATGATGCCA GTTGA...CGTGG ACAAG <u>TTAAA GTTGGT</u> GACG AAGTAGAAAT				138
40	<i>Micrococcus luteus</i>	CGCG <u>ACAAGG ACAAGC</u> CGT CCTGATGCCG ATCGA...CGCGG CAC <u>CTGAAG ATCAACTCCG AGGTCGAG</u> AT				159
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	CGCG <u>GACCG ACAAGC</u> CGT CCTGATGCCG GTCGA...CGCGG CGT <u>GATCAAC GTAACGAGG AAGTTGAG</u> AT				160
45	<i>Mycoplasma genitalium</i>	CGT <u>GAAGTAG ATAAAC</u> CTTT CTTATTAGCA ATTGA...AGAGG TGA <u>ACTCAA GTAGGTCAAG AAGTTGAA</u> AT				161
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CGT <u>GCCGTGG ACAAA</u> CCATT CCTGCTGCC ATCGA...CGAGG TAT <u>CATCCAC GTTGGT</u> GACG AGATTGAAAT				162
	<i>Salmonella typhimurium</i>	CGTG <u>CGATTG ACAAGC</u> CGT CCTGCTGCC ATCGA...CGCGG TAT <u>CATCAA GTGGGC</u> GAAG AAGTTGAAAT				164
50	<i>Shewanella putida</i>	CGTG <u>ACATCG ATAAGC</u> CGT CCTACTGCC ATCGA...CGTGG TATT <u>TACGC GTAGGC</u> GACG AAGTTGAAAT				165
	<i>Staphylococcus aureus</i>	CGT <u>TTCTG ACAAA</u> CCATT CATGATGCCA GTTGA...CGTGG TCA <u>AAATCAA GTTGGT</u> GAAG AAGTTGAAAT				140
55	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	CGT <u>GATTGT ACAAA</u> CCATT CATGATGCCA GTTGA...CGTGG TCA <u>AAATCAA GTWGGT</u> GAAG AAGTTGAAAT				141
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	CGT <u>GATTCTG ACAAA</u> CCATT CATGATGCCA GTTGA...CGTGG TCA <u>AAATCAA GTCGGT</u> GAAG AAATCGARAT				142
60	<i>Streptococcus agalactiae</i>	CGTG <u>ATACTG ACAAA</u> CCATT ACTTCTCCA GTTGA...CGTGG TACT <u>GTTCGT GTCAACGACG AAGTTCAA</u> AT				144
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CGTG <u>ACACTG ACAAA</u> CCATT GCTTCTCCA GTCGA...CGTGG TAT <u>GTTAAA GTCAACGACG AAATCGAA</u> AT				145
65	<i>Streptococcus pyogenes</i>	CGCG <u>ACACTG ACAAA</u> CCATT GCTTCTCCA GTCGA...CGTGG TACT <u>GTTCGT GTCAACGACG AAATCGAA</u> AT				167

## ES 2 329 202 T3

	314	348	401	435	SEQ ID NO
5	<i>Ureaplasma</i> urealyticum	CGTAG <u>TACTG</u> <b>ACAAACCATT</b> CTTATTAGCA ATTGA...CGTGG			170
10	Secuencias selecciona	TGTATTAAAA <b>GTTAATGATG</b> AGGTTGAAAT			
15	Secuencias de cebador específico de género	<b>TACTG</b> <b>ACAAACCATT</b> CATGATG	GTTCGC <b>GTTGGTGACG</b> AAGTT	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 14 <sup>a</sup>
20				.CTG <b>ACAAACCATT</b> CATGATG	AACTTC GTCACCAACCG CGAAC

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.

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

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.

30

35

40

45

50

55

60

65

# 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>	TGCCGTGTA <u>GAACGC</u> <u>GGAC</u> <u>AAGTAA</u> AGT CGG.....TTG CTAAACC <u>AGG</u> <u>TACAATCA</u> CT CCACACAGCA <u>TGGCGTGT</u> <u>GAACGC</u> <u>GGAC</u>	AAGTAAAGT CGG.....TTG CTAAACC <u>AGG</u> <u>TACAATCA</u> CT CCACACAGCA	148	
15	<i>Bacteroides fragilis</i>	AGGTCGTATC <u>GAAA</u> CTGGTG TTATCCATGT AGG.....TTT GTAAACC <u>GGG</u> <u>TCAGATTAAA</u> CCTCACTCTA	149		
15	<i>Burkholderia cepacia</i>	GGGTCGTGTC <u>GAGCG</u> <u>CGGC</u> <u>TCGT</u> GAAGGT CGG.....TGG CGAAC <u>CCGGG</u> <u>TTCG</u> ATCAC <u>CCGC</u> ACAC <u>GC</u>	152		
15	<i>Chlamydia trachomatis</i>	TGGACGTATT <u>GAGCG</u> <u>TGGAA</u> TTG <u>TTAA</u> AGT TTC.....TTT GCTTG <u>CCAAA</u> <u>CAGTGTAAA</u> CCTCATACAC	153		
20	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	CGGCCGTGTT <u>GAGCG</u> <u>TGGCT</u> CCCTGAAGGTCAA.....TTG TT <u>AAGC</u> <u>AGG</u> <u>CGCTTACACC</u> CCTCACACCG	126		
20	<i>Enterococcus faecalis</i>	AGGACGTGTT <u>GAACG</u> <u>TGGT</u> GAAG <u>TTCG</u> CGTTGG.....TAG CTAAACC <u>AGC</u> <u>TACAATCA</u> CT CCACACACAA	132		
25	<i>Enterococcus faecium</i>	AGGTCGTGTT <u>GAACG</u> <u>TGGAC</u> AAG <u>TTCG</u> CGTTGG.....TAG CTAAACC <u>AGG</u> <u>TACAATCACA</u> CCTCRTACAA	133		
25	<i>Escherichia coli</i>	CGGTCGTGTA <u>GAACG</u> <u>CGOTA</u> TCATCAAAGT TGG.....TGG CTAAC <u>CCGGG</u> ACCATCAAG <u>CCGC</u> ACACCA	154		
30	<i>Gardnerella vaginalis</i>	CGGTCGTGTT <u>GAGCG</u> <u>TGGTA</u> AG <u>CTCCC</u> AA <u>CTAA</u> .....TGG CT <u>GCTCC</u> <u>AGG</u> <u>TTCTGT</u> GACT CCACACACCA	135		
30	<i>Haemophilus influenzae</i>	AGGTCGTGTA <u>GAACG</u> <u>GAGGT</u> TT <u>ATCG</u> TACAGG.....TAG CGAAACC <u>AGG</u> <u>TTCAATCACA</u> CCACACACTG	157		
35	<i>Helicobacter pylori</i>	AGGTAGGATT <u>GAAAG</u> AGGC G TG <u>GT</u> GAAGT AGG.....TAT GCAAA <u>CCAGG</u> <u>TTCT</u> TATCACT <u>CCGC</u> ACAAGA	158		
35	<i>Listeria monocytogenes</i>	TGGACGTGTT <u>GAACG</u> <u>TGGAC</u> AAG <u>TTAA</u> AGTTGG.....TAG CTAAACC <u>AGG</u> <u>TTCGATTACT</u> CCACACACTA	138		
40	<i>Micrococcus luteus</i>	CGGTCGCGC <u>GAGCG</u> <u>CGGC</u> <u>CCCTG</u> AAGAT CAA.....TGG TGG <u>AGCCGGG</u> <u>CTCC</u> ATCAC <u>CCGC</u> ACACCA	159		
40	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	CGGACGTGTG <u>GAGCG</u> <u>CGGC</u> TGATCAACGT GAA.....TCA CCAAG <u>CCCG</u> CACCAC <u>ACG</u> <u>CCGC</u> ACACCG	160		
40	<i>Mycoplasma genitalium</i>	AGGAAGAGTT <u>GAAAG</u> AGGTG AACTCAAAGT AGG.....TAG CAAA <u>CCAGG</u> <u>CTCT</u> ATTAAA <u>CCGC</u> ACAAGA	161		

45

50

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	385	420.....579	611	SEQ ID NO
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CGGCCGTGTA GAGCGAGGTA TCATCCACGT TGG.....TGG CCAAACGGGG TACTATCACT CCTCACACCA		162
5	<i>Salmonella typhimurium</i>	CGGTCGTGTA GAGCGCGGTA TCATCAAAGT GGG.....TGG CTAAGCCGGG CACCATCAAG CCGCACACCA		164
	<i>Shewanella putida</i>	AGGTCGTGTT GAGCGTGGT ATTGTACCGTAGG.....TAG CGAAGCCAGG TTCAATCAAC CCACACACTA		165
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	AGGCCGTGTT GAACGTGGTC AAATCAAAGT TGG.....TAG CTGCTCCTGG TTCAATTACA CCACATACGT		140
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	AGGCCGTGTT GAACGTGGTC AAATCAAAGT WGG.....TAG CTGCTCCTGG TTCTATTACA CCACACACAA		141
15	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	AGGCCSTGTT GAACGTGGTC AAATCAAAGT CGG.....TAG CTGCTCCTGG TACTATCACA CCACATACAA		142
	<i>Staphylococcus simulans</i>	AGGCCGTGTT GAACGTGGTC AAATCAAAGT CGG.....TAG CAGCTCCTGG CTCTTATTACT CCACACACAA		143
20	<i>Streptococcus agalactiae</i>	AGGACGTATC GACCGTGGT ACTGTTCGTGTCAA.....TTG CTAAACCAGG TTCAATCAAC CCACACACTA		144
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	AGGACGTATC GACCGTGGT ACTGTTAAAGTCAA.....TCG CTAAACCAGG TTCAATCAAC CCACACACTA		145
	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	TGGACGTGTT GAACGTGGTG TATTAAGT TAA.....TTG TAAAACCAGG ATCAATTAAA CCTCACCGTA		170
25	Secuencias seleccionadas	CCGTGTT GAACGTGGC AAATCAAA	GCTCCTGG YWCWATYACA CCACAYA	
30	Secuencias de cebador específico de género	SEQ ID NO: 17 CCGTGTT GAACGTGGTC AAATCAA	SEQ ID NO: 18 <sup>b</sup> TRTGTGGT GTRATWGWR CAGGAGC	

35 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.

40 <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.

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

50

55

60

65

# 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*

		58	90	181	213	SEQ ID NO
5	<i>Candida albicans</i>	CGT <u>CAAGAAG GTTGGTTACA ACCCAAAGAC</u> TGT...CAA ATCCGGTAAA <u>GTTACTGGTA AGACCTTGTT</u>				120
10	<i>Candida glabrata</i>	CAT <u>CAAGAAG GTCGGTTACA ACCCAAAGAC</u> TGT...CAA GGCTGGTGC <u>GTCAAGGGTA AGAYCTGTT</u>				121
	<i>Candida krusei</i>	CAT <u>CAAGAAG GTTGGTTACA ACCCAAAGAC</u> TGT...CAA GGCAGGTGTT <u>GTTAAGGGTA AGACCTTATT</u>				122
15	<i>Candida parapsilosis</i>	CGT <u>CAAGAAG GTTGGTTACA ACCCTAAAGC</u> TGT...TAA AGCTGGTAAG <u>GTTACCGGTA AGACCTTGTT</u>				123
	<i>Candida tropicalis</i>	CGT <u>CAAGAAG GTTGGTTACA ACCCTAAAGC</u> TGT...CAA GGCTGGTAAG <u>GTTACCGGTA AGACTTTGTT</u>				124
20	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	CAT <u>CAAGAAG GTCGGTTCA ACCCCAAGACC</u> CGT...CAA GGCTGGTGC <u>GTCAAGGTAG ACTACTTTT</u>				
	Humano	GGAGATCCGG <u>GAGCTGCTCA CCGAGTTGG CTA..GTT</u> <u>AGGCCTGAAG TCTGTGCAGA AGCTACTGGA</u>				
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	GGAGCTGC <u>GAGCTGCTCA GCAAGTACGG CTT...CAA ATG .....</u> <u>TATTCTGG AGCTGATGAA</u>				153
25	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	GGAGATCCRT <u>GAGCTGCTCG CTGAGCAGGA TTA...GAA</u> GTGGACCCAG <u>TCCATCATCG ACCTCATGCA</u>				126
	<i>Enterococcus faecalis</i>	GGAAGTTCGT <u>GACTTATTAT CAGAATAACGA TTT.....TGAAGAA</u> <u>AAAATCTTAG AATTAATGGC</u>				132
30	<i>Escherichia coli</i>	GGAAGTTCGT <u>GAACTCTGT CTCAGTACGA CTT.....GGGAAGCG</u> <u>AAAATCCTGG AACTGGCTGG</u>				154
	<i>Flavobacterium ferrugineum</i>	CGAGGTTCGC <u>GAAGAACTGA CTAACCGCGG TTT.....GGGTTAAA</u> <u>GAAATTGAAUA ACCTGATGGA</u>				156
	<i>Gardnerella vaginalis</i>	AGAGGTC <u>CGT GACCTCCTCG AAGAAAACGG CTT...CAA</u> GTGGGTAGAG <u>ACCGTCAAGG AACTCATGAA</u>				135
35	<i>Haemophilus influenzae</i>	GGAAGTTCGT <u>GAACTCTAT CTCAATATGA CTT.....GGGAAGAA</u> <u>AAABTCCTTG AGTTAGCAAA</u>				157
	<i>Listeria monocytogenes</i>	GGAA <u>ATTCGT GATCTATTAA CTGAATATGA ATT.....GGGAAGCT</u> <u>AAAATTGACG AGTTATGGA</u>				138
40	<i>Micrococcus luteus</i>	GGAAGTCCGT <u>GAGTTGCTGG CTGCCAGGA ATT...CAA</u> GTGGGT <u>CGAG TCTCACAC AGTTGATGGA</u>				159
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	GGAA <u>ATCCGC GACCTGCTGT CCAGCTACGA CTT.....ACGAAGAA</u> <u>AAAATCTCG AACTGGCTAC</u>				162
45	<i>Salmonella typhimurium</i>	GGAAGTTCGC <u>GAACTGCTGT CTCAGTACGA CTT.....GGGAAGCG</u> <u>AAAATCATCG AACTGGCTGG</u>				164
	<i>Staphylococcus aureus</i>	GGAAGTTCGT <u>GACTTATTAA CGCAATATGA CTT.....CGAAGAA</u> <u>AAAATCTTAG AATTAATGGA</u>				140
50	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	GGAA <u>ATCCGT GACCTATGT CAGAATAACGA CTT.....CGAAGAC</u> ATCGTT <u>ATGG AATTGATGAA</u>				145
	<i>Treponema pallidum</i>	AGAGGT <u>CGT GATGCGCTTG CTGGATATGG GTT...GGA</u> GGATG <u>CAGCT TGTATTGAGG AACTGCTTC</u>				169
	Secuencias seleccionadas <sup>a</sup>	<u>CAAGAAG GTTGGTTACA</u> <u>ATCCGGTAAA GTACTGGTA</u> <u>ACCCAAAGA</u> <u>AGACCT</u>				
55	Secuencias de cebador específico	SEQ ID NO: 11 <u>CAAGAAG GTTGGTTACA</u> <u>AGGTCTTACCA AGTAACTTAC</u> <u>ACCCAAAGA</u> <u>CGGAT</u>			SEQ ID NO: 12 <sup>a</sup>	

60 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.

65 <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
		CTC <u>GAGATCA CCGACGCGCT GGTGCGCTCG GGCTC...GGCCC</u>		
		GCCT <u>GATGAG CCAGGCGCTG CGCAAGCTGA</u>		
10	<i>Bordetella pertussis</i>			
		CTC <u>GAAATCA CCGATGCGCT GGTGCGCTCG GGCTC...GGCCC</u>		
		GCCT <u>GATGTC GCAGGCGCTG CGCAAGCTGA</u>		
	<i>Burkholderia cepacia</i>			
		TTAG <u>AAATTG TAAGAACTAT AGCAAGAAGT GGCAGC...AGCAA</u>		
	<i>Campylobacter jejuni</i>	GACT <u>ATGTC TCAAGCTCTA AGAAAACCTTA</u>		

15

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 GCAGGCTA CGCAAATTAA		
	<i>Clostridium perfringens</i>	TTAGAAATAA CAGAACCTT AGTTAGATCA GGAGC...AGCTA GATTAATGTC ACAAGCCTA AGAAAAGTTAA		
10	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	CTGGAGATTG CAGATATGCT TGTCGCTCT GGAGC...AGCGC GTGGATGAG TCAGGCCGCTG CGTAAAGATGA		
	<i>Enterobacter agglomerans</i>	CTGGAAATCT GTGATGCGCT GACCCGTTCA GGCGC...AGCTC GTATGATGAG CCAGGCCATG CGTAAAGCTTG		
	<i>Enterococcus faecium</i>	TTAGAGATTG CCGATGCCCT AGTTCAAGT GGTGC...AGCTC GACTAATGTC TCAAGCACTA CGTAAATTAT		
15	<i>Escherichia coli</i>	CTGGAAATCT GTGACGCCCT GGCGCGTTCT GGCGC...GGCAC GTATGATGAG CCAGGCCATG CGTAAAGCTGG		
	<i>Haemophilus influenzae</i>	GCGAACAGAA GAATAGAATT TAATGCATT ACCGC...GACCT GTGAGTTAC GCAAAGCTTG AGACATTAAA		
20	<i>Helicobacter pylori</i>	TTAGAAATT TAGAACGAT CACCAGAACG GGAGG...AGCAA GGCTTATGAG CCATGCCCTA AGAAAATCA		
	<i>Lactococcus lactis</i>	CTTCAAATTG CTGAAAAATT GATTACTTCT GGAGC...AGCAC GTATGATGTC ACAAGCCATG CGTAAACTTG		
25	<i>Legionella pneumophila</i>	CTGGAAATTA CTGATATGCT GGTCGCGTTCT GCAGC...GGCAA GATTGATGTC GCAAGCCCTG GGTAATTGA		
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	TTTGCTCTTA TCGAACATT AATTAAACA AACAA...TGCAA GAATGATGTC AAAAGGTTG CGAAGAATAC		
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	TTGGAAATCT GCGACACGCT CGTCCGTTCG GGCGG...GGCGC GCCTGATGAG TCAGGCCCTG CGCAAACCTGA		
30	<i>Proteus mirabilis</i>	OTGGAAATT GTGATGCATT ATCTCGCTCT GGTGC...CGCAC GTATGATGAG CCAAGCTATG CGTAAACTAG		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CTGGAAATCA CCGACATGCT GGTCGCGCTCC AACGC...GGCAC GCCTGATGTC CCAGGCCGCTG CGCAAAGATCA		
35	<i>Serratia marcescens</i>	CTGGAAATCT GTGATGCGCT GACCCGCTCC GGCGC...GGCGC GCATGATGAG CCAGGCCATG CGTAAAGCTGG		
	<i>Shigella flexneri</i>	CTGGAAATCT GTGACGCCCT GGCGCGTTCT GGCGC...GGCAC GTATGATGAG CCASSCGAIG CGTAAAGCTGG		
40	<i>Staphylococcus aureus</i>	CTTGAATCG CCGAACGATT TGTTAGAAGT GGTGC...AGCTC GTTAATGTC ACAAGCCTA CGTAAACTTT		
	<i>Streptococcus gordoni</i>	TTAGAAATTG CAGGAAAATT GATTGACTCT GGGC..... .... ..	32	
45	<i>Streptococcus mutans</i>	CTTGAATTG CAGGGAAATT GATTGATTCT GGCGC...AGCAC GCATGATGAG TCAAGCCATG CGTAAATTAT	33	
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CTTGGAGATTG CGGGAAAATT GATTGACTCA GGTGC...GGCTC GTATGATGAG CCAGGCCATG CGTAAACTTG	34	
50	<i>Streptococcus pyogenes</i>	CTTGAATTG CAGGTAATT GATTGATTCT GGTGC ... AGCAC GTATGATGAG TCAGGCCATG CGTAAATTAT	35	
	<i>Streptococcus salivarius</i>	CTCGAAATTG CAGGTAAGCT GATTGACTCT GGTGC...AGCGC GTATGATGAG TCAAGCCATG CGTAAACTTT	36	
	<i>Vibrio cholerae</i>	CTGGAAATT GTGATGCACT GGCTCGCTCT GGTGC ... AGCGC GTATGTTGTC GCAAGCAATG CGTAAACTGA		
55	<i>Yerinia pestis</i>	CTGGAAATT GTGATGCGCT GACTCGCTCT GGTGC..CGCGC GTATGATGAG CCAGGCCATG CGTAAAGCTGG		
	Secuencias seleccionadas <sup>a</sup>	GAAATTG CAGGIAAATT GATTGA	ATGATGAG TCAIGCCATG CGTAA	
60	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>5</sup> <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>10</sup> <sup>b</sup> Esta secuencia es el complemento inverso de la secuencia de *recA* arriba indicada.

## Anexo VI

<sup>15</sup> *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
<b>Especie bacteriana: <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
<b>Especie bacteriana: <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
<b>Especie bacteriana: <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
<b>Especie bacteriana: <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
<b>Especie bacteriana: <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
<b>Especie fúngica: <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.

## ES 2 329 202 T3

## Anexo VI

*Cebadores específicos y ubicuos para la amplificación de DNA*

5	SEQ ID NO	Secuencia de nucleótidos	Fragmento de DNA de origen	
			SEQ ID NO	Posición de nucleótido
10				
<b>Género bacteriano: <i>Enterococcus</i></b>				
15	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>
<b>Género bacteriano: <i>Neisseria</i></b>				
20	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>
<b>Género bacteriano: <i>Staphylococcus</i></b>				
25	17	5'-CCG TGT TGA ACG TGG TCA AAT CAA A	140-143 <sup>a,b</sup>	391-415 <sup>g</sup>
30	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>
35	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>
<b>Género bacteriano: <i>Streptococcus</i></b>				
40	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>				
45	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>
50	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>

55

60

65

5	SEQ ID NO	Secuencia de nucleótidos	Fragmento de DNA de origen	
			SEQ ID NO	Posición de nucleótido
10	<sup>a</sup>	Estas secuencias se alinearon para obtener el cebador correspondiente.	<sup>b</sup>	
15		Secuencias de tuf 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).
20		secuencias son de la cadena de DNA opuesta de la secuencia del fragmento de origen indicado en la lista de secuencias.	<sup>d</sup>	Estas secuencias procedentes de bases de datos.
25		<sup>e</sup> Secuencias procedentes de bases de 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).
30		<sup>g</sup> Las posiciones de nucleótido se refieren al 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).
35		<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*

5	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: <i>bia<sub>tem</sub></i></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: <i>bla<sub>shv</sub></i></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: <i>bla<sub>rob</sub></i></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	-	-
		<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>bla<sub>oxa</sub></i></u>		
40	49	5'-GAT GGT TTG AAG GGT TTA TTA TAA G	110 <sup>a</sup>	686-710
	50 <sup>b</sup>	5'-AAT TTA GTG TGT TTA GAA TGG TGA T	110 <sup>a</sup>	802-826
45		<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>bla<sub>Z</sub></i></u>		
	51	5'-ACT TCA ACA CCT GCT GCT TTC	111 <sup>a</sup>	511-531
50	52 <sup>b</sup>	5'-TGA CCA CTT TTA TCA GCA ACC	111 <sup>a</sup>	663-683
		<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>aadB</i></u>		
55	53	5'-GGC AAT AGT TGA AAT GCT CG	-	-
	54	5'-CAG CTG TTA CAA CGG ACT GG	-	-
		<u>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>aacC1</i></u>		
60	55	5'-TCT ATG ATC TCG CAG TCT CC	-	-
	56	5'-ATC GTC ACC GTA ATC TGC TT	-	-

<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*

5	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: aacC2</u>		
15	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: aacC3</u>		
20	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: aac6'-Ila</u>		
25	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
30	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: aacA4</u>		
35	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: aad(6')</u>		
40	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: vanA</u>		
45	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	-	-
50	70	5'-TGC TGT CAT ATT GTC TTG CC	-	-
		<u>Gen de resistencia a los antibióticos: vanB</u>		
55	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
60	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.

## ES 2 329 202 T3

## Anexo VI

*Cebadores específicos y ubicuos para la amplificación de DNA*

5	SEQ ID NO	Secuencia de nucleótidos	Fragmento de DNA de origen	
			SEQ ID NO	Posición de nucleótido
10				
<b><u>Gen de resistencia a los antibióticos: vanC</u></b>				
15	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
<b><u>Gen de resistencia a los antibióticos: msrA</u></b>				
20	77	5'-TCC AAT CAT TGC ACA AAA TC	-	-
	78	5'-AAT TCC CTC TAT TTG GTG GT	-	-
25	79	5'-TCC CAA GCC AGT AAA GCT AA	-	-
	80	5'-TGG TTT TTC AAC TTC TTC CA	-	-
<b><u>Gen de resistencia a los antibióticos: satA</u></b>				
30	81	5'-TCA TAG AAT GGA TGG CTC AA	-	-
	82	5'-AGC TAC TAT TGC ACC ATC CC	-	-
<b><u>Gen de resistencia a los antibióticos: aac(6')</u></b>				
35	<b><u>aph(2")</u></b>		-	-
	83	5'-CAA TAA GGG CAT ACC AAA AAT C	-	-
	84	5'-CCT TAA CAT TTG TGG CAT TAT C	-	-
40	85	5'-TTG GGA AGA TGA AGT TTT TAG A	-	-
	86	5'-CCT TTA CTC CAA TAA TTT GGC T	-	-
<b><u>Gen de resistencia a los antibióticos: vat</u></b>				
45	87	5'-TTT CAT CTA TTC AGG ATG GG	-	-
	88	5'-GGA GCA ACA TTC TTT GTG AC	-	-
<b><u>Gen de resistencia a los antibióticos: vga</u></b>				
50	89	5'-TGT GCC TGA AGA AGG TAT TG	-	-
	90	5'-CGT GTT ACT TCA CCA CCA CT	-	-
<b><u>Gen de resistencia a los antibióticos: ermA</u></b>				
55	91	5'-TAT CTT ATC GTT GAG AAG GGA TT	113 <sup>a</sup>	370-392
60	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*

5	SEQ ID NO	Secuencia de nucleótidos	Fragmento de DNA de origen	
			SEQ ID NO	Posición de nucleótido
10				
15		<b>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>ermB</i></b>		
	93	5'-CTA TCT GAT TGT TGA AGA AGG ATT	114 <sup>a</sup>	366-389
20	94 <sup>b</sup>	5'-GTT TAC TCT TGG TTT AGG ATG AAA	114 <sup>a</sup>	484-507
25		<b>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>ermC</i></b>		
	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
30		<b>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>mecA</i></b>		
	97	5'-AAC AGG TGA ATT ATT AGC ACT TGT AAG	-	-
	98	5'-ATT GCT GTT AAT ATT TTT TGA GTT GAA	-	-
35		<b>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>int</i></b>		
	99	5'-GTG ATC GAA ATC CAG ATC C	-	-
40	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	-	-
45		<b>Gen de resistencia a los antibióticos: <i>sul</i></b>		
	103	5'-TTA AGC GTG CAT AAT AAG CC	-	-
50	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	-	-

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

60 <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:
- 10 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;
- 15 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
- 20 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.
- 25 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:
- 35 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*;
- 40 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*;
- 45 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*;
- 50 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:
- 55 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*;
- 60 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*;
- 65 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

## ES 2 329 202 T3

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:

5 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*;

10 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*;

15 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*;

20 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*;

25 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*;

30 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*;

35 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*;

40 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*;

45 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*; y

50 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>*, *blaZ*, *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*.

55 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>*, *blaZ*, *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:

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

65 SEQ ID NO 111 o una secuencia complementaria de la misma, para la detección de *blaZ*;

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

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

5            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>*;

20          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>*;

25          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>*;

30          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 *blaZ*;

35          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*;

40          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*;

45          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*;

50          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*;

55          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'-Ila*;

60          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*;

65          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*;

70          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*;

75          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*;

80          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*;

85          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*;

90          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")*;

95          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*;

100         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*;

105         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*;

5 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*;

10 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

15 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*.

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

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

25 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.

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

- 30 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)
- 40 g) amplificación mediada por transcripción (TMA),
- h) tecnología de sonda de ciclo (CPT),
- i) PCR anidada y
- j) PCR multiplex.

50 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.

55 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
  - 60 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;

## ES 2 329 202 T3

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;

10 para formar un complejo de hibridación, y

15 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, contenido 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.

35 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.

40 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.

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

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

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

55 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.

## ES 2 329 202 T3

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.

40

45

50

55

60

65

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  
10                 (C) CIUDAD: STE-FOY  
(D) ESTADO: QUEBEC  
(E) PAÍS: CANADÁ  
(F) CÓDIGO POSTAL (ZIP): G1V 2KB  
15                 (G) TELÉFONO: (418) 681-4343  
(H) FAX: (418) 681-5254
- 20                 (A) NOMBRE: BERGERON, MICHEL G.  
(B) CALLE: 2069 RUE BRULARD  
(C) CIUDAD: SILLERY  
(D) ESTADO: QUEBEC  
25                 (E) PAÍS: CANADÁ  
(F) CÓDIGO POSTAL (ZIP): G1T 1G2
- 30                 (A) NOMBRE: PICARD, FRANCOIS J.  
(B) CALLE: 1245, RUE DE LA SAPINIERE  
(C) CIUDAD: CAP-ROUGE  
(D) ESTADO: QUEBEC  
35                 (E) PAÍS: CANADÁ  
(F) CÓDIGO POSTAL (ZIP): G1Y 1A1
- 40                 (A) NOMBRE: OUELLETTE, MARC  
(B) CALLE: 1035 DE PLOERMEL  
(C) CIUDAD: SILLERY  
(D) ESTADO: QUEBEC  
45                 (E) PAÍS: CANADÁ  
(F) CÓDIGO POSTAL (ZIP): G1S 3S1
- 50                 (A) NOMBRE: ROY, PAUL H.  
(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 INVENCIÓN: SONDAS DE DNA Y CEBADORES DE AMPLIFICACIÓN ESPECÍFICOS 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
- 65                 (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

15 (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:

35 (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 CCGGCACCTTC G

21

50 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 3:

55 (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:

CAGGC GG CCT TTAATAATT 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)  
5 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:  
(A) ORGANISMO: *Staphylococcus saprophyticus*  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 7:

10 AGATCGAATT CCACATGAAG GTTATTATGA 30

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 8:

- 15 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 30 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
20 (C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
25 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:  
(A) ORGANISMO: *Staphylococcus saprophyticus*  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 8:

30 TCGCTTCTCC CTCAACAATC AAACTATCCT 30

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 9:

- 35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 23 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
40 (C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
45 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:  
(A) ORGANISMO: *Streptococcus agalactiae*  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 9:

50 TTTCACCAGC TGTATTAGAA GTA 23

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 10:

- 55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 23 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
60 (C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:  
65 (A) ORGANISMO: *Streptococcus agalactiae*  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 10:

ES 2 329 202 T3

GTTCCCTGAA CATTATCTT 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  
  
15      (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  
  
35      (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 AGTAACCTTA 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  
  
55      (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
  
(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:

- (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 15:

20 CTGGCGCGGT ATGGTCGGTT

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 16:

- (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 16:

25 GCCGACGTTG GAAGTGGTAA AG

22

40 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 17:

- (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 17:

55 CCGTGTGAA CGTGGTCAAA TCAAA

25

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 18:

- (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)

ES 2 329 202 T3

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

TRTGTGGTGT RATWGWRCGA GGAGC

25

5 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 19:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 10 (A) LONGITUD: 25 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 19:

20 ACAACGTGGW CAAGTWTTAG CWGCT

25

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 20:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 25 (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:

35 ACCATTCWG TACCTCTGG TAAGT

25

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 21:

40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 23 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: 12
- 55 (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"

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

60 GAAATTGCAG GNAAATTGAT TGA

23

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 22:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 65 (A) LONGITUD: 23 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)
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 12  
10 (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 22:
- 15 TTACGCATGG CNTGACTCAT CAT 23
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 23:
- 20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 23 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
25 (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
30 (B) POSICIÓN: 3  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
35 (B) POSICIÓN: 6  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
40 (B) POSICIÓN: 6  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
45 (B) POSICIÓN: 9  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
50 (B) POSICIÓN: 12  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
55 (B) POSICIÓN: 15  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- 60 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 23:

ACNKKNACNG GNGTNGARAT GTT

23

65 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 24:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

# ES 2 329 202 T3

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

5 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Enterococcus faecium*

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

10	TTCTTAGAGA CATTGAATAT GCCTTATGTC GGCGCAGGCG TATTGACCAAG TGCAATGTGCC	60
	ATGGATAAAA TCATGACCAA GTATATTTTA CAAGCTGCTG GTGTGCCGCA AGTTCTTAT	120
15	GTACCAGTAC TTAAGAACATCA ATGGAAAGAA AATCCTAAAA AAGTATTGAA TCAATGTGAA	180
	GGTTCTTGCT TTATCCGAT GTTTGTCAAA CCTGCGAATA TGGGTTCTAG TGTCGGCATT	240
20	ACAAAGGCAG AAAACCGAGA AGAGCTGCAA AATGCTTTAG CAACAGCCTA TCAGTATGAT	300
	TCTCGAGCAA TCGTTGAACA AGGAATTGAA GCGCGCGAAA TCGAAGTTGC TGTATTAGGA	360
	AATGAAGATG TTCGGACGAC TTTGCCTGGC GAAGTCGTAA AAGACGTAGC ATTCTATGAT	420
25	TATGAAGCCA AATATATCAA TAATAAAATC GAAATGCCAGA TTCCAGCCGA AGTGCCGGAA	480
	GAAGTTTATC AAAAAGCGCA AGAGTACCGCG AAGTTAGCTT ACACGATGTT AGGTGGAAGC	540
30	GGATTGAGCC GGTGCGATTT CTTTTGACA AATAAAAATG AATTATTCCCT GAATGAATTAA	600

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 27:

35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 1.920 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: *Listeria monocytogenes*

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

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

ES 2 329 202 T3

	TCAGGAGCCG ACCGACCAGC TATACAAGTG GAGCGTCGTC ATCCAGGATT GCCATCGGAT	420
5	AGCGCAGCGG AAATTAAAAA AAGAAGGAAA GCCATAGCAT CATCGGATAG TGAGCTTGA	480
	AGCCTTACTT ATCCGGATAA ACCAACAAA GTAAATAAGA AAAAAGTGGC GAAAGAGTCA	540
10	GTTGCGGATG CTTCTGAAAG TGACTTAGAT TCTAGCATGC AGTCAGCAGA TGAGTCITCA	600
	CCACAACCTT TAAAAGCAA CCAACAACCA TTTTCCCTA AAGTATTTAA AAAATAAAA	660
	GATGCGGGGA AATGGGTACG TGATAAAATC GACGAAAATC CTGAAGTAAA GAAAGCGATT	720
15	GTTGATAAAA GTGCAGGGTT AATTGACCAA TTATTAACCA AAAAGAAAAG TGAAGAGGTA	780
	AATGCTTCGG ACTTCCCAGC ACCACCTACG GATGAAGAGT TAAGACTTGC TTTGCCAGAG	840
20	ACACCAATGC TTCTTGGTTT TAATGCTCCT GCTACATCAG AACCGAGCTC ATTGAAATT	900
	CCACCACAC CTACGGATGA AGAGTTAAGA CTTGCTTTGC CAGAGACGCC AATGCTTCTT	960
25	GGTTTTAATG CTCCTGCTAC ATCGGAACCG AGCTCGTTCG AATTTCCACC GCCTCCAACA	1020
	GAAGATGAAC TAGAAATCAT CCGGGAAACA GCATCCTCGC TAGATTCTAG TTTTACAAGA	1080
	GGGGATTTAG CTAGTTTGAG AAATGCTATT AATGCCATA GTCAAAATTT CTCTGATTT	1140
30	CCACCAATCC CAACAGAAGA AGAGTTGAAC GGGAGAGGGCG GTAGACCAAC ATCTGAAGAA	1200
	TTTAGTTCGC TGAATAGTGG TGATTTACA GATGACGAAA ACAGCGAGAC AACAGAAGAA	1260
35	GAAATTGATC GCCTAGCTGA TTTAAGAGAT AGAGGAACAG GAAAACACTC AAGAAATGCG	1320
	GGTTTTTAC CATTAAATCC GTTGTAGC AGCCCGGTTTC CTTCGTTAAG TCCAAAGGTA	1380
40	TCGAAAATAA GCGACCGGGC TCTGATAAGT GACATAACTA AAAAACGCC ATTTAAGAAT	1440
	CCATCACAGC CATTAAATGT GTTTAATAAA AAAACTACAA CGAAAACAGT GACTAAAAAA	1500
45	CCAACCCCTG TAAAGACCGC ACCAAAGCTA GCAGAACTTC CTGCCACAAA ACCACAAGAA	1560
	ACCGTACTTA GGGAAAATAA AACACCCATT ATAGAAAAAC AAGCAGAAAC AAACAAGCAG	1620
	TCAATTAAATA TGCCGAGCCT ACCAGTAATC CAAAAAGAAG CTACAGAGAG CGATAAAGAG	1680
50	GAAATGAAAC CACAAACCGA GGAAAAAATG GTAGAGGAAA GCGAATCAGC TAATAACGCA	1740
	AACGGAAAAA ATCGTTCTGC TGGCATTGAA GAAGGAAAAC TAATTGCTAA AAGTGCAGAA	1800
55	GACGAAAAG CGAAGGAAGA ACCAGGAAAC CATACGACGT TAATTCTTGC AATGTTAGCT	1860
	ATTGGCGTGT TCTCTTTAGG GGCCTTTATC AAAATTATTC AATTAAGAAA AAATAATTAA	1920

60 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 28:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (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)

- 5 (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 AGTGCAGAAC AAACCAAGTT	120
15	GCCGGAGCAA CTGGTGACGG CACGTGGTAC GGTTTCTGTG CCGTTTGTG GCGATATTTC	180
	GGTGGTCGGT AAAACGCCTG GTCAGGTTCA GGAAATTATT AAAGGCCGCC TGAAAAAAAT	240
20	GGCCAATCAG CCGCAAGTGA TGGTGCCTT GGTGCAGAAT AATGCGGCAA ATGTATCGGT	300
	GATTGCGCA GGCAATAGTG TCGTATGCC GTTGACGGCA GCCGGTGAGC GTGTGTTGGA	360
	TGCGGTGGCT GCGGTAGGTG GTTCAACGGC AAATGTGCAG GATAACGAATG TGCAG	415

- 25 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 29:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 30 (A) LONGITUD: 438 pares de bases  
 (B) TIPO: ácido nucleico  
 (C) CADENA: doble  
 (D) TOPOLOGÍA: lineal

- 35 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:  
 (A) ORGANISMO: *Staphylococcus saprophyticus*

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

TCGCTTCTCC AGAAGAAATT TTAGAAACAT ATCTAGAAAA TCCCAAATTA GATAAACCGT	60
TTATATTATG TGAATACGCA CATGCAATGG GAAATTCAACC AGGAGATCTT AATGCATATC	120
AAACATTAAT TGAAAAATAT GATAGTTTA TTGGCGGTTT TGTTTGGGAA TGGTGTGATC	180
ATAGCATTCAGGTTGGATA AAGGAAGGTA AACCAATTT TAGATATGGT GGAGATTTG	240
GTGAGGCCTT ACATGACGGT AATTTTGAG TTGATGGTAT TGTTTCGCCA GATCGAATTC	300
CACATGAAGG TTATTATGAG TTTAAACATG AACATAGACC TTTGAGATTG GTTAACGAAG	360
AGGATTATCG GTTACATTG AAGAATCAAT TTGATTTAC AAATGCGGAG GATAGTTGA	420
TTGTTGAGGG AGAAGCGA	438

- 60 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 30:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 65 (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)

5 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Streptococcus agalactiae*

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

10	<b>ATGAAACGTTA CACATATGAT GTATCTATCT GGAACCTCTAG TGGCTGGTGC ATTGTTATTT</b>	<b>60</b>
	<b>TCACCAGCTG TATTAGAAAGT ACATGCTGAT CAAGTGACAA CTCCACAAGT GGTAAATCAT</b>	<b>120</b>
15	<b>GTAAATAGTA ATAATCAAGC CCAGCAAATG GCTCAAAAGC TTGATCAAGA TAGCATTAG</b>	<b>180</b>
	<b>TTGAGAAATA TCAAAGATAA TGTCAGGGA ACAGATTATG AAAAACCGGT TAATGAGGCT</b>	<b>240</b>
20	<b>ATTACTAGCG TGGAAAAATT AAAGACTTCA TTGCGTGCCA ACCCTGAGAC AGTTTATGAT</b>	<b>300</b>
	<b>TTGAATTCTA TTGGTAGTCG TGTAGAAGCC TTAACAGATG TGATTGAAGC AATCACTTTT</b>	<b>360</b>
25	<b>TCAACTCAAC ATTTAACAAA TAAGGTTAGT CAAGCAAATA TTGATATGGG ATTTGGATA</b>	<b>420</b>
	<b>ACTAAGCTAG TTATTCGCAT TTAGATCCA TTGCTTCAG TTGATTCAAT TAAAGCTCAA</b>	<b>480</b>
30	<b>GTTAACGATG TAAAGGCATT AGAACAAAAA GTTTAACCTT ATCCTGATTT AAAACCAACT</b>	<b>540</b>
	<b>GATAGAGCTA CCATCTATAC AAAATCAAAA CTTGATAAGG AAAATCTGGAA TACACGCTTT</b>	<b>600</b>
	<b>ACTAGAGATA AAAAAGTACT TAACGTCAAA GAATTAAAG TTTACAATAC TTTAAATAAA</b>	<b>660</b>
	<b>GCAATCACAC ATGCTGTTGG AGTCAGTTG AATCCAAATG TTACGGTACA ACAAGTTGAT</b>	<b>720</b>
	<b>CAAGAGATTG TAACATTACA AGCAGCACTT CAAACAGCAT TAAAATAAA</b>	<b>768</b>

35

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 31:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

40

(A) LONGITUD: 421 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: lineal

45

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

50

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Neisseria meningitidis*

55

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

55	<b>ATGAAAGTAG GTTTCGTCGG CTGGCGCGGT ATGGTCGGTT CGGTTTGAT GCAGCGTATG</b>	<b>60</b>
	<b>AAAGAAAGAAA ACGACTTCGC CCACATTCCC GAAGCGTTTT TCTTTACAC TTCCAACGTC</b>	<b>120</b>
60	<b>GGCGGCGCAC GCCCTGATTT CGGTCAGGCG GCTAAAACAT TATTGGACGC GAACAAACGTT</b>	<b>180</b>
	<b>GCCGAGCTGG CAAAAATGGA CATCATCGTT ACCTGCCAAG GCGGCGACTA CACCAAATCC</b>	<b>240</b>
	<b>GTCTTCCAAG CCCTGCGCGA CAGCGGCTGG AACGGCTACT GGATTGACGC GGCATCCTCG</b>	<b>300</b>
	<b>CTGCGTATGA AAGACGACGC GATTATCGTC CTCGACCCCCG TCAACCGCAA CGTCATCGAC</b>	<b>360</b>
65	<b>AACGGCCTCA AAAACGGCGT GAAAAACTAC ATCGGGCGCA ACTGTACCGT TTCCCTGATG</b>	<b>420</b>
	<b>C</b>	<b>421</b>

# 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 TGTAAATATT</b>	<b>60</b>
<b>GATGAGCTGT TGCTATCTCA ACCAGATTCT GGTGAGCAAG GTTTAGAAAT TGCAGGAAAA</b>	<b>120</b>
<b>TTGATTGACT CTGGGGCAGT TGATTTAGTT GTCATCGACT CTGTTGCAGC TCCTGTACCA</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 GACAACGTGC GCTCTTCATG CTGCTGCTCA GGGCAAAAAA</b>	<b>60</b>
<b>GATGGCGGTA TTGCCGCTTT CATTGATGCA GAACATGCC TTGATCCAGC CTATGCTGCT</b>	<b>120</b>
<b>GCTCTGGCG TTAATATTGA TGAGCTTTG CTTTCACAAAC CAGATTCAAG AGAACAGGGT</b>	<b>180</b>
<b>CTTGAAATTG CAGGGAAATT GATTGATTCT GGCGCTGTTG ATTTAGTTGT TGTTGACTCA</b>	<b>240</b>
<b>GTGGCAGCTT TAGTACCAAG 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 GTTGGTAAT</b>	<b>420</b>
<b>CCAGAAACAA CCCCTGGCGG GCGTGCCTTG AAGTTTATT CTTCTGTGCG TCTTGATGTC</b>	<b>480</b>
<b>CGCGGCAATA CTCAAATTAA AGGAACCGGG GAACAAAAAG ACAGCAATAT TGGTAAAGAG</b>	<b>540</b>
<b>ACCAAAATTAA AAGTTGTTAA AAATAAAGTT GCTCCACCAT TTAAGGAAGC TTTTGTAGAA</b>	<b>600</b>
<b>ATTATATATG GTGAAGGCAT TTCTCGTACA GGTGAATTAG TTAAGATTGC CAGTGATTG</b>	<b>660</b>
<b>GGAATTATCC AAAAGCTGG 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 AACCAAAAAA ATTAGAAGAA ATTTCAAAAA AAATTGGGC AGAACGTGAA	60
AAGGCCCTGA ATGACGCTCT TAAATTGATT GAGAAAGACT TTGGTAAAGG ATCAATCATG	120
CGTTTGGGTG AACGTGCGGA GCAAAAGGTG CAAAGTGATGA GCTCAGGTTTC TTTAGCTCTT	180
GACATTGCCCT TTGGCTCAGG TGGTTATCCT AAGGGACGTA TCATCGAAAT CTATGGCCCA	240
GAGTCATCTG GTAAGACAAAC GGTTGCCCTT CATGCAGTTG CACAAGCGCA AAAAGAAGGT	300
GGGATTGCTG CCTTTATCGA TGCGGAACAT GCCCTTGATC CAGCTTATGC TCGGGCCCTT	360
GGTGTCAATA TTGACGAATT GCTCTGTCT CAACCAGACT CAGGAGAGCA AGGTCTTGAG	420
ATTGCGGAA AATTGATTGA CTCAGGTGCA GTTGATCTTG TCGTAGTCGA CTCAGTTGCT	480
GCCCTTGTTC CTCGTGCGGA AATTGATGGA GATATCGGAG ATAGCCATGT TGGTTTGCAAG	540
GCTCGTATGA TGAGCCAGGC CATCGTAAA CTTGGCGCCT CTATCAATAA AACCAAAACA	600
ATTGCCATTT TTATCAACCA ATTGGTGAA AAAGTTGGAG TGATGTTGG AAATCCAGAA	660
ACAACACCGG GCGGACGTGC TTTGAAATTTC TATGCTTCAG TCCGCTTGGAA TGTCGTGGT	720
AATACACAAA TTAAGGGAAC TGGTGATCAA AAAGAAACCA ATGTCGGTAA AGAAAACAAAG	780
ATTAAGGTTG TAAAAAATAA GGTAGCTCCA CCGTTAAGG AAGCCGTAGT TGAAATTATG	840
TACGGAGAAG GAATTTCTAA GACTGGTGAG CTTTTGAAGA TTGCAAGCGA TTTGGATATT	900
ATCAAAAAAG CAGGGGCTTG GTATTCTTAC AAAGATGAAA AAATTGGCA AGGTTCTGAG	960
AATGCTAAGA AATACTTGGC AGAGCACCCA GAAATCTTG ATGAAATTGA TAAGCAAGTC	1020
CGTTCTAAAT TTGGCTTGAT TGATGGAGAA GAAGTTTCAG AACAAAGATAC TGAAAACAAA	1080
AAAGATGAGC CAAAGAAAGA AGAACGAGTG AATGAAGAAG TTCCGCTTGA CTTAGGCGAT	1140
GAACTTGAAA TCGAAATTGA AGAATAAGCT GTTAAAGCAG TGGAGAAATC CGCTACTTTT	1200
<b>TCGA</b>	<b>1204</b>

(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

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

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Streptococcus pyogenes*

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

ATGCGTTCAAG	GAAGTCTAGC	TCTTGATATT	GCTTGGATAG	CTGGTGGTTA	TCCTAAAGGA	60
CGTATCATCG	AAATCTATGG	TCCAGAGTCT	TCCGGTAAAA	CGACTGTGGC	TTTACATGCT	120
GTAGCACAAAG	CTCAAAAAGA	AGGTGGAATC	GCAGCCTTA	TCGATGCCGA	GCATGCGCTT	180
GATCCAGCTT	ATGCTGCTGC	GCTTGGGTT	AATATTGATG	AACTTCTCTT	GTCTCAACCA	240
GATTCTGGAG	AACAAGGACT	TGAAATTGCA	GGTAAATTGA	TTGATTCTGG	TGCGGTTGAC	300
CTGGTTGTTG	TCGATTCACT	AGCAGCTTA	GTGCCACGTG	CTGAAATTGA	TGGTGATATT	360
GGCGATAGCC	ATGTCGGATT	GCAAGCACGT	ATGATGAGTC	AGGCCATGCG	TAATTATCA	420
GCTTCTATTA	ATAAAACAAA	AACTATCGCA	ATCTTATCA	ACCAATTGCG	TGAAAAAGTT	480
GGTGTGATGT	TTGAAATCC	TGAAACAAACA	CCAGGTGGTC	GAGCTTGAA	ATTCTATGCT	540
TCTGTTCGGC	TGGATGTGCG	TGGAAACAAAC	CAAATTAAAG	GAACGGTGA	CCAAAAGATA	600
						35
GCCAGCATTG	GTAAGGAGAC	CAAAATCAAG	GTTGTTAAAAA	ACAAGGTGCG	TCCGCCATTT	660
AAGGTAGCAG	AAGTTGAAAT	CATGTATGGG	GAAGGTATTT	CTCGTACAGG	GGAGCTTGTG	720
AAAATTGCTT	CTGATTTGGA	CATTATCCA	AAAGCAGGTG	CTTGGTTCTC	TTATAATGGT	780
GAGAAGATTG	GCCAAGGTTTC	TGAAAATGCT	AAGCGTTATT	TGGCCGATCA	TCCACAATTG	840
TTTGATGAAA	TCGACCGTAA	AGTACGTGTT	AAATTGGTT	TGCTTGAGA	AAGCGAAGAA	900
GAATCTGCTA	TGGCAGTAGC	ATCAGAAGAA	ACCGATGATC	TTGCTTTAGA	TTTAGATAAT	960
GGTATTGAAA	TTGAAGATTA	A				981

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 36:

55 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 312 pares de bases  
 (B) TIPO: ácido nucleico  
 (C) CADENA: doble  
 (D) TOPOLOGÍA: lineal

60 (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:

GCGTATGCAC GAGCTCTAGG TGTTAATATC GATGAGCTTC TTTTGTGCA GCCTGATTCT 60  
GGTGAGCAAG GTCTCGAAAT TGCAGGTAAG CTGATTGACT CTGGTGCAGT GGATTTAGTT 120  
GTTGTTGACT CAGTTGCGGC CTTCGTACCA CGTGCAGAAA TTGATGGAGA TAGTGGTGAC 180  
AGTCATGTAG GACTTCAAGC GCGTATGATG AGTCAAGCCA TGCGTAAACT TTCTGCATCT 240  
ATTAATAAAA CAAAAACGAT TGCTATCTTT ATTAACCAGT TGCGTGAAAA AGTTGGTATC 300  
ATGTTTGGTA AC 312

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 37:

(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 37:

30 CTATGTGGCG CGGTATTATC

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 38:

(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 38:

CGCAGTGT TA TCACTCATGG

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEO ID NO 39:

### (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

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

(iii) TIPO DE MOLECULA: DNA (genómico)

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

CTGAATGAAAGCCATACCAAA

20

<sup>65</sup> (2) INFORMACIÓN SOBRE SEO ID NO. 49.

## (c) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA

ES 2 329 202 T3

- (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 40:

ATCAGGCAATA AACCCAGGCCAG

30

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEO ID NO. 41:

- (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: SEO ID NO 41:

TTACCATGAG CGATAACAGC

20

<sup>30</sup> (2) INFORMACIÓN SOBRE SEO ID NO 42:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

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

(ii) TIPO DE MOLECULA: DNA (genómico)

## (ii) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA SE

(xi) DESCRIPCION DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 42.

## CHARTER ROSES

20

(2) INFORMACION SOBRE SEQ ID NO 43:

- (i) CARACTERISTICAS 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: SE

SACCTGGTCC ACTGGATGCT

#### **REFERENCES AND NOTES**

2

(2) INFORMACION SOBRE SEQ ID NO 44:

- (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 TGTTATTCGG

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  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

20 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 45:

25 TACGCCAAC A TCGTGGAAAG

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 46:

- 30 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (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 46:

40 TTGAATTG G CTTCTTCGGT

20

45 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 47:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(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:

- (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:

TAAATCTTT 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 GATGGTTGA AGGGTTATT ATAAG

25

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 50:

30 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 25 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 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

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

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 51:

ACTTCAACAC CTGCTGCTT 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)

(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

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(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:

(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 54:

CAGCTGTTAC AACGGACTGG

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 55:

(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 55:

TCTATGATCT CGCAGTCTCC

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 56:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 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 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  
15 (C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 57:

20 CATTCTCGAT TGCTTTGCTA 20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 58:

- 25 (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: SEQ ID NO 58:

CCGAAATGCT TCTCAAGATA 20

40 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 59:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
45 (A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(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:

55 CTGGATTATG GCTACGGAGT 20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 60:

- 60 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
65 (C) CADENA: simple  
(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

5 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 61:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 10 (A) LONGITUD: 20 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 61:

20 GACTCTTGAT GAAGTGCTGG

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 62:

25 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

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

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

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

CTGGTCTATT CCTCGCACTC

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 63:

40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 20 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 63:

TATGAGAAGG CAGGATTCGT

20

55 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 64:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 60 (A) LONGITUD: 20 pares de bases
- (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 64:

ES 2 329 202 T3

GCTTTCTCTC GAAGGCTTGT

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 65:

5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 20 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 65:

GAGTTGCTGT TCAATGATCC

20

20 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 66:

(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)

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

GTGTTTGAAC CATGTACACG

20

35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 67:

(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 67:

50 TGTAGAGGGTC TAGCCCGTGT

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 68:

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)

65 (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:  
5 (A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 69:

15 ATAAAGATGA TAGGCCGGTG 20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 70:

- 20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
25 (C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
30 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 70:

TGCTGTCATA TTGTCTTGCC 20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 71:

- 35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
40 (C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
45 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 71:

ATTATCTTCG GCGGTTGCTC 20

50 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 72:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
55 (A) LONGITUD: 20 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 72:

65 GACTATCGGC TTCCCCATTCC 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:

CGATAGAACG AGCAGGACAA

20

15 (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 CGGAAGATA

20

30 (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:

45 GCCTTATGTA TGAACAAATG G

21

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 76:

50 (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)

60 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 76:

GTGACTTTWG TGATCCCTTT TGA

23

65 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 77:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

ES 2 329 202 T3

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: simple

(D) TOPOLOGÍA: lineal

5

(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:

35

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

(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:

45

TCCCAAGCCA GTAAAGCTAA

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 80:

50

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(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

TGGTTTTCA 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

5 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 81:

10 TCATAGAATG GATGGCTCAA

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 82:

- 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 82:

25 AGCTACTATT GCACCATCCC

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 83:

- 30 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 22 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 83:

CAATAAGGGC ATACCAAAAA TC

22

45 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 84:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 22 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 84:

60 CCTTAACATT TGTGGCATT A TC

22

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 85:

- 65 (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 GAAGTTTTA GA 22
- 10 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 86:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 22 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 86:
- CCTTTACTCC AATAATTGG CT 22
- 25 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 87:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
30 (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 TCTTGTGAC 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)  
5 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 89:  
TGTGCCTGAA GAAGGTATTG 20
- 10 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 90:  
(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 90:  
CGTGTTACTT CACCACCACT 20
- 25 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 91:  
(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 23 pares de bases  
30 (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 91:  
40 TATCTTATCG TTGAGAAGGG ATT 23
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 92:  
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 92:  
55 CTACACTTGG CTTAGGATGA AA 22
- (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 93:  
60 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 24 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 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)  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 94:

20 GTTTACTCTT GGTTTAGGAT GAAA

24

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 95:

- 25 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 22 pares de bases  
30 (B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal

- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
35 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 95:

CTTGTTGATC ACGATAATTC CC

22

40 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 96:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
45 (A) LONGITUD: 22 pares de bases  
(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 ATCTTTAGC 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  
65 (C) CADENA: simple  
(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 ATATTTTTG AGTTGAA

27

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 99:

25 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 19 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: simple
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

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

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

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

45 (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:

- 60 (A) LONGITUD: 19 pares de bases
- (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:

ES 2 329 202 T3

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  
30 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 103:

TTAACCGTGC 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 TTGCCCCACT

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)  
65 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 105:

TTTACTAAGC TTGCCCCCTTC

20

ES 2 329 202 T3

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 106:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

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

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

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

15 AAAAGGCAGC AATTATGAGC

20

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 107:

20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

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

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

(ix) CARACTERÍSTICA:

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

35 (ix) CARACTERÍSTICA:

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

40 (ix) CARACTERÍSTICA:

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

45 (ix) CARACTERÍSTICA:

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

50 (ix) CARACTERÍSTICA:

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

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

60 AAYATGATNA CNGGNGCNGC NCARATGGA

29

65 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 108:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

# ES 2 329 202 T3

- (A) LONGITUD: 23 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
5 (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  
20 (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
25 (B) POSICIÓN: 9  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
30 (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 12  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- 35 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 108:  
CCNACNGTNC KNCCRCCYTC RCG
- 23  
40 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 109:  
(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
(A) LONGITUD: 29 pares de bases  
45 (B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: simple  
(D) TOPOLOGÍA: lineal
- 50 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 55 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 6  
55 (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- (ix) CARACTERÍSTICA:  
60 (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 12  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”
- 65 (ix) CARACTERÍSTICA:  
(A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature  
(B) POSICIÓN: 15  
(D) OTRA INFORMACIÓN: /note= “n = inosina”

# 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:

10 CARYTNATHG TNGCNGTNAA YAARATGGA

29

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 110:

15 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 831 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

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

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

ATGAAAAACA CAATACATAT CAACTTCGCT ATTTTTTAA TAATTGCAA TATTATCTAC	60
AGCAGCGCCA GTGCATCAAC AGATATCTCT ACTGTTGCAT CTCCATTATT TGAAGGAACT	120
GAAGGTTGTT TTTTACTTTA CGATGCATCC ACAAAACGCTG AAATTGCTCA ATTCAATAAA	180
GCAAAGTGTG CAAACGCAAAT GGCACCAAGAT TCAACTTTCA AGATCGCATT ATCACTTATG	240
GCATTTGATG CGGAAATAAT AGATCAGAAA ACCATATTCA AATGGGATAAA AACCCCCAAA	300
GGAAATGGAGA TCTGGAACAG CAATCATACA CCAAAGACGT GGATGCAATT TTCTGTTGTT	360
TGGGTTTCGC AAGAAATAAC CCAAAAAATT AGATTAATAA AAATCAAGAA TTATCTCAA	420
GATTTTGATT ATGAAATCA AGACTTCCT GGAGATAAG AAAGAAACAA CGGATTAACA	480
GAAGCATGGC TCGAAAGTAG CTTAAAAATT TCACCCAGAAG AACAAATTCA ATTCTGCGT	540
AAAATTATTA ATCACAATCT CCCAGTTAAA AACTCAGCCA TAGAAAACAC CATAGAGAAC	600
ATGTATCTAC AAGATCTGGA TAATAGTACA AAACTGTATG GGAAAACCTGG TGCAGGATTC	660
ACAGCAAATA GAACCTTACA AAACGGATGG TTTGAAGGGT TTATTATAAG CAAATCAGGA	720
CATAAAATATG TTTTGTGTC CGCACTTACA GGAAACTTGG GGTGAAATT AACATCAAGC	780
55 ATAAAAGCCA AGAAAAATGC GATCACCATT CTAACACAC TAAATTTATA A	831

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 111:

60 (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 GCTTAGTTT TAAGTCATG TAATTCAAAC	60
10	AGTTCACATG CCAAAGAGTT AAATGATTTA GAAAAAAAAT ATAATGCTCA TATTGGTGT	120
15	TATGCTTAG ATACTAAAAG TGGTAAGGAA GTAAAATTAA ATTCAAGATAA GAGATTTGCC	180
20	TATGCTCAA CTTCAAAAGC GATAAATAGT GCTATTTGT TAGAACAAAGT ACCTTATAAT	240
25	AAGTTAAATA AAAAAGTACA TATTAACAAA GATGATATAG TTGCTTATTTC TCCTATTTA	300
30	AAAAAATATG TAGGAAAAGA TATCACTTTA AAAGCACTTA TTGAGGCTTC AATGACATAT	360
35	AGTGATAATA CAGCAAACAA TAAAATTATA AAAGAAATCG GTGGAATCAA AAAAGTTAAA	420
40	CAACGTCTAA AAGAACTAGG AGATAAAGTA ACAAAATCCAG TTAGATATGA GATAGAATTA	480
45	AATTACTATT CACCAAAGAG CAAAAAAGAT ACTTCAACAC CTGCTGCTTT CGGTAAGACT	540
50	TTAAATAAAC TTATCGAAA TGGAAAATTA AGCAAAGAAA ACAAAAATT CTTACTTGAT	600
55	TTAATGTTAA ATAATAAAAG CGGAGATACT TTAATTAAAG ACGGTGTTCC AAAAGACTAT	660
60	AAGGTTGCTG ATAAAAGTGG TCAAGCAATA ACATATGCTT CTAGAAATGA TGTTGCTTTT	720
65	GTTTATCCTA AGGGCCAATC TGAACTTATT GTTTAGTCA TTTTACGAA TAAAGACAAT	780
70	AAAAGTGATA AGCCAAATGA TAAGTTGATA AGTGAAACCG CCAAGAGTGT AATGAAGGAA	840
75	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:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	<b>ATGTCCGCGA GCACCCCCC CATAACTCTT CGCCTCATGA CCGAGCGCGA CCTGCCGATG</b>	<b>60</b>
5	<b>CTCCATGACT GGCTCAACCG GCCGCACATC GTTGAGTGGT GGGGTGGCGA CGAAGAGCGA</b>	<b>120</b>
	<b>CCGACTCTTG ATGAAAGTGCT GGAACACTAC CTGCCAGAG CGATGGCGGA AGAGTCCGTA</b>	<b>180</b>
10	<b>ACACCGTACA TCGCAATGCT GGGCGAGGAA CCGATCGGCT ATGCTCAGTC GTACGTCGCG</b>	<b>240</b>
	<b>CTCGGAAGCG GTGATGGCTG GTGGGAAGAT GAAACTGATC CAGGAGTGCAG AGGAATAGAC</b>	<b>300</b>
	<b>CAGTCTCTGG CTGACCCGAC ACAGTTGAAC AAAGGCCTAG GAACAAGGCT TGTCCCGCGCT</b>	<b>360</b>
15	<b>CTCGTTGAAC TACTGTTCTC GGACCCCACC GTGACGAAGA TTCAGACCGA CCCGACTCCG</b>	<b>420</b>
20	<b>AACAACCATC GAGCCATACG CTGCTATGAG AAGGCAGGAT TCGTGCGGGA GAAGATCATC</b>	<b>480</b>
	<b>ACCACGCCCTG ACGGGCCGGC GGTTTACATG GTTCAAACAC GACAAGCCTT CGAGAGAAAG</b>	<b>540</b>
	<b>CGCGGTGTTG CCTAA</b>	<b>555</b>

25 (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

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

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

	<b>ATGAACCAGA AAAACCCCTAA AGACACGCAA AATTTTATTAA CTTCTAAAAA GCATGTAAAA</b>	<b>60</b>
40	<b>GAAATATTGA ATCACACGAA TATCAGTAAA CAAGACAACG TAATAGAAAT CGGATCAGGA</b>	<b>120</b>
	<b>AAAGGACATT TTACCAAAGA GCTAGTCAAAT ATGAGTCGAT CAGTTACTGC TATAGAAATT</b>	<b>180</b>
45	<b>GATGGAGGCT TATGTCAAGT GACTAAAGAA GCGGTAACCC CCTCTGAGAA TATAAAAGTG</b>	<b>240</b>
	<b>ATTCAAACGG ATATTCTAAA ATTTCCCTC CCAAAACATA TAAACTATAA GATATATGGT</b>	<b>300</b>
50	<b>AATATTCCCT ATAACATCAG TACGGATATT GTCAAAAGAA TTACCTTGA AAGTCAGGCT</b>	<b>360</b>
	<b>AAATATAGCT ATCTTATCGT TGAGAAGGAA TTTGCGAAAA GATTGCAAAA TCTGCAACGA</b>	<b>420</b>
55	<b>GCTTTGGGTT TACTATTAAT GGTGGAGATG GATATAAAA TGCTAAAAA AGTACCCACCA</b>	<b>480</b>
	<b>CTATATTTTC ATCCTAACGCC AAGTGTAGAC TCTGTATTGA TTGTTCTTGA ACGACATCAA</b>	<b>540</b>
60	<b>CCATTGATT CAAGAAAGGA CTACAAAAG TATCGATCTT TTGTTTATAA GTGGGTAAAC</b>	<b>600</b>
	<b>CGTGAATATC GTGTTCTTT CACTAAAAC CAATTCCGAC AGGTTTGAA GCATGCAAAT</b>	<b>660</b>
65	<b>GTCACTAATA TTAATAAACT ATCGAAGGAA CAATTCTTT CTATTTCAA TAGTTACAAA</b>	<b>720</b>
	<b>TGTTTCACT AA</b>	<b>732</b>

# 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	<b>ATGAAACAAA ATATAAAATA TTCTCAAAAC TTTTAACGA GTGAAAAGT ACTCAACCAA</b>	<b>60</b>
	<b>ATAATAAAAC AATTGAATT AAAAGAAACC GATACCGTTT ACGAAATTGG AACAGGTAAA</b>	<b>120</b>
20	<b>GGGCATTAA CGACGAAACT GGCTAAAATA AGTAAACAGG TAACGTCTAT TGAATTAGAC</b>	<b>180</b>
	<b>AGTCATCTAT TCAACTTATC GTCAGAAAAA TTAAAATCGA ATACTCGTGT CACTTTAATT</b>	<b>240</b>
25	<b>CACCAAGATA TTCTACAGTT TCAATTCCCT AACAAACAGA GGTATAAAAAT TGTTGGGAAT</b>	<b>300</b>
	<b>ATTCCTTACC ATTTAACGCAC ACAAAATTATT AAAAAGTGG TTTTGAAAG CCATGCGTCT</b>	<b>360</b>
30	<b>GACATCTATC TGATTGTTGA AGAAGGATTC TACAAGCGTA CCTTGGATAT TCACCGAACAA</b>	<b>420</b>
	<b>CTAGGGTTGC TCTTGCACAC TCAAGTCTCG ATTCAAGCAAT TGCTTAAGCT GCCAGCGGAA</b>	<b>480</b>
35	<b>TGCTTTCATC CTAAACCAAG AGTAAACAGT GTCTTAATAA AACTTACCCG CCATACCAACA</b>	<b>540</b>
	<b>GATGTTCCAG ATAAATATTG GAAGCTATAT ACGTACTTTG TTTCAAAATG GGTCAATCGA</b>	<b>600</b>
40	<b>GAATATCGTC AACTGTTAC TAAAATCAG TTTCATCAAG CAATGAAACA CGCCAAAGTA</b>	<b>660</b>
	<b>AACAATTAA GTACCGTTAC TTATGAGCAA GTATTGTCTA TTTTAATAG TTATCTATTA</b>	<b>720</b>
	<b>TTAACGGGA GGAAATAA</b>	<b>738</b>

(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

5	ATGAACGAGA AAAATATAAA ACACAGTCAA AACTTTATTA CTTCAAAACA TAATATAGAT	60
	AAAATAATGA CAAATATAAG ATTAAATGAA CATGATAATA TCTTTGAAAT CGGCTCAGGA	120
	AAAGGGCATT TTACCCCTGGA ATTAGTACAG AGGTGTAATT TCGTAACTGC CATTGAAATA	180
10	GACCATAAAAT TATGCAAAAC TACAGAAAAT AAACCTGTTG ATCACGATAA TTTCCAAGTT	240
	TTAAACAAGG ATATATTGCA GTTTAAATTT CCTAAAAACC AATCCTATAA AATATTTGGT	300
	AATATACCTT ATAACATAAG TACGGATATA ATACGAAAAA TTGTTTTGTA TAGTATAGCT	360
15	GATGAGATTT ATTTAACCGT GGAATACGGG TTTGCTAAA GATTATTAAC TACAAAACGC	420
	TCATTGGCAT TATTTTAAT GGCAGAAGTT GATATTCTA TATTAAGTAT GGTTCCAAGA	480
20		
	GAATATTTTC ATCCTAAACC TAGAGTGAAT AGCTCACTTA TCAGATTAAC TAGAAAAAAA	540
25	TCAAGAATAT CACACAAAGA TAAACAGAAG TATAATTATT TCGTTATGAA ATGGGTTAAC	600
	AAAGAATACA AGAAAATATT TACAAAAAAT CAATTTAACCA ATTCCCTAAA ACATGCAGGA	660
30	ATTGACGATT TAAACAAATAT TAGCTTTGAA CAATTCTTAT CTCTTTCAA 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:

50

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	ATGAATAAAA TAAAAGTCGC AATTATCTTC GGCGGTTGCT CGGAGGAACA TGATGTGTCG	60
5	GTAAAATCCG CAATAGAAAT TGCTGCGAAC ATTAATACTG AAAAATTCGA TCCGCAC TAC	120
	ATCGGAATT AAAAAACGG CGTATGGAAG CTATGCAAGA AGCCATGTAC GGAATGGGAA	180
	GCCGATAGTC TCCCCGCCAT ATTCTCCCCG GATAGGAAAA CGCATGGTCT GCTTGTCA TGC	240
10	AAAGAAAAGAG AATACGAAAC TCGGCGTATT GACGTGGCTT TCCC GGTTTT GCATGGCAA	300
	TGCGGGGAGG ATGGTGCAT ACAGGGTCTG TTTGAATTGT CTGGTATCCC CTATGTAGGC	360
15	TGCGATATT CAAAGCTCCGC AGCTTGATG GACAAATCAC TGGCCTACAT TCTTACAAA	420
	AATGCGGGCA TCGCCGTCCC CGAATTCAA ATGATTGAAA AAGGTGACAA ACCGGAGGGC	480
20	AGGACGCTTA CCTACCCTGT CTTTGTGAAG CCGGCACGGT CAGGTCGTC CTTTGGCGTA	540
	ACCAAAGTAA ACAGTACGGA AGAACTAAC GCTGCGATAG AAGCAGCAGG ACAATATGAT	600
	GGAAAAATCT TAATTGAGCA AGCGATTTCG GGCTGTGAGG TCGGCTGCGC GGT CATGGGA	660
25	AACGAGGATG ATTTGATTGT CGCGAAGTG GATCAAATCC GGTTGAGCCA CGGTATCTTC	720
	CGCATCCATC AGGAAAACGA GCCGGAAAAA GGCTCAGAGA ATGCGATGAT TATCGTTCCA	780
30	GCAGACATT CCGTCGAGGA ACGAAATCGG GTGCAAGAAA CGGCAAAGAA AGTATATCGG	840
	GTGCTGGAT GCAGAGGGCT TGCTCGTGT GATCTTTTT TGCA GGAGGA TGGCGGCATC	900
35	GTTCTAACG AGGTCAATAC CCTGCCGGT TTTACATCGT ACAGCCGCTA TCCACGCATG	960
	GCGGCTGCCG CAGGAATCAC GCTTCCGCA CTAATTGACA GCCTGATTAC ATTGGCGATA	1020
40	<b>GAGAGGTGA</b>	<b>1029</b>

(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

	ATGAAAAAAA TTGCCGTTT ATTTGGAGGG AATTCTCCAG AATACTCACT GTCACTAAC	60
5	TCAGCAGCAA GTGTGATCCA AGCTATTGAC CCGCTGAAAT ATGAAGTAAT GACCATTGGC	120
	ATCGCACCAA CAATGGATTG GTATTGGTAT CAAGGAAACC TCGCGAATGT TCGCAATGAT	180
10	ACTTGGCTAG AAGATCACAA AAACGTACAC CAGCTGACTT TTTCTAGCCA AGGATTTATA	240
	TTAGGAGAAA AACGAATCGT CCCTGATGTC CTCTTCCAG TCTTGATGG GAAAGTATGGC	300
	GAGGATGGCT GTATCCAAGG ACTGCTTGAA CTAATGAACC TGCCTTATGT TGGTTGCCAT	360
15	GTCGCTGCCT CCGCATTATG TATGAACAAA TGGCTCTTGC ATCAACTTGC TGATACCATG	420
	GGAATCGCTA GTGCTCCCAC TTTGCTTTA TCCCGCTATG 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 TGTCCCAGCA	780
30	CCATTGCCTC TCGCGCTTGA ATCACAGATC AAGGAGCAGG CACAGCTGCT TTATCGAAC	840
	TTGGGATTGA CGGGTCTGGC TCGAATCGAT TTTTCGTCA CCAATCAAGG AGCGATTTAT	900
35	TTAAACGAAA TCAACACCAT GCCGGGATTT ACTGGGCACT CCCGCTACCC AGCTATGATG	960
	GCGGAAGTCG GGTTATCCTA CGAAATATTA GTAGAGCAAT TGATTCGACT GGCAGAGGAG	1020
	<b>GACAAACGAT G</b>	<b>1031</b>
40		

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 118:

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

60

65

ES 2 329 202 T3

	TGGTGCTATC TTAGTAGTAT CTGCAGCTGA TGGTCCAATG CCTCAAACAC GTGAACACAT	60
5	CTTATTATCA CGTCAAGTAG GTGTTCCCTA CATCGTTGTA TTCTTAAACA AAGTTGACAT	120
	GGTTGACGAT GAAGAATTAT TAGAATTAGT AGAAATGGAA GTTCGTGACT TATTATCAGA	180
10	ATACGATTTG CCAGGCGATG ACACCTCCAGT TGTTGCAGGT TCTGCTTTAC GCGCTTTAGA	240
	AGGCGACGCT TCATAACRAAG AAAAAATCTT AGAATTAAATG GCTGCTGTTG ACGAATAACAT	300
15	TCCAACCTCCA GAACGYGACG TTGACAAACC ATTCAATGATG CCAGTTGAAG ACGTGTCTC	360
	AATCACAGGT CGTGGTACTG TTGCTACAGG TCGTGTGAA CGTGGACAAG TTCGTGTTGG	420
20	TGACGAAGTT GAAATCGTTG GTATTCAGA AGAAAATTCA AAAACAACGT TAATCGGTGT	480
	TGAAATGTTG CGTAAATTGT TAGACTACGC TGAAGCAGGG GATAACATTG GTACATTATT	540
25	ACGTGGTGTG ACACGTGACA ACATCGAACG TGGACAAGTT CTTGCTAAC CAGGAACAAT	600
	CACTCCACAT ACTAAATTCA AAGCTGAAGT TTACGTATTA ACTAAAGAAG AAGGTGGACG	660
	TCATACTCCA TTCTTCTCTA ACTACCGTCC TCAATTCTAC TTCCGTACAA CAGACATCAC	720
	TGGTGTGTTGT GTGTTACCAAG AAGGCAGTGA AATGGTAATG CCTGGTGATA ACGTAACATAT	780
30	GGAAGTTGAA TTAATTCAACC 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: <i>Abiotrophia defectiva</i>      |
|    | (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 119: |

50

55

60

65

ES 2 329 202 T3

5	CGGCGCGATC CTCGTTGTAT CTGCTGCTGA CGGCCAATG CCACAAACTC GTGAACACAT	60
	CCTCTTGTCT CGTCAAGTTG GTGTTCTTA CATCGTAGTA TTCTTGAAACA AAGTTGACAT	120
10	GGTTGACGAC GAAGAATTGC TCGAATTAGT TGAAATGGAA GTTCGTGACC TCTTGTCTGA	180
	ATACGACTTC CCAGGCAGC ACACCCAGT TATCGCTGGT TCAGCTTGA AAGCTTTAGA	240
15	AGGCGACGCT AACTACGAAG CTAAAGTTT AGAATTGATG GAACAAGTTG ATGCTTACAT	300
	TCCAGAACCA AACGTGACA CTGACAAGCC ATTCAATGATG CCAGTCGAAG ACGTATTCTC	360
20	TATCACTGGT CGTGGTACTG TTGCAACTGG TCGTGTGAA CGTGGTCAAG TTCCGTTGG	420
	TGACGAAGTT GAAATCGTTG GTATCGAAGA AGAAACTTCT AAGACTACCG TTACCGGTGT	480
25	TGAAATGTT CGTAAGTTAT TGGATTACGC TGAAGCTGGG GACAACGTTG GTACCTTGT	540
	ACGTGGTGTAACTCGTACCC AAATCCAACG TGGTCAAGTA TTATCTAAC CAGGTTCAAT	600
30	CACTCCGYAC ACTAAGTTCG AAGCTGAAGT GTACGTATTG TCTAAAGAAG AAGGTGGTCG	660
	TCACACTCCA TTCTTCTCTA ACTACCGTCC ACAATTCTAC TTCCGTACAA CTGACGTAAC	720
	TGGTGTGTT ACTTTACCAAG AAGGTACTGA AATGGTTATG CCAGGGGACA ACGTACAAAT	780
35	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

40 45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Candida albicans*

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

55

60

65

# ES 2 329 202 T3

	CTCTGTCAAA TGGGACAAAA ACAGATTGA AGAAATCATC AAGGAAACCT CCAACTTCGT	60
5	CAAGAAGGTT GGTTACAACC CAAAGACTGT TCCATTCGTT CCAATCTCTG GTTGGAAATGG	120
	TGACAAACWTG ATTGAASCAT CCACCAAATG TCCATGGTAC AAGGGTTGGG AAAAGGAAAC	180
10	CAAATCCGGT AAGGTTACTG GTAAGACCTT GTTAGAAGCT ATTGACGCTA TTGAACCACC	240
	AACCAGACCA ACCGACAAAC CATTGAGATT GCCATTRCAA GATGTTACA AGATCGGTGG	300
15	TATTGGTACT GTGCCAGTCG GTAGAGTTGA AACTGGTATC ATCAAAGCCG GTATGGTWGT	360
	TACTTTCGCC CCAGCTGGTG TTACCACTGA AGTCAARTCC GTTGAATGC ATCACGAACA	420
20	ATTGGCTGAA GGTGTTCCAG GTGACAATGT TRGTTTCAAC GTTAAGAACR TTTCCGTTAA	480
	AGAAATTAGA AGAGGTAACG TTTGTGGTGA CTCCAAGAAC GATCCACCAA AGGGTTGTGA	540
25	CTCTTTCAAT GCCCAAGTCA TTGTTTGAA CCATCCAGGT CAAATCTCTG CTGGTTACTC	600
	TCCAGTCTTG GATTGTCACR CTGCCACAT TGCTTGTAAA TTCGACRCTT TGGTTGAAAA	660
30	GATTGACAGA AGAACTGGTA AGRAATTGGA AGAAAATCCA AAATTCGTCA AATCCGGTGA	720
	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

5	TCTGTCAAGT GGGATGAATC CAGATTGCT GAAATCGTTA AGGAAACCTC CAACTTCATC	60
	AAGAAGGTG GTTACAACCC AAAGACTGTT CCATTCGTCC CAATCTCTGG TTGGAACGGT	120
	GACAACATGA TTGAAGCCAC CACCAACGCT TCCTGGTACA AGGGTTGGGA AAAGGAAACC	180
10	AAGGCTGGTG TCGTCAAGGG TAAGACCTTG TTGGAAGCCA TTGACGCTAT CGAACCCACCA	240
	ACCAGACCAA CTGACAAGCC ATTGAGATTG CCATTGCAAG ATGTCTACAA GATCGGTGGT	300
	ATCCGTACGG TGCCAGTCGG TAGAGTCGAA ACCGGTGTCA TCAAGCCAGG TATGGTTGTT	360
15	ACCTTCGCCCG CAGCTGGTGT TACCACTGAA GTCAAGTCCG TTGAAATGCA CCACGAACAA	420
	TTGACTGAAG GTTGCAGG TGACAACGTT GGTTCAACG TTAAGAACGT TTCCGTTAAG	480
	GAAATCAGAA GAGGTAATGT CTGTGGTGAC TCCAAGAACG ACCCACAAA GGCTGCTGCT	540
20	TCTTTCAACG CTACCGTCAT TGTCTTGAAAC CACCCAGGTC AAAATCTCTGC TGGTTACTCT	600
	CCAGTTTTGG ACTGTCACAC CGCCCACATT GCTTGTAAGT TCGAAGAATT GTTGGAAAAG	660
25	AACGACAGAA GATCCGGTAA GAAGTTGAA GACTCTCCAA AGTTCTTGAA GTCCGGTGAC	720
	GCTGCTTTGG TTAAGTTCGT TCCATCCAAG CCA	753

30 (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

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

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Candida krusei*

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

50

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	CCGTTAAGTG GGATGAAAAC AGATTGAAAG AAATTGTCAA GGAAACCCAA AACTTCATCA	60
5	AGAAGGTTGG TTACAACCCA AAGACTGTT CATTGTTCC AATCTCTGGT TGGAATGGTG	120
	ACAACATGAT TGAAGCATCC ACCAACTGTC CATGGTACAA GGGTTGGACT AAGGAAACCA	180
	AGGCAGGTGT TGTAAAGGGT AAGACCTTAT TAGAAGCAAT CGATGCTATT GAACCACCTG	240
10	TCAGACCAAC CGAAAAGCCA TTAAGATTAC CATTACAAGA TGTITACAAG ATTGGTGGTA	300
	TTGGTACTGT GCCACTCGGT AGAGTCGAAA CCGGTGTCAT TAAGCCAGGT ATGGTTGTCA	360
15	CTTTTGCTCC AGCAGGTGTC ACCACCGAAG TCAAATCCGT TGAAATGCAC CATGAACAAT	420
	TAGAACAAAGG TGTCCAGGT GATAACGTTG GTTCAACGT TAAGAACGTY TCTGTCAAGG	480
	ATATCAAGAG AGGTAACGTT TGTGGTGAET CCAAGAACGA CCCACCAATG GGTGCAGCTT	540
20	CTTTCAATGC TCAAGTCATT GTCTTGAACC ACCCTGGTCA AATTTCCGCT GTTACTCTC	600
	CAGTCTTGGA TTGTCACACT GCCCACATTG CATGTAAGTT CGACGAATTATCGAAAAGA	660
25	TTGACAGAAG AACTGGTAAG TCTGTTGAAG ACCATCCAAA GTCYGTCAAG TCTGGTGATG	720
	CAGCTATCGT CAAGATGGTC CCAACCAAGC CA	752

30 (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

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

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Candida parapsilosis*

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

	CTCAGTCAAA TGGGACAAGA RCAGATACGA AGAAATTGTC AAGGAAACTT CCAACTTCGT	60
50	CAAGAAGGTT GGTTACAACC CTAAAGCTGT CCCATTGTC CCAATCTCTG GTTGGAACGG	120
	TGACAATATG ATTGAACCAT CAACCAACTG TCCATGGTAC AAGGGTTGGG AAAAGGAAAC	180
55	TAAAGCTGGT AAGGTTACCG GTAAGACCTT GTTGGAGCT ATCGATGCTA TCGARCCACC	240

60

65

ES 2 329 202 T3

AACCAGACCA	ACTGACAAGC	CATTGAGATT	GCCATTGCAA	GATGTCTACA	AGATGGTGG	300	
TATTGGAACT	GTGCCAGTTG	GTAGAGTTGA	AACCGGTATC	ATCAAGGCTG	GTATGGTTGT	360	
5	TACTTTGCC	CCAGCTGGTG	TTACCACTGA	AGTCAGTCC	GTTGAAATGC	ACCACGAACA	420
ATTGACTGAA	GGTGTCCCAG	GTGACAATGT	TGGTTTCAAC	GTCAAGAACG	TTTCAGTTAA	480	
10	GGAAATCAGA	AGAGGTAACG	TYTGTGGTGA	CTCCAAGAAC	GATCCACCAA	AGGGATGTGA	540
YTCCTTCAAT	GCTCAAGTTA	TTGTCTGAA	CCACCCAGGT	CAAATCTCTG	CTGGTTACTC	600	
15	ACCAAGTCTTG	GATTGTCACA	CTGCCACAT	TGCTTGAAA	TTCGACACTT	TGATTGAAAA	660
GATTGACAGA	AGAACCGGT	AGAAATTGGA	AGWTGAACCA	AAATTCATCA	AGTCGGTGA	720	
20	TGCTGCYATC	GTCAAGATGG	TCCCAACCAA	GCC		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	CAGATTGAA	GAAATTATCA	AGGAAACYTC	TAACTTCGTC	60	
40	AAGAAGGTTG	GTTACAACCC	TAAGGCTGTT	CCATTCTGTC	CAATCTCWGG	TTGGAATGGT	120
GACAACATGA	TTGAAGCTTC	TACCAACTGT	CCATGGTACA	AGGGTTGGGA	AAAAGAAACC		180
45	AAGGCTGGTA	AGGTTACCGG	TAAGACTTTG	TTGGAAGCCA	TTGATGCTAT	TGAACCACCT	240
TCAAGACCAA	CTGACAAGCC	ATTGAGATTG	CCATTGCAAG	ATGTTACAA	GATTGGTGGT		300
50	ATTGGTACTG	TGCCAGTCGG	TAGAGTTGAA	ACTGGTGTCA	TCAAAGCCGG	TATGGTTGTT	360
ACTTTGCC	CAGCTCGTGT	TACCACTGAA	GTCAAATCCG	TYGAAATGCA	CCACGAACAA		420
55	TTGGCTGAAG	GTGTCCCAGG	TGACAATGTT	GGTTTCAACG	TTAAGAACGT	TTCTGTTAAA	480
GAAATTAGAA	GAGGTAACGT	TTGTGGTGAC	TCCAAGAACG	ATCCACCAA	GGGTGTGAC		540
60	TCTTTCAACG	CTCAAGTTAT	TGTCTTGAAAC	CACCCAGGTC	AAATYTCTGC	TGGTTACTCT	600
CCAGTCTTGG	ATTGTCACAC	TGCTCATATT	GCTTGTAAAT	TCGACACCTT	GGTTGAAAAG		660
ATTGACAGAA	GAACGGTAA	GAAATTGGAA	GAAAATCCAA	AATTGTCAA	ATCCGGTGAT		720
65	GCTGCTATTG	TCAAGATGGT	TCCAACCAA	CCA			753

ES 2 329 202 T3

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 125:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
5 (A) LONGITUD: 814 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: doble  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:  
15 (A) ORGANISMO: *Corynebacterium accolens*  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 125:

CGGCCTATC	CTGGTTGTTG	CTGCAACCGA	TGGCCCGATG	CCGCAGACCC	GCGAGCACGT	60
TCTGCTTGCT	CGCCAGGTTG	GGGTTCCCTTA	CATCCTCGTT	GCACTGAACA	AGTGGGACAT	120
GGTTGATGAT	GAGGAAATCA	TCGAGCTCGT	GGAGATGGAG	ATCTCCGAGC	TGCTCGCAGA	180
25 GCAGGACTAC	GATGAGGAAG	CTCCTATCGT	TCACATCTCC	GCTCTGAAGG	CACTCGAGGG	240
TGACCGAGAAG	TGGGTACAGT	CCATCGTTGA	CCTGATGGAT	GCCTGCGACA	ACTCCATCCC	300
30 TGATCCGGAG	CGCGCTACCG	ATCAGCCGTT	CTTGATGCC	ATCGAGGACA	TCTTCACCAT	360
TACCGGCCGC	GGTACCGTTG	TTACCGGCCG	TGTTGAGCGT	GGTCGCTGA	ACGTCAACGA	420
35 GGACGTTGAG	ATCATCGGT	TCCAGGAGAA	GTCCCAGAAC	ACCACCGTTA	CCGGTATCGA	480
GATGTTCCGC	AAGATGATGG	ACTACACCGA	GGCTGGCGAC	AACTGTGGTC	TGTTCTGCG	540
TGGTACCAAG	CGTGAGGACG	TTGAGCGTGG	CCAGGTTGTT	ATCAAGCCGG	GCGCTTACAC	600
40 CCCTCACACC	AAGTCGAGG	GTTCCGTCTA	CGTCCTGAAG	AAGGAAGAGG	GCGGCCGCCA	660
CACCCCGYTC	ATGAACAACT	ACCGTCCTCA	GTTCTACTTC	CGCACCAACCG	ACGTTACCGG	720
45 TGTTGTGAAC	CTGCCTGAGG	GCACCGAGAT	GGTTATGCCT	GGCGACAACG	TTGAGATGTC	780
TGTTGAGCTC	ATCCAGCCTG	TTGCTATGGA	CGAG			814

50 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 126:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:  
55 (A) LONGITUD: 814 pares de bases  
(B) TIPO: ácido nucleico  
(C) CADENA: doble  
(D) TOPOLOGÍA: lineal  
60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)  
(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:  
65 (A) ORGANISMO: *Corynebacterium diphtheriae*  
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 126:

ES 2 329 202 T3

5	CGCGCGCAATC CTCGTTGTTG CTGCCACCGA CGGCCCAATG CCTCAGACCC GTGAGCACGT	60
	TCTGCTCGCT CGCCAGGTCTG GCGTTCTTA CATCCTCGTT GCTCTGAACA AGTGCACAT	120
	GGTTGATGAT GAGGAAATCA TCGAGCTCGT CGAGATGGAG ATCCRTGAGC TGCTCGCTGA	180
10	GCAGGGATTAC GACGAAGAGG CTCCAATCAT CCACATCTCC GCACTGAAGG CTCTGAGGG	240
	CGACGAGAAG TGGACCCAGT CCATCATCGA CCTCATGCAG GCTTGCKATG ATTCCATCCC	300
	AGACCCAGAG CGTGAGACCG ACAAGCCATT CCTCATGCCT ATCGAGGACA TCTTCACCAT	360
15	CACCGGCCGC GGTACCGTTG TTACCGGCCG TGTTGAGCGT GGCTCCCTGA AGGTCAACGA	420
	GGACGTCGAG ATCATCGGA TCCCGAGAA KGCTACCACC ACCACCGTTA CCGGTATCGA	480
20	GATGTTCCGT AAGCTTCTCG ACTACACCGA GGCTGGCGAC AACTGTGGTC TGTTCTCCG	540
	TGGCGTTAAG CGCGAAGACG TTGAGCGTGG CCAGGTTGTT GTTAAGCCAG GCGCTTACAC	600
	CCCTCACACC GAGTCGAGG GCTCTGTCTA CGTTCTGTCC AAGGACGAGG GTGGCCGCCA	660
25	CACCCCATTC TTCGACAACT ACCGCCACCA GTTCTACTTC CGCACCAACCG ACGTTACCGG	720
	TGTTGTGAAG CTTCCTGAGG GCACCGAGAT GGTCAATGCCT GGCGACAAACG TCGACATGTC	780
30	<b>CGTCACCCCTG ATCCAGCCCTG TCGCTATGGA TGAG</b>	<b>814</b>

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 127:

- |    |                                                  |
|----|--------------------------------------------------|
| 35 | (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:             |
|    | (A) LONGITUD: 814 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: <i>Corynebacterium genitalium</i> |
| 50 | (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 127: |

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	CGCGGCCATC CTGGTTGTTG CTGCAACCGA TGGCCCGATG CCGCAGACCC GTGAGCACGT	60
5	TCTGCTGGCT CGCCAGGTTG GCGTTCCGTA CATCCTAGTT GCACTGAACA AGTGCACAT	120
	GGTTGATGAT GAGGAGCTGC TGGAGCTCGT CGAGATGGAG GTCCCGGAGC TGCTGGCTGA	180
10	GCAGGACTTC GACGAGGAAG CACCTGTTGT TCACATCTCC GCACTGAAGG CCCTGGAGGG	240
	CGACGAGAAAG TGGGCTAACG AGATCCTGGA GCTCATGGAG GCTTGCGACA ACTCCATCCC	300
15	GGATCCGGAG CGCGAGACCG ACAAGCCGTT CCTGATGCCG GTTGRGGACA TCTTCACCAT	360
	TACCGGCCGC GGTACCGTTG TTACCGGCCG TGTTGAGCGT GGCGTCCCTGA ACCTGAACGA	420
20	CGAGGTCGAG ATCCTGGCA TCCGCGAGAA GTCCACCAAG ACCACCGTTA CCTCCATCGA	480
	GATGTTAAC AAGCTGCTGG ACACCGCAGA GGCTGGCGAC AACGCCGCAC TGCTGCTGCG	540
	TGGCCTGAAG CGCGAAGATG TTGAGCGTGG TCAGATCGTT GCTAAGCCGG GCGAGTACAC	600
25	CCCGCACACC GAGTTCGAGG GCTCCGTCTA CGTTCTGTCC AAGGACGAGG GTGGCCGCCA	660
	CACCCCGTTC TTCGACAAC ACCGTCCGCA GTTCTATITTC CGCACCAACCG ACGTTACCGG	720
	TGTTGTGAAG CTGCCGGAGG GCACCGAGAT GTTATGCCG GGCGACAACG TTGACATGTC	780
30	CGTCACCCCTG 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
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
  - (A) ORGANISMO: *Corynebacterium jeikeium*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 128:

55

60

65

# ES 2 329 202 T3

	CGCGGCCATC CTGGTTGTTG CCGCAACCGA TGGCCCGATG CCGCAGACCC GCGAGCACGT	60
5	TCTGCTGGCY CGCCAGGTTG GCGTTCCGTA CATCCTGGTT GCACTGAACA AGTGTGACAT	120
	GGTTGACGAT GAGGAGCTGC TGGAGCTCGT CGAGATGGAG GTCCGGCGAGC TGCTGGCTGA	180
10	GCAGGACTTC GACCGAGGAAG CTCCGGTTGT TCACATCTCC GCACTGAAGG CCCTGGAGGG	240
	CGACGAGAAG TGGGCTAACCG AGATTCTCGA GCTGATGCAG GCTTGCGACG AGTCTATCCC	300
15	GGATCCGGAG CGCGAGACCG ACAAGCCGTT CCTGATGCCG GTTGWGGACA TCTTCACCAT	360
	TACCGGTGCG GGTACCGTTG TTACCGGCCG TGTTGAGCGT GGCATCCTGA ACCTGAACGA	420
20	CGAGGTTGAG ATCCTGGGTAA CCGCGAGAA GTCCCAGAAG ACCACCGTTA CCTCCATCGA	480
	GATGTTCAAC AAGCTGCTGG ACACCGCAGA GGCTGGCRAC AACGCTGCAC TGCTGCTGCG	540
25	TGGTCTGAAG CGCGAGGACG TTGAGCGTGG CCAGATCATC GCTAAGCCGG GCGAGTACAC	600
	CCCGCACACC GAGTCGAGG GCTCCGTCTA CGTTCTGTCC AAGGACGAGG GCGGCCGCCA	660
	CACCCCGTTC TTCGACAACT ACCGTCCGCA GTTCTACTTC CGCACCAACCG ACGTTACCGG	720
30	 TGTTGTGAAG CTGCCTGAGG GCACCGAGAT GGTTATGCCG GGCGACAAACG TYGACATGTC	780
	CGTCACCCCTG ATCCAGCCGG TTGCTATGGA CGAG	814

- 35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 129:
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
    - 40 (A) LONGITUD: 748 pares de bases
    - (B) TIPO: ácido nucleico
    - (C) CADENA: doble
    - (D) TOPOLOGÍA: lineal
  - 45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
  - (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
    - 50 (A) ORGANISMO: *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*
  - (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 129:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

5	CGGCGCTATC TTGGTTGTTG CAGCTACCGA CGGCCCAATG CCACAGACTC GCGAGCACGT	60
	TCTGCTGGCT CGCCAGGTTG GCGTTCCTTA CATCCTGGTT GCACTAAACA AGTGCGACAT	120
	GGTTGACGAC GAGGAAATCC TCGAGCTCGT CGAGATGGAG ATCCGGAAT TGCTGGCTGA	180
10	CCAGGAATTG GACGAAGAAG CTCCAATCGT TCACATCTCC GCAGTCGGCG CCTTGGAAAGG	240
	CGAAGAGAGG TGGGTTAACG CCATCGTTGA ACTGATGGAT GCTTGTGACG AGTCGATCCC	300
	TGATCCAGAC CGTGCTACCG ACAAGCCATT CCTGATGCCT ATCGAGGACA TCTTCACCAT	360
15	TACCGGTCGT GGCACCGTTG TTACGGTCG TGTTGAGCGT GGTTCCCTGA AGGTCAACGA	420
	AGAAGTCGAG ATCATCGGCA TCAAGGAAAA GTCCCAGAAG ACCACCATCA CCGGTATCGA	480
20	AATGTTCCGC AAGATGCTGG ACTACACCGA GGCCGGCGAC AACGCTGGTC TGCTGTTCG	540
	CGGTACCAAG CGTGAAGACG TTGAGCGTGG ACAGGTTATC GTTGCTCCAG GTGCTTACAG	600
	CACCCACAAG AAGTTCGAAG GTTCCGTCTA CGTTCTTTCC AAGGACGAGG GCGGCCGCCA	660
25	CACCCCGTTC TTCGACAACT ACCGTCCCTA GTTCTACTTC CGCACCAACCG ACGTTACCGG	720
	TGTTGTTACC CTGCCTGAGG GCACCGAG	748

30

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 130:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

35

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

40

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

45

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Corynebacterium striatum*

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

50

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	GGCGCTATCT TGGTTGTTGC TGCAACCGAT GGCCCRTGC CGCAGACCCG CGAGCACGTT	60
5	CTTCTGGCTC GCCAGGTTGG CGTTCTTAC ATCCTCGTTG CACTGAACAA GTCGGACATG	120
	GTTGACGACG AGGAAATTAT CGAGCTCGTC GAGATGGAGA TCCGCGAACT GCTCGCAGAG	180
10	CAGGACTACG ATGAGGAAGC TCCGATCGTT CACATCTCTG CTCTGAAGGC TCTTGAGGGC	240
	GRCGAGAAAGT GGGTACAGGC TATCGTTGAC CTGATGCAGG CTTGCGATGA CTCCATCCCG	300
	GATCCGGAGC GCGAGCTGGA CAAGCCGTTG CTGATGCCAA TCGAGGACAT CTTCACCATC	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 TGAGCGCGC CAGGTTGTTA TTAAGCCCCG CGCTTACACC	600
25	CCTCACACCC AGTCGAGGG TTCCGTCTAC GTCCTGAAGA AGGAAGAGGG CGGCCGCCAC	660
	ACCCCGTTCA TGGACAACTA CCGTCCGCGAG TTCTACTTCC GCACCACCGA CGTTACCGGC	720
	GTCATCAAGC TGCCTGAGGG CACCGAGATG GTTATGCCTG GCGACAAACGT CGAGATGTCTY	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
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 40 (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- 45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Enterococcus avium*
- 50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 131:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

5	CGGAGCTATC TTAGTAGTAT CTGCTGCTGA TGGCCCTATG CCTCAAACTC GTGAACACAT	60
	CTTGTATCT CGTAACGTTG GTGTCCTTA CATCGTTGTA TTCTTAAACA AAATGGATAT	120
	GGTTGACGAT GAAGAATTAC TTGAATTAGT TGAAATGGAA GTTCGTGACT TATTAACTGA	180
10	ATACGACTTC CCAGGCACG ACACCTCCAGT TATCGCAGGT TCAGCGTTGA AAGCTTACA	240
	AGGCACGCT TCATACGAAG AAAAAATCTT AGAATTAAATG GCTGCTGTTG ACGAATATAT	300
15	CCCAACACCA GTTCGTGATA CTGACAAACC ATTCACTGATG CCAGTCGAAG ACGTATTCTC	360
	AATCACTGGT CGTGGTACTG TTGCAACTGG TCGTGTTGAA CGTGGACAAG TTGCGTTGG	420
	TGACGAAGTT GAAATCGTAG GTATCGCTGA CGAAACTGCT AAAACAACG TTACAGGTGT	480
20	TGAAATGTT CGTAAATTGT TAGACTACGC TGAAGCAGGT GACAACATCG GTGCTTTGTT	540
	ACGTGGTGT GCACGTGAAG ATATCCAACG TGGACAAGTA TTGGCTAAC CAGCTTCAAT	600
25	CACTCCACAT ACAAAATTCT CTGCAGAACT TTATGTTCTA ACTAAAGAAG AAGGTGGACG	660
	TCATACTCCA TTCTTCACTA ACTACCGTCC TCAGTTCTAC TTCCGTACAA CTGACGTAAC	720
30	TGGTAGTT GATCTACCAAG AAGGTACTGA AATGGTWATG CCTGGGGATA ACGTAACATAT	780
	GGAAGTTGAA TTGATYCACC CAATYGCACG 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

5	CGGAGCTATC TTAGTAGTTT CTGCTGCTGA TGGTCCTATG CCTCAAACAC GTGAACATAT	60
	CTTATTATCA CGTAACGTTG GTGTACCATATA CATCGTTGTA TTCTTAAACA AAATGGATAT	120
	GGTTGATGAC GAAGAATTAT TAGAATTAGT AGAAATGGAA GTTCGTGACT TATTATCAGA	180
10	ATACGATTTCC CCAAGCGATG ATGTTCCAGT TATGCCAGGT TCTGCTTGA AAGCTTTAGA	240
	AGGCGACGAG TCTTATGAAG AAAAATCTT AGAATTAATG GCTGCAGTTG ACGAATATAT	300
	CCCAACTCCA GAACGTGATA CTGACAAACC ATTCAATGATG CCAGTCGAAG ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGA CGTGGTACTG TTGCTACAGG ACgtGTTGAA CGTGGTGAAG TTCCGGTTGG	420
	TGACGAAGTT GAAATCGTTG GTATTAAGA CGAACATCT AAAACAACYG TTACAGGTGT	480
20	TGAAATGTT CGTAAATTAT TAGACTACGC TGAAGCAGGC GACAACMTCG GTGCTTTATT	540
	ACGTGGTGTGTA GCACGTGAAG ATATCGAACG TGGACAAGTA TTAGCTAAAC CAGCTACAAT	600
	CACTCCACAC ACAAAATTCA AAGCTGAAGT ATACGTATTA TCAAAAGAAG AAGGCGGACG	660
25	TCACACTCCA TTCTTCACTA ACTACCGTCC TCAATTCTAC TTCCGTACAA CAGACGTTAC	720
30	TGGTGGTGTGTA GAATTGCCAG AAGGTACTGA AATGGTAATG CCTGGTGATA ACGTTGCTAT	780
	GGACGTTGAA TTAATTCAACC CAATCGCTAT CGAAGAC	817

35

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 133:

- 40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
  - (A) LONGITUD: 774 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- 45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
  - 50 (A) ORGANISMO: *Enterococcus faecium*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 133:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	CGGAGCTATC TTGGTAGTTT CTGCTGCTGA CGGCCAATG CCTCAAACTC GTGAACACAT	60
5	CCTATTGTCT CGTCAAGTTG GTGTTCTTA CATCGTTGTA TTCTTGAACA AAGTAGACAT	120
	GGTTGATGAC GAAGAATTAC TAGAATTAGT TGAAATGGAA GTTCGTGACC TATTAACAGA	180
10	ATACRAATTG CCTGGTGRCG ATGTTCTGT AGTTGCTGGA TCAGCTTGA AAGCTCTAGA	240
	AGGCAGCGCT TCATACGAAG AAAAAATTCT TGAATTAATG GCTGCAGTTG ACGAATACAT	300
	CCCAACTCCA GAACGTGACA ACGACAAACC ATTCAATGATG CCAGTTGAAG ACGTGTCTC	360
15	AATTACTGGA CGTGGTACTG TTGCTACAGG TCGTGTTGAA CGTGGACAAG TTCGCGTTGG	420
	TGACCGAAGTT GAAGTTGTTG GTATTGCTGA AGAAACTTCA AAAACAACAG TTACTGGTGT	480
20	TGAAATGTT CGTAAATTGT TAGACYACGC TGAAGCTGGA GACRACATTG GTGCTTACT	540
	ACGTGGTGT GCACGTGAAG ACATCCAACG TGGACAAGTT TTAGCTAAC CAGGTACAAT	600
	CACACCTCRT ACAAAATTCT CTGCAGAAGT ATACGTGTTG ACAAAAGAAG AAGGTGGACG	660
25	TCATACTCCA TTCTTCACTA ACTACCGTCC ACAATTCTAC TTCCGTACAA CTGACGTAAC	720
	AGGTGTTGTT GAATTACCAAG AAGGAACGTGA AATGGTCATG CCCGGTGACA ACGT	774

(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:

50

55

60

65

ES 2 329 202 T3

5	CGGTGCGATC TTAGTAGTAT CTGCTGCTGA CGGTCTATG CCTCAAACTC GTGAACACAT	60
	CTTGTATCA CGTAACGTTG GCGTACCAT A CATCGTTGTT TTCTTGAAACA AAATGGATAT	120
	GGTTGAYGAC GAAGAATTGC TAGAATTAGT TGAAATGGAA GTTCGTGACC TATTGTCTGA	180
10	ATATGACTTC CCAGGCCACG ATGTTCTGT AATGCCGGT TCTGCTTGA AAGCTCTGAA	240
	AGGAGATCCT TCATACGAAG AAAAATCAT GGAATTGATG GCTGCAGTTG ACGAATAACGT	300
	TCCAACCTCCA GAACGTGATA CTGACAAACC ATTCAATGATG CCAGTCGAAG ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGA CGTGGTACTG TTGCTACAGG CCGTGTGAA CGTGGACAAG TTCGCGTTGG	420
	TGATGAAGTA GAAATCGTTG GTATTGCTGA CGAAACTGCT AAAACAATG TAACAGGTGT	480
20	TGAAATGTTG CGTAAATTGT TAGACTATGC TGAAGCAGGG GATAACATG GTGCATTGCT	540
	ACGTGGGGTT GCTCGTGAAG ACATCCAACG TGGACAAGTA TTGGCTAAAG CTGGTACAAT	600
	CACACCTCAT ACAAAATTCA AAGCTGAAGT TTATGTTTG ACAAAAGAAG AAGGTGGACG	660
25	TCACACTCCA TTCTTCACTA ACTACCGTCC TCAGTTCTAC TTCCGTACAA CTGACGTAAC	720
	TGGTGTGTT GAATTACCAAG AAGGAACGTGA AATGGTGATG CCTGGCGACA ACGTGACCAT	780
30	<b>CGACGTTGAA TTGATRCACC CAATCGCTC</b>	<b>809</b>

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 135:

- |    |                                                  |
|----|--------------------------------------------------|
| 35 | (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:             |
|    | (A) LONGITUD: 823 pares de bases                 |
| 40 | (B) TIPO: ácido nucleico                         |
|    | (C) CADENA: doble                                |
|    | (D) TOPOLOGÍA: lineal                            |
| 45 | (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)            |
|    | (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:                       |
|    | (A) ORGANISMO: <i>Gardnerella vaginalis</i>      |
| 50 | (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 135: |

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	TGGCGCAATC CTCGTGGTTG CTGCTACCGA CGGTCCAATG GCTCAGACCC GTGAACACGT	60
5	CTTGCCTGCT AAGCAGGTGCG GCGTTCCAAA AATTCTTGTGTT GCTTTGAACA AGTGCAGATAT	120
	GGTTGACGAC GAAGAGCTTA TCGATCTCGT TGAAGAAGAG GTCCGTGACC TCCTCGAAGA	180
10	AAACGGCTTC GATCGCGATT GCCCAGTCYT CCGTACTTCC GCTTACGGCG CTTTGCATGA	240
	TGACGCTCCA GACCACGACA AGTGGGTAGA GACCGTCAAG GAACTCATGA AGGCTGTTGA	300
15	CGAGTACATC CCAACCCAA CTCACGATCT TGACAAGCCA TTCTTGATGC CAATCGAAGA	360
	TGTGTTCAACC ATCTCCGGTC GTGGTYCCGT TGTCACCGGT CGTGGTGAGC GTGGTAAGCT	420
20	CCCAATCAAC ACCCCAGTTG AGATCGTTGG TTTGCGCGAT ACCCAGACCA CCACCGTCAC	480
	CTCTATCGAG ACCTTCCACA AGCAGATGGA TGAGGCAGAG GCTGGCGATA ACACCTGGTCT	540
25	TCTTCTCCGC GGTATCAACC GTACCGACGT TGAGCGTGGT CAGGTTGTGG CTGCTCCAGG	600
	TTCTGTGACT CCACACACCA AGTCGAAGG CGAAGTTTAC GTCTTGACCA AGGACGAAGG	660
30	TGGCCGTCAC TCGCCATTCT TCTCCAACTA CCGTCCACAG TTCTACTTCC GTACCACCGA	720
	TGTTACTGGC GTTATCACCT TGCCAGACGG CATCGAAATG GTTCAGGCCAG GCGATCACGC	780
	AACCTTCACT GTTGAGTTGA TCCAGGCTAT CGCAATGGAA GAG	823

35 (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
- 40 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
  - (A) ORGANISMO: *Listeria innocua*
- 45 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 136:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

5	CGGAGCTATC TTAGTAGTAT CTGCTGCTGA TGGCCCAATG CCACAAACTC GTGAACATAT	60
	CTTACTTTCA CGTCAAGTTG GTGTTCCATA CATCGTTGTA TTCATGAACA AATGTGACAT	120
	GGTTGACGAT GAAGAATTAC TAGAATTAGT TGAAATGGAA ATTCTGTGATC TATTAACTGA	180
10	ATATGAATTTC CCTGGCGATG ACATTCTGT AATCAAAGGT TCAGCTCTTA AAGCACTTCA	240
	AGGTGAAGCT GACTGGGAAG CTAAAATTGA CGAGTTAACATG GAAGCTGTAG ATTCTTACAT	300
	TCCAACCTCCA AACCGTGATA CTGACAAACC ATTCTATGATG CCAGTTGAGG ATGTATTCTC	360
15	AATCACTGGT CGTGGAACAG TTGCAACTGG ACGTGTGAA CGTGGACAAAG TTAAAGTTGG	420
	TGACGAAGTA GAAGTTATCG GTATTGAAGA AGAAAGCAAA AAAGTAGTAG TAATGGAGT	480
20	AGAAATGTTC CGTAAATTAC TAGACTACGC TGAAAGCTGGC GACAACATTG GCGCACTTCT	540
	ACGTGGTGT GCTCGTGAAG ATATCCAACG TGGTCAAGTA TTAGCTAAC CAGGTTCGAT	600
	TACTCCACAC ACTAACTTCA AAGCTGAAAC TTATGTTTA ACTAAAGAAG AAGGTGGACG	660
25	TCACACTCCA TTCTTCAACA ACTACCGCCC ACAATTCTAT TTCCGTACTA CTGACGTAAC	720
30	 TGGTATTGTT ACACCTCCAG AAGGTACTGA AATGGTAATG CCTGGTGATA ACATTGAGCT	780
	TGCAGTTGAA CTAATTGCAC CAATCGCTAT CGAAGAC	817

35 (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
- 40 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
  - (A) ORGANISMO: *Listeria ivanovii*
- 45 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 137:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

5	CGGAGCTATC TTAGTAGTAT CTGCTGCTGA TGGTCCAATG CCACAAACTC GTGAACATAT	60
	TCTTACTTTC ACGTCAAGTT GGTGTTCCAT ACATCGTTGT ATTCAATGAAC AAATGTGACA	120
	TGGTTGACGA TGAAGAATTAA CTTGAATTAG TTGAAATGGA AATTCTGTAT CTATTAACATG	180
10	AAATATGAATT CCCTGGCGAC GACATTCTG TAATCAAAGG TTCAGCTCTT AAAGCACTTC	240
	AAGGTGAAGC TGATTGGAA GCTAAAATTG ACGAGTTAAAT GGAAGCTGTA GATTCTTACA	300
	TTCCAACCTCC AGAACGTGAT ACTGACAAAC CATTCAATGAT GCCAGTTGAG GAATGTATTCT	360
15	CAATCACTGG TCGTGGAAACA GTTGCAACTG GACGTGTTGA ACGTGGACAA GTTAAAGTTG	420
	GTGACQAAGT AGAAGTTATC GGTATTGAAG AAGAAAGCAA AAAAGTAGTA GTAATGGAG	480
20	TAGAAATGTT CCGTAAATTAA CTAGACTACG CTGAAGCTGG CGACAACATT GGCGCACTTC	540
	TACGTGGTGT TGCTCGTCAA GATATCCAAC GTGGTCAAGT ATTAGCTAAA CCAGGTTCGA	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	818

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 138:

- |    |                                                  |
|----|--------------------------------------------------|
| 35 | (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:             |
|    | (A) LONGITUD: 817 pares de bases                 |
| 40 | (B) TIPO: ácido nucleico                         |
|    | (C) CADENA: doble                                |
|    | (D) TOPOLOGÍA: lineal                            |
| 45 | (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)            |
|    | (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:                       |
|    | (A) ORGANISMO: <i>Listeria monocytogenes</i>     |
| 50 | (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 138: |

55

60

65

ES 2 329 202 T3

CGGAGCTATC TTAGTAGTAT CTGCTGCTGA TGGCCCAATG CCACAAACTC GTGAACATAT	60
5 CTTACTTTCA CGTCAAGTTG GTGTTCCATA CATCGTTGTA TTCATGAACA AATGTGACAT	120
GGTTGACGAT GAAGAATTAC TAGAATTAGT TGAAATGGAA ATTCTGTGATC TATTAACGTGA	180
10 ATATGAATTTC CCTGGCGATG ACATTCCTGT AATCAAAGGT TCAGCTCTTA AAGCACTTCA	240
AGGTGAAGCT GACTGGGAAG CTAAAATTGA CGAGTTAATG GAAGCTGTAG ATTCTTACAT	300
TCCAACCTCCW GAACGTGATA CTGACAAACC ATTCTATGATG CCAGTTGAGG ATGTATTCTC	360
15 AATCACTGGT CGTGGAACAG TTGCAACTGG ACGTGTGAA CGTGGACAAG TTAAAGTTGG	420
TGACGAAGTA GAAGTTATCG GTATCGAAGA AGAAAGCAAA AAAGTAGTAG TAAGTGGAGT	480
20 AGAAATGTTG CGTAAATTAC TAGACTACGC TGAAGCTGGC GACAACATTG GCGCACTTCT	540
ACGTGGTGTGTT GCTCGTGAAG ATATCCAAACR TGGTCAAGTA TTAGCTAAAC CAGGTTCGAT	600
TACTCCACAC ACTAACTTCA AAGCTGAAAC TTATGTTTA ACTAAAGAAG 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
- 40 (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

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

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Listeria seeligeri*

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

55

60

65

ES 2 329 202 T3

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

35

(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:

55

60

65

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 AAAAATCTT AGAATTARTG GAAGCTGTAG ATACTTACAT	300
TCCAACCTCCA GAACGTGATT CTGACAAACC ATTCAATGATG CCAGTTGAGG ACGTATTCTC	360
15 AATCACTGGT CGTGGTACTG TTGCTACAGG CCGTGTGAA CGTGGTCAA TCAAAGTTGG	420
TGAAGAAGTT GAAATCATCG GTTACATGA CACATCTAAA ACAACTGTTA CAGGTGTTGA	480
AATGTTCCGT AAATTATTAG ACTACGCTGA AGCTGGTGAC AACATTGGTG CATTATTACG	540
20 TGGTGTGCT CGTGAAGACG TACAACGTGG TCAAGTATTA GCTGCTCCTG GTTCAATTAC	600
ACCACATACT GAATTCAAAG CAGAAGTATA CGTATTATCA AAAGACGAAG GTGGACGTCA	660
25	
CACTCCATTC TTCTCAAACt ATCGTCCACA ATTCTATTTC CGTACTACTG ACGTAACGG	720
30 TGTTGTTCAC TTACCGAGAAG GTACTGAAAT GGTAATGCCT GGTGATAACG TTGAAATGAC	780
AGTAGAATTA ATCGCTCCAA TCGCGATTGA AGAC	814
35	

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 141:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
  - 40 (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:
  - 50 (A) ORGANISMO: *Staphylococcus epidermidis*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 141:

55

60

65

# ES 2 329 202 T3

	CGGCAGGTATC TTAGTTGTAT CTGCTGCTGA CGGTCCAATG CCACAAACTC GTGAACACAT	60
5	CTTATTATCA CGTAACGTTG GTGTACCAGC ATTAGTTGTA TTCTTAAACA AAGTTGACAT	120
	GGTAGACGAC GAAGAATTAT TAGAATTAGT TGAAATGGAA GTTCGTGACT TATTAAGCGA	180
10	ATATGACTTC CCAGGTGACG ATGTACCTGT AATCGCTGGT TCTGCATTAA AAGCATTAGA	240
	AGGCGATGCT GAATACGAAC AAAAATCTT AGACTTAATG CAAGCAGTTG ATGATTACAT	300
	TCCAACTCCA GAACGTGATT CTGACAAACC ATTCACTGATG CCAGTTGAGG ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGT CGTGGTACTG TTGCTACAGG CCGTGTGAA CGTGGTCAA TCAAAGTWGG	420
	TGAAGAAGTT GAAATCATCG GTATGCACGA AACTTCTAAA ACAACTGTTA CTGGTGTAGA	480
20	AATGTTCCGT AAATTATTAG ACTACGCTGA AGCTGGTGAC AACATCGGTG CTTTATTACG	540
	TGGTGTGCA CGTGAAGACG TACAAACGTGG TCAAGTATTA GCTGCTCCTG GTTCTATTAC	600
	ACCACACACA AAATTCAAAG CTGAAGTATA CGTATTATCT AAAGATGAAG GTGGACGTCA	660
25	CACTCCATTC TTCACTAACT ATCGCCCCACA ATTCTATTTC CRTACTACTG ACGTAACGTGG	720
	TGTTGTAAAC TTACCAAGAAG GTACAGAAAT GGTTATGCCT GGCGACAACG TTGAAATGAC	780
30	<b>AGTTGAATTA ATCGCTCCAA TCGCTATCGA AGAC</b>	<b>814</b>

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 142:

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

55

60

65

# ES 2 329 202 T3

5	CGGAGCTATC TTAGTAGTAT CTGCTGCTGA TGGCCCAATG CCACAAACTC GTGAACACAT	60
	TCTTTATCA CGTRACGTTG GTGYTCCAGC ATTAGTTGTA TTCTTAAACA AAGTTGACAT	120
	GGTTGACGAY GAAGAATTAT TAGAATTRGT AGAAATGGAA GTTCGTGRCT TATTAAGCGA	180
10	ATATGACTTC CCAGGTGACG ATGTACCTGT AATCTCTGGT TCTGCATTA AAGCTTACA	240
	AGGCGACGCT GACTATGAGC AAAAAATCTT AGACTTAATG CAAGCTGTTG ATGACTYCAT	300
	TCCAACACCA AACGTGATT CTGACAAACC ATTCAATGATG CCAGTTGAGG ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGT CGTGGTACTG TTGCTACAGG CCGTGGTCAA TCAAAGTCGG	420
	TGAAGAAATC GARATCATCG GTATGCAAGA AGAACAAAGC AAAACAATG TTACTGGTGT	480
20	AGAAATGTTG CGTAAATTAT TAGACTACGC TGAAGCTGGT GACAACATTG GTGCATTATT	540
	ACGTGGTGT TCACGTGATG ATGTACAACG TGGTCAAGTT TTAGCTGCTC CTGGTACTAT	600
	CACACCACAT ACAAAATTCA AAGCGGATGT TTACGTTTA TCTAAAGATG AAGGTGGTCG	660
25	TCATAACGCCA TTCTTCACTA ACTACCGCCC ACAATTCTAT TTCCGTACTA CTGACGTAAC	720
	TGGTGGTGT AACTTACCAAG AAGGTACTGA AATGGTTATG CCTGGCGATA ACGTTGAAAT	780
30	GGATGTTGAA TTAATTCTC 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: <i>Staphylococcus simulans</i>	
	(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 ATGTACCA GT TATCGTTGGT TCTGCATTAA AAGCTTTAGA	240
AGGCGACCCA GAATACGAAC AAAAATCTT AGACTTAATG CAAGCTGTAG ATGACTACAT	300
5 CCCAACTCCA GAACGTGACT CTGATAAACCC ATTCAATGATG CCAGTTGAGG ACGTATTCTC	360
AATCACTGGT CGTGGTACTG TAGCAACAGG CCGTGGTGA CGTGGTCAA TCAAAGTCGG	420
10 TGAAGAAGTT GAAATCATCG GTATCACTGA AGAAAGCAAG AAAACACAG TTACAGGTGT	480
AGAAAATGTT CGTAAATTAT TAGACTACGC TGAAGCTGGT GACAACATCG GTGCTTTATT	540
15 ACGTGGTGGT GCACGTGAAG ACGTACAACG TGGACAAGTA TTAGCAGCTC CTGGCTCTAT	600
TACTCCACAC ACAAAATTCA AAGCTGATGT TTACGTTTTA TCTAAAGAAG AAGGTGGACG	660
20 TCATACTCCA TTCTTCACTA ACTACCGCCC ACAATTCTAC TTCCGTACTA CTGACGTAAC	720
TGGCGTTGTT CACTTACCAAG 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:

45

50

55

60

65

ES 2 329 202 T3

5	CGGAGCTATC CTTGTAGTTG CTTCAACTGA TGGACCAATG CCACAAACTC GTGAGCACAT	60
	CCTTCTTCA CGTCAAGTTG GTGTTAACCA CCTTATCGTA TTCATGAACA AAGTTGACCT	120
	TGTTGATGAT GAAGAATTGC TTGAATTGGT TGAAATGGAA ATTCTGTGACC TTCTTCAGA	180
10	ATACGACTTC CCAGGTGATG ACCTTCCAGT TATCCAAGGT TCAGCTCTTA AAGCACTTGA	240
	AGGCGACGAA AAATACGAAG ACATCATCAT GGAATTGATG AGCACTGTTG ATGAGTACAT	300
	TCCAGAACCA AACCGTGATA CTGACAAACC TTTACTTCTT CCAGTTGAAG ATGTATTCTC	360
15	AATCACTGGA CGTGGTACAG TTGCTTCAGG ACGTATCGAC CGTGGTACTG TTCTGTCAA	420
	CGACGAAGTT GAAATCGTTG GTATTAAAGA AGATATCCAA AAAGCAGTTG TTACTGGTGT	480
	TGAAATGTT CGTAAACAAAC TTGACGAAGG TCTTGCAGGG GACAACGTTG GTGTTCTCT	540
20	TCGTGGTGTGTT CAACCGTGATG AAATCGAACG TGGTCAAGTT CTTGCTAAC CAGGTTCAAT	600
25	CAACCCACAC ACTAAATTAA AAGGTGAAGT TTACATCCTT TCTAAAGAAG AAGGTGGACG	660
	TCATACTCCA TTCTTCAACA ACTACCGTCC ACAATTCTAC TTCCGTACAA CTGACGTAAC	720
30	AGGTTCAATC GAACTTCCAG CAGGAACAGA AATGGTTATG CCTGGTGATA ACGTTACTAT	780
	CGAAGTTGAA TTGATTCAACC CAATCGCCGT AGAACAA	817

35 (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

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

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Streptococcus pneumoniae*

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

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	CGGAGCTATC CTTGTAGTAG CTTCAACTGA CGGACCAATG CCACAAACTC GTGAGCACAT	60
5	CCTTCTTCAG 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 AGAAAATCRA AAAGCAGTTG TTACTGGTGT	480
	TGAAATGTT CGTAAACAAAC TTGACGAAGG TCTTGCTGGA GATAACGTAG GTGTCCTTCT	540
20	TCGTGGTGT CAACGTGATG AAATCGAACG TGGACAAGTT ATCGCTAAC CAGGTTCAAT	600
	CAACCCACAC ACTAAATTCA AAGGTGAAGT CTACATCCTT ACTAAAGAAG AAGGTGGACG	660
25	TCACACTCCA TTCTTCAAACA ACTACCGTCC ACAATTCTAC TTCCGTACTA CTGACGTTAC	720
	AGGTTCAATC GAACTTCCAG CAGGTACTGA AATGGTAATG CCTGGTGATA ACGTGACAAT	780
30	<b>CGACGTTGAG TTGATTCAACC CAATGCCGT AGAACAA</b>	<b>817</b>

(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: <i>Streptococcus salivarius</i>   |
|    | (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	CCTTCTTCA CGTCAGGTTG GTGTTAAACA CCTTATCGTC TTCACTGAACA AAGTTGACTT	120
	GGTTGACGAT GAAGAATTGC TTGAATTGGT TGAAATGGAA ATCCGTGACC TTCTTCAGA	180
10	ATACGATTTG CCAGGTGATG ACATTCCAGT TATCCAAGGT TCAGCTCTTA AAGCTCTTGA	240
	AGGTGATTCT AAATACGAAG ACATCATCAT GGACTTGATG AACACTGTTG ACGAATAACAT	300
	CCCAGAACCA GAACGTGACA CTGACAAACC ATTGTTGCTT CCAGTCGAAG ACGTATTCTC	360
15	AATCACTGGT CGTGGTACTG TTGCTTCAGG ACGTATCGAC CGTGGTGTG TTCGTGTCAA	420
	TGACGAAGTT GAAATCGTTG GTCTTAAAGA AGACATCCAA AAAGCAGTTG TTACTGGTGT	480
20	TGAAATGTTT CGTAAACAAAC TTGACGRAGG TATTGCCGGA GATAACGTG 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 ACGTGAATAT	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

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

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Agrobacterium tumefaciens*

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

	AACATGATCA CCGGTGCTGC CGAGATGGAC GGCGCGATCC TGGTTTGCTC GGCTGCCGAC	60
50	GGCCCGATGC CACAGACCCG CGAGCACATC CTGCTTGCCC GTCAGGTGGG CGTTCGGGCC	120

ES 2 329 202 T3

5	ATCGTCGTGT TCCTCAACAA GGTGGACCAAG GTTGACGACG CCGAGCTTCT CGAGCTCGTC	180
	GAGCTTGAAG TTTCGCAACT TCTGTCGTCC TACGACTTCC CGGGCGACGA TATCCCGATC	240
	ATCAAGGGTT CGGCACITGC TGCTCTTGAA GATTCTGACA AGAAGATCGG TGAAGACGCG	300
10	ATCCGCGAGC TGATGGCTGC TGTCGACGCC TACATCCCGA CGCCTGAGCG TCCGATCGAC	360
	CAGCCGTTCC TGATGCCGAT CGAAGACGTG TTCTCGATCT CGGGTCGTGG TACGGTTGTG	420
	ACGGGTCGCG TTGAGCGCGG TATCGTCAAG GTTGGTGAAG AAGTCGAAAT CGTCGGCATC	480
15	CGTCGACCT CGAAGACGAC TGTTACCGGC GTTGAATGT TCCGCAAGCT GCTCGACCAAG	540
	GGCCAGGCCG GCGACAACAT CGGTGCACTC GTTCGCGGGG TTACCCGTGA CGGCCTCGAG	600
20	CGTGGTCAGA TCCTGTGCAA GCCGGGTTCG GTCAAGCCGC ACAAGAAGTT CATGGCAGAA	660
	GCCTACATCC TGACGAAGGA AGAAGGCAGC CGTCATACGC CGTTCTTCAC GAACCTACCGT	720
	CCGCAGTTCT ACTTCCGTAC GACTGACGTT ACCGGTATCG TTTCGCTTCC TGAAGGCACG	780
25	GAAATGGTTA TGCCTGGCGA CAACGTCACT GTTGAAGTCG AGCTGATCGT TCCGATCGCG	840
	ATGGAAGAAA AGCTGCGCTT CGCTATCCGC GAAGGCAGGCC GTACCGTCGG CGCCGGC	897

30

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 148:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

35

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

40

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

45

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Bacillus subtilis*

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

50

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	<b>ATGATCACTG GTGCTGCGCA AATGGACGGA GCTATCCTTG TAGTATCTGC TGCTGATGGC</b>	<b>60</b>
5	<b>CCAATGCCAC AAACTCGTGA GCACATCCTT CTTTCTAAAA ACGTTGGTGT ACCATACATC</b>	<b>120</b>
	<b>GTTGTATTCT TAAACAAATG CGACATGGTA GACGACGAAG AGCTTCTTGA ACTAGTTGAA</b>	<b>180</b>
10	<b>ATGGAAGTTG GCGATCTTCT TAGCGAATAC GACTCCCTG GTGATGATGT ACCAGTTGTT</b>	<b>240</b>
	<b>AAAGGTTCTG CTCTTAAAGC TCTTGAAGGA GACGCTGAGT GGGAAAGCTAA AATCTTCGAA</b>	<b>300</b>
15	<b>CTTATGGATG CGGTTGATGA GTACATCCC ACTCCAGAAC GCGACACTGA AAAACCATTC</b>	<b>360</b>
	<b>ATGATGCCAG TTGAGGACGT ATTCTCAATC ACTGGTCGTG GTACAGTTGC TACTGGCCGT</b>	<b>420</b>
	<b>GTAGAACCGG GACAAGTTAA AGTCGGTGAC GAAGTTGAAA TCATCGGTCT TCAAQAAAGAG</b>	<b>480</b>
20		
	<b>AACAAGAAAA CAACTGTTAC AGGTGTTGAA ATGTTCCGTA AGCTTCTTGA TTACGCTGAA</b>	<b>540</b>
25	<b>GCTGGTGACA ACATTGGTGC CCTTCTTCGC GGTGTATCTC GTGAAGAAAT CCAACGTGGT</b>	<b>600</b>
	<b>CAAGTACTTG CTAACCAGG TACAATCACT CCACACAGCA AATTCAAAGC TGAAGTTTAC</b>	<b>660</b>
30	<b>GTTCTTTCTA AAGAAGAGGG TGGACGTCA ACTCCATTCT TCTCTAACTA CCGTCCTCAG</b>	<b>720</b>
	<b>TTCTACTTCC GTACAACGTGA CGTAACGGT ATCATCCATC TTCCAGAAGG CGTAGAAATG</b>	<b>780</b>
	<b>GTTATGCCTG GAGATAACAC TGAAATGAAC GTTGAACCTA TTTCTACAAT CGCTATCGAA</b>	<b>840</b>
35	<b>GAAGGAACTC GTTTCTCTAT TCGTGAAGGC GGACGTACTG TTGGT</b>	<b>885</b>

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 149:

- 40 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 882 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - 45 (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- 50 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Bacteroides fragilis*
- 55 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 149:

60

65

ES 2 329 202 T3

	<b>ATGGTTACTG GTGCTGCTCA GATGGACGGT GCTATCATTT TAGTTGCTGC TACTGATGGT</b>	<b>60</b>
5	CCGATGCCCTC AGACTCGTGA GCACATCCTT TTGGCTCGTC AGGTAAACGT TCCGAAGCTG	120
	GTTGTATTCA TGAACAAGTG CGATATGGTT GAAGATGCTG AGATGTTGGA ACTTGTTGAA	180
10	ATGGAAATGA GAGAATTGCT TTCATTCTAT GATTCGACCG GTGACAATAAC TCCGATCATT	240
	CAGGGTTCTG CTCTTGGTGC ATTGAACGGC GTAGAAAAAT GGGAAAGACAA AGTAATGGAA	300
15	CTGATGGAAG CTGTTGATAC TTGGATTCCA CTGCCTCCGC GCGATGTTGA TAAACCTTTC	360
	TTGATGCCCG TAGAACGACGT GTTCTCTATC ACAGGTCGTG GTACTGTAGC TACAGGTCGT	420
20	ATCGAAAATG GTGTTATCCA TGTAGGTGAT GAAATCGAAA TCCTCGGTTT GGGTGAAGAT	480
	AAGAAATCAG TTGTAACAGG TGTTGAAATG TTCCGCAAAAC TTCTGGATCA GGGTGAAGCT	540
25	GGTGACAACG TAGGTCTGTT GCTTCGTGGT GTGACAAGA ACGAAATCAA ACGTGGTATG	600
	GTTCTTGTA AACCGGGTCA GATTAAACCT CACTCTAAAT TCAAAGCAGA GGTTTATATC	660
30	CTGAAGAAAG AAGAAGGTGG TCGTCACACT CCATTCCATA ACAAAATATCG TCCTCAGTTC	720
	TACCTGCGTA CTATGGACTG TACAGGTGAA ATCACTCTTC CGGAAGGAAC TGAAATGGTA	780
	<b>ATGCCGGGTG ATAACGTAAC TATCACTGTA GAGTTGATCT ATCCGGTTGC ACTGAACATC</b>	<b>840</b>
35	<b>GGTCTTCGTT TCGCTATCCG CGAAGGTGGA CGTACAGTAG GT</b>	<b>882</b>

(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: <i>Borrelia burgdorferi</i>       |
|    | (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 150: |

55

60

65

ES 2 329 202 T3

5	AATATGATTA CAGGAGCAGC TCAAATGGAT GCAGCGATAc TTTAGTTGC TGCTGATAGT	60
	GGTGCTGAGC CTCAAACAAA AGAGCATTTG CTTCTTGCTC AAAGAATGGG AATAAAGAAA	120
	ATAATAGTTT TTTAAATAA ATTGGACTTA GCAGATCCTG AACTTGTGA GCTTGTGAA	180
10	GTTGAAGTTT TAGAACCTGT TGAAAAATAT GGCTTTCAg CTGATACTCC AATAATCAA	240
	GGTCAGCTT TTGGGGCTAT GTCAAATCCA GAAGATCCTG AATCTACAAA ATGCGTTAAA	300
	GAACCTCTTG AATCTATGGA TAATTATTTT GATCTTCCAG AAAGAGATAT TGACAAGCCA	360
15	TTTTGCTTG CTGTTGAAGA TGTATTTCT ATTCAGGAA GAGGCAGTGT TGCTACTGGG	420
	CGTATTGAAA GAGGTATTAT TAAAGTTGGT CAAGAAGTTG AAATAGTTGG AATTAAGAA	480
20	ACCAGAAAAA CTACTGTTAC TGGTGTGAA ATGTTCCAGA AAATTCTTGA GCAAGGTCAA	540
	GCAGGGGATA ATGTTGGTCT TCTTTGAGA GGCCTTGATA AAAAGACAT TGAGAGGGGG	600
	CAAGTTTGT CAGCTCCAGG TACAATTACT CCACACAAAGA AATTAAAGC TTCAATTAT	660
25	TGTTTGACTA AAGAAGAAGG CGGTAGGCAC AAGCCATTIT TCCCAGGGTA TAGACCACAG	720
	TTCTTTTTTA GAACAACCGA TGTTACTGGA GTTGTGCTT TAGAGGGCAA AGAAATGGTT	780
30	ATGCCTGGTG ATAATGTTGA TATTATTGTT GAGCTGATCT CTTCAATAGC TATGGATAAG	840
	AATGTAGAAT TTGCTGTTCG AGAAGGTGGA AGAACCGTTG CTTCAGGA	888

35

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 151:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
  - (A) LONGITUD: 894 pares de bases
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
  - (A) ORGANISMO: *Brevibacterium linens*
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 151:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

5	AACATGATCA CCGGTGCCGC TCAGATGGAC GGTGCGATCC TCGTCGTCGC CGCTACCGAC	60
	GGACCGATGC CCCAGACCCG TGAGCACGTG CTGCTCGCGC GTCAGGTGG CGTTCCCTAC	120
	ATCGTCGTGG CTCTGAACAA GTCCGACATG GTCGATGACG AGGAGCTCCT CGAGCTCGTC	180
10	GAATTGAGG TCCGCGACCT GCTCTCGAGC CAGGACTTCG ACGGAGACAA CGCTCCGGTC	240
	ATTCCGGTGT CCGCTCTCAA GGCGCTGGAA GGCGACGAGA AGTGGGTCAA GAGCGTTCA	300
	GATCTCATGG CTGCCGTCGA TGACAACGTT CCGGAGCCGG AGCGCGATGT CGACAAAGCCG	360
15	TTCCTCATGC CCGTCGAGGA CGTCTTCACG ATCACCGGTC GTGGAACCGT CGTCACCGGT	420
	CGTGTGAGC GCGGCGTGCT CCTGCTAAC GACGAAATCG AAATGTCGG CATCAAGGAG	480
	AAGTCGTCCA AGACGACTGT CACCGCTATC GAGATGTTCC GCAAGACCT GCCGGATGCC	540
20	CGTGCAGGTG AGAACGTCGG TCTGCTCCTC CGCGGCACCA AGCGCGAGGA TGGTGGCGC	600
	GGTCAGGTCA TCGTGAAGCC GGGTTCGATC ACCCCGCACA CCAAGTTCGA GGCTCAGGTC	660
25	TACATCCTGA GCAAGGACCA GGGCGGACGT CACAACCGT TCTACTCGAA CTACCGTCCG	720
	CAGTTCTACT TCCGGACCAC GGACGTCACC GGTGTATCA CGCTGCCGA GGGCACCGAG	780
30	ATGGTCATGC CCGCGACAA CACCGATATG TCGGTGAGC TCATCCAGCC GATCGCTATG	840
	GAGGACCGCC TCCGCTTCGC AATCCGCGAA GGTGGCCGCA CGTGGCGGC CGGT	894

35

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 152:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 40 (A) LONGITUD: 888 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: *Burkholderia cepacia*

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

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	<b>ATGATCACGG GCGCAGCGCA GATGGACGGC GCGATCCTGG TTTGCTCGGC AGCAGACGGC</b>	<b>60</b>
5	<b>CCGATGCCGC AAACCGCGTGA GCACATCCTG CTGGCGCGTC AGGTGGTGT TCCGTACATC</b>	<b>120</b>
	<b>ATCGTGTTC TGAACAAGTG CGACAGTGTG GACGACGCTG AACTGCTCGA GCTGGTCGAG</b>	<b>180</b>
10	<b>ATGGAAGTTC GCGAACTCCT GTCGAAGTAC GACTTCCCGG GCGACGACAC GCCGATCGTG</b>	<b>240</b>
	<b>AAGGGTTCGG CCAAGCTGGC GCTGGAAGGC GACACGGGCG AGCTGGGCGA AGTGGCGATC</b>	<b>300</b>
15	<b>ATGAGCCTGG CAGACGCGCT GGACACGTAC ATCCCGACGC CGGAGCGTGC AGTTGACGGC</b>	<b>360</b>
	<b>GCGTTCTGA TGCCGGTGGA AGACGTGTT TCAGATCTCGG GCCGTGGTAC GGTGGTGACG</b>	<b>420</b>
	<b>GGTCGTGTCG AGCGCGGCAT CGTGAAGGTC GGCGAAGAAA TCGAAATCGT CGGTATCAAG</b>	<b>480</b>
20	<b>CCGACGGTGA AGACGACCTG CACGGGCGTT GAAATGTTCC GCAAGCTGCT GGACCAAGGT</b>	<b>540</b>
	<b>CAGGCAGGCG ACAACGTCGG TATCCTGCTG CGCGGCACGA AGCGTGAAGA CGTGGAGCGT</b>	<b>600</b>
25	<b>GGCCAGGTTTC TGGCGAAGCC GGGTTCGATC ACGCCGCACA CGCACCTCAC GGCTGAAGTG</b>	<b>660</b>
	<b>TACGTGCTGA GCAAGGACGA AGGCGGCCGT CACACGCCGT TCTTCAACAA CTACCGTCCG</b>	<b>720</b>
30	<b>CAGTTCTACT TCCGTACGAC GGACGTGACG GGCTCGATCG AGCTGCCGAA GGACAAGGAA</b>	<b>780</b>
	<b>ATGGTGATGC CGGGCGACAA CGTGTGCGATC ACGGTGAAGC TGATTGCTCC GATCGCGATG</b>	<b>840</b>
	<b>GAAGAAGGTC TGGCCTTCGC AATCCGTGAA GGCGGCCGTA CGGTGGC</b>	<b>888</b>

35

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 153:

40 (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)

50 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Chlamydia trachomatis*

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

60

65

ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CCGGTGCGGC TCAAATGGAC GGGGCTATTG TAGTAGTTTC TGCAACAGAC	60
5	GGAGCTATGC CTCAAACATAA AGAGCATATT CTTTGGCAA GACAAGTTGG GGTTCCCTTAC	120
	ATCGITGTT TTCTCAATAA AATTGACATG ATTTCCGAAG AAGACGCTGA ATTGGTCQAC	180
10	TTGGTTGAGA TGGAGTTGGC TGAGCTTCTT GAAGAGAAAG GATACAAAGG GTGTCCAATC	240
	ATCAGAGGTT CTGCTCTGAA AGCTTGAA GGAGATGCTG CATACTAGA GAAAGTTCGA	300
	GAGCTAATGC AAGCCGTGAA TGATAATATC CCTACTCCAG AAAGAGAAAT TGACAAAGCCT	360
15	TTCTTAATGC CTATTGAGGA CGTGTTCTCT ATCTCCGGAC GAGGAACGT AGTAACGTGGA	420
	CGTATTGAGC GTGGAATTGT TAAAGTTTCC GATAAAAGTC AGTTGGTCGG TCTTAGAGAT	480
	ACTAAAGAAA CGATTGTTAC TGGGGTTGAA ATGTTCAGAA AAGAACTCCC AGAAGGTCGT	540
20		
	GCAGGGAGAGA ACGTTGGATT GCTCCTCAGA GGTATTGGTA AGAACGATGT GGAAAGAGGA	600
25	ATGGTTGTTT GCTTGCCAAA CAGTGTAAA CCTCATAACAC AGTTAAAGTG TGCTGTTTAC	660
	GTTCTGCAAA AAGAAGAAGG TGGACGACAT AAGCCTTCT TCACAGGATA TAGACCTCAA	720
30	TTCTTCTTCC GTACAACAGA CGTTACAGGT GTGGTAACTC TGCCTGAGGG AGTTGAGATG	780
	GTCATGCCTG GGGATAACGT TGAGTTGAA 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
  - (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- 45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 50 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
- (A) ORGANISMO: *Escherichia coli*
- 55 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 154:

60

65

ES 2 329 202 T3

AACATGATCA CCGGTGCTGC GCAGATGGAC GGCGCGATCC TGGTAGTTGC TGCGACTGAC	60
5 GGCCTCGATGC CGCAGACTCG TGAGCACATC CTGCTGGTC GTCAGGTAGG CGTTCCGTAC	120
ATCATCGTGT TCCTGAACAA ATGCGACATG GTTGATGACG AAGAGCTGCT GGAACTGGTT	180
10 GAAATGGAAG TTCGTGAACT TCTGTCTCAG TACGACTTCC CGGGCGACGA CACTCCGATC	240
GTTCGTGGTT CTGCTCTGAA AGCGCTGGAA GGCGACGCAG AGTGGGAAGC GAAAATCCTG	300
15 GAACTGGCTG GCTTCCTGGA TTCTTACATT CCGGAACCCAG AGCGTGCQAT TGACAAGCCG	360
TTCCCTGCTGC CGATCGAAGA CGTATTCTCC ATCTCCGGTC GTGGTACCGT TGTTACCGGT	420
CGTGTAGAAC CGGGTATCAT CAAAGTTGGT GAAGAAGTTG AAATCGTTGG TATCAAAGAG	480
20 ACTCAGAAGT CTACCTGTAC TGGCGTTGAA ATGTTCCGCA AACTGCTGGA CGAAGGCCGT	540
GCTGGTGAGA ACGTAGGTGT TCTGCTGCCT GGTATCAAAC GTGAAGAAAT CGAACGTGGT	600
25 CAGGTACTGG CTAAGCCGGG CACCATCAAG CCGCACACCA AGTCGAATC TGAAAGTGTAC	660
ATTCTGTCCA AAGATGAAGG CGGCCGTCACT ACTCCGTTCT TCAAAGGCTA CCGTCCGCAG	720
30 TTCTACTTCC GTACTACTGA CGTGACTGGT ACCATCGAAC TGCCGGAAGG CGTAGAGATG	780
GTAATGCCGG GCGACAACAT CAAAATGGTT GTTACCCCTGA TCCACCCGAT CGCGATGGAC	840
GACGGTCTGC GTTTCGCAAT CCGTGAAGGC GGCGTACCG TTGGCGCCGG C	891

35 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 155:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 891 pares de bases
- 40 (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:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	AACATGGTGA CTGGTGCTGC TCAGATGGAC GGCGCTATCC TCGTTGTTGC CGCTACTGAC	60
5	GGTCCGATGC CGCAGACTCG CGAACACATC CTTCTCGCTC ACCAGGTTGG CGTGCCGAAG	120
	ATCGTCGTGT TCATGAACAA GTGCCACATG GTTGACGATG CTGAAATTCT CGACCTCGTC	180
10	GAATGGAAG TTCGCGAAGT CCTCTCCAAG TATGACTTCG ACGGTGACAA CACCCCGATC	240
	ATCCGTGGTT CCGCTCTCAA GGCCCTCGAA GGCGATCCGG AATACCAGGA CAAGGTCAATG	300
15	GAACTCATGA ACGCTTGCGA CGAACATAC CCGCTCCCGC AGCGCGATAAC CGACAAGCCG	360
	TTCCTCATGC CGATCGAAGA CGTGTTCACG ATTACTGGCC GCGGCAGTGT CGCTACTGGC	420
	CGTATCGAAC GCGGTGTCGT TCGCTTGAAC GACAAGGTTG AACGTATCGG TCTCGGTGAA	480
20	ACCACCGAAT ACGTCATCAC CGGTGTTGAA ATGTTCCGTA AGCTCCTCGA CGACGCTCAG	540
	GCAGGTGACA ACGTTGGTCT CCTCCTCCGT GGTGCTGAAA AGAAGGACAT CGTCCGTGGC	600
	ATGGTTCTCG CAGCTCCGAA GTCTGTCACT CCGCACACCG AATTTAAGGC TGAAATCTAC	660
25	GTTCTCACGA AGGACGAAGG TGGCCGTAC ACGCCGTTCA TGAATGGCTA CCGTCCCGAG	720
	TTCTACTTCC GCACCACCGA CGTTACTGGT ACGATCCAGC TCCCGGAAGG TGTCGAAATG	780
	GTTACTCCGG GTGACACGGT CACGATCCAC GTGAAACCTCA TCGCTCCGAT CGCTATGGAA	840
30	AAGCAGCTCC GCTTCGCTAT CCGTGAAGGT GGACGTACTG 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

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

35

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 157:

40

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

45

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

50

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

55

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Haemophilus influenzae*

60

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

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	AATATGATTA CTGGTGCGGC ACAAAATGGAT GGTGCTATT TAGTAGTAGC AGCAACAGAT	60
5	GGTCCTATGC CACAAACTCG TGAAACACATC TTATTAGGTC GCCAAGTAGG TGTTCCATAC	120
	ATCATCGTAT TCTTAAACAA ATGCGACATG GTAGATGACG AAGAGTTATT AGAATTAGTC	180
	GAAATGGAAG TTCGTGAACT TCTATCTCAA TATGACTTCC CAGGTGACGA TACACCAATC	240
10		
	GTACGTGGTT CAGCATTACA AGCGTTAAC GGCGTAGCAG AATGGGAAGA AAAAATCCTT	300
15	GAGTTAGCAA ACCACTTAGA TACTTACATC CCAGAACCG 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
	GCAGGTGAAA ACATCGGTGC ATTATTACGT GGTACCAAAC GTGAAGAAAT CGAACGTGGT	600
25	CAAGTATTAG CGAAACCAGG TTCAATCACA CCACACACTG ACTTCGAATC AGAAGTGTAC	660
	GTATTATCAA AAGATGAAGG TGGTCGTCA ACTCCATTCT TCAAAGGTTA CCGTCCACAA	720
30	TTCTATTTCG GTACAACAGA CGTGACTGGT ACAATCGAAT TACCAGAAGG CGTGGAAATG	780
	GTAATGCCAG GCGATAACAT CAAGATGACA GTAAGCTAA TCCACCCAAT TGCGATGGAT	840
35	CAAGGTTTAC GTTTCGCAAT CCGTGAAGGT GGCGTACAG 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: <i>Helicobacter pylori</i>        |
|    | (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 158: |

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	AACATGATCA CCGGTGCGGC GCAAATGGAC GGAGCGATT TGTTTGTTC TGCAAGCTGAT	60
5	GGCCCTATGC CTCAAACTAG GGAGCATATC TTATTTGTCTC GTCAAGTAGG CGTGCCTCAC	120
	ATCGTTGTT TCTTAAACAA ACAAGACATG GTAGATGACC AAGAATTGTT AGAAACTTGTA	180
10	GAAATGGAAG TGCGCGAATT GTTGAGCGCG TATGAATTTC CTGGCGATGA CACTCCTATC	240
	GTAGCGGGTT CAGCTTTAAG AGCTTTAGAA GAAGCAAAGG CTGGTAATGT GGGTGAATGG	300
15	GGTGAAAAAG TGCTTAAACT TATGGCTGAA GTGGATGCCT ATATCCCTAC TCCAGAAAAGA	360
	GACACTGAAA AAACTTCTT GATGCCGGTT GAAGATGTGT TCTCTATTGC GGGTAGAGGG	420
20	ACTGTGGTTA CAGGTAGGAT TGAAAGAGGC GTGGTGAAG TAGGCATGA AGTGGAAATC	480
	GTTGGTATCA GACCTACACA AAAAACGACT GTAACCGGTG TAGAAATGTT TAGGAAAGAG	540
25	TTGGAAAAAG GTGAAGCCGG CGATAATGTG GGCGTGCTTT TGAGAGGAAC TAAAAAAGAA	600
	GAAGTGGAAC GCGGTATGGT TCTATGCAA CCAGGTTCTA TCACTCCGCA CAAGAAATT	660
	GAGGGAGAAA TTTATGTCCT TTCTAAAGAA GAAGGCAGGA GACACACTCC ATTCTTCACC	720
30	AATTACCGCC CGCAATTCTA TGTGCGCACA ACTGATGTGA CTGGCTCTAT CACCCCTCCT	780
	GAAGGCGTAG AAATGGTTAT GCCTGGCGAT AATGTGAAAA TCACTGTAGA GTTGATTAGC	840
	CCTGTTGCGT TAGAGTTGGG AACTAAATTG GCGATTGCGT AAGGCGGTAG GACCGTTGGT	900
35	<b>GCTGGT</b>	906

40 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 159:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 891 pares de bases
- (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 CCGCGCCGC TCAGATGGAC GGCGCGATCC TCGTGGTCGC CGCTACCGAC	60
5	GGCCCGATGG CCCAGACCCG TGAGCACGTG CTCCCTGGCCC GCCAGGTCGG CGTGCCGGCC	120
	CTGCTCGTGG CCCTGAACAA GTCGGACATG GTGGAGGACG AGGAGCTCCT CGAGCGTGTC	180
10	GAGATGGAGG TCCGGCAGCT GCTGTCCTCC AGGAGCTTCG ACGTCGACGA GGCCCCGGTC	240
	ATCCGCACCT CCGCTCTGAA GGCCCTCGAG GGCGACCCCC AGTGGGTCAA GTCCGTCGAG	300
	GACCTCATGG ATGCCGTGGA CGAGTACATC CCGGACCCGG TGCGCGACAA GGACAAAGCCG	360
15	TTCCTGATGC CGATCGAGGA CGTCTTCACG ATCACCGGCC GTGGCACC GTGGACCGGT	420
	CGCGCCGAGC GCGGCACCT GAAGATCAAC TCCGAGGTG AGATCGTCGG CATCCGCGAC	480
20	GTGCAGAAGA CCACTGTCAC CGGCATCGAG ATGTTCCACA AGCAGCTCGA CGAGGCCTGG	540
	GCCCCCGAGA ACTGCGGTCT GCTCGTGCAG GGTCTGAAGC GCGACGACGT CGAGCGCGC	600
	CAGGTGCTGG TGGAGCCGGG CTCCATCACC CCGCACACCA ACTTCGAGGC GAACGTCTAC	660
25	ATCCTGTCCA AGGACGAGGG TGGCGTCAC ACCCCGTTCT ACTCGAACTA CGCGCGCGAG	720
	TTCTACTTCC GCACCACCGA CGTCACCGGC GTCATCAGC TGCCCGAGGG CACCGAGATG	780
30	GTCATGCCCG GCGACACCAAC CGAGATGTCG GTCGAGCTCA TCCAGCCGAT CGCCATGGAG	840
	GAGGGCCTCG GCTTCGCCAT CCGCQAGGGT GGCCGCACCG TGGGCTCCGG C	891

35 (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:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

5	AACATGATCA CCGCGGCCGC GCAGATGGAC GGTGCGATCC TGGTGGTCGC CGCCACCGAC	60
	GGCCCGATGC CCCAGACCCG CGAGCACGTT CTGCTGGCGC GTCAAGTGGG TGTGCCCTAC	120
	ATCCTGGTAG CGCTGAACAA GGCCQACGCA GTGGACGACG AGGAGCTGCT CGAACCTCGTC	180
10	GAGATGGAGG TCCCGAGCT GCTGGCTGCC CAGGAATTCTG ACGAGGACGC CCCGGTTGTG	240
	CGGGTCTCGG CGCTCAAGGC GCTCGAGGGT GACGCGAAGT GGGTTGCCTC TGTGAGGAA	300
	CTGATGAACG CGGTGACGA GTCGATTCCG GACCCGGTCC GCGAGACCGA CAAGCCGTTG	360
15	CTGATGCCGG TCGAGGACGT CTTCACCAT ACCGGCCGCG GAACCGTGGT CACCGGACGT	420
	GTGGAGCCGG CGGTGATCAA CGTGAAACGAG GAAGTTGAGA TCGTCGGCAT TCGCCCATCG	480
20	ACCACCAAGA CCACCGTCAC CGGTGTGGAG ATGTTCCGCA AGCTGCTCGA CCAGGGCCAG	540
	GCGGGCGACA ACGTTGGTT GCTGCTGGG GGCCTCAAGC GCGAGGACGT CGAGCQTGGC	600
	CAGGTTGTCA CCAAGCCGG CACCACACG CCGCACACCG AGTTCGAAGG CCAGGTCTAC	660
25	ATCCTGTCCA AGGACGAGGG CGGCCGGCAC ACGCCGTTCT TCAACAACTA CCGTCCGCAG	720
	TTCTACTTCC GCACCACCGA CGTGACCGGT GTGGTGACAC TGCCGGAGGG CACCGAGATG	780
30	GTGATGCCCG GTGACAACAC CAACATCTG GTGAAGTTGA TCCAGCCGT 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

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

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Mycoplasma genitalium*

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

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	AATATGATCA CAGGTGCTGC ACAAATGGAT GGAGCTATT TAGTTGTTTC AGCAACTGAT	60
5	AGTGTGATGC CCCAAACCCG CGAGCACATC TTACTTGCCC GCCAAGTAGG GGTTCTAAA	120
	ATGGTAGTTT TTCTAAACAA GTGTGATATT GCTAGTGATG AAGAGGTACA AGAACCTGTT	180
10	GCTGAAGAAG TACGTGATCT GTTAACCTCC TATGGTTTG ATGGTAAGAA CACTCCTATT	240
	ATTTATGGCT CAGCTTTAAA AGCATTGGAA GGTGATCAA 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
20	ATTAGAAAAG CAGTTGTTAC TGGAATTGAA ATGTTCAAAA AGGAACCTGA TTCAGCAATG	540
	GCTGGTGACA ATGCTGGGGT ATTATTACGT GGTGTTGAC GTAAAGAAGT TGAAAGAGGT	600
	CAAGTTTTAG CAAAACCAGG CTCTATTAAA CCGCACAAAGA AATTAAAGC TGAGATCTAT	660
25	GCTTTAAAGA AAGAAGAAGG TGGTAGACAC ACTGGTTTT TAAACGGTTA CCGTCCTCAA	720
	TTCTATTCC GTACCACTGA TGTAACCTGGT TCTATTGCTT TAGCTGAAAA TACTGAAATG	780
30	GTTCTACCTG GTGATAATGC TTCTATTACT GTTGAGTTAA TTGCTCTAT CGCTTGTGAA	840
	AAAGGTAGTA AGTTCTCAAT TCGTGAAGGT GGTAGAACTG TAGGGCAGG C	891

35

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 162:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 40 (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:

- 50 (A) ORGANISMO: *Neisseria gonorrhoeae*

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

55

60

65

ES 2 329 202 T3

AACATGATTA	CCGGCGCCGC	ACAAATGGAC	GGTGCAATCC	TGGTATGTTTC	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	AGCCTTGAA	GGCGATGCCG	CTTACGAAGA	AAAAATCTTC	300
15 GAACTGGCTA	CCGCATTGGA	CAGATAACATC	CCGACTCCCG	AGCGTGCCGT	GGACAAACCA	360
TTCCCTGCTGC	CTATCGAAGA	CGTGTCTCC	ATTTCGGCC	GCGGTACCGT	AGTCACCGGC	420
20 CGTGTAGAGC	GAGGTATCAT	CCACGTTGGT	GACGAGATTG	AAATCGTCGG	TCTGAAAGAA	480
ACCCAAAAAA	CCACCTGTAC	CGGGCGTTGAA	ATGTTCCGCA	AACTGCTGGA	CGAAGGTCAG	540
25 GCGGGCGACA	ACGTAGGCGT	ATTGCTGCCG	GGTACCAAAC	GTGAAGACGT	AGAACGCGGT	600
CAGGTATTGG	CCAAACGGGG	TACTATCACT	CCTCACACCA	AGTTCAAAGC	AGAAGTGTAC	660
30 GTATTGAGCA	AAGAAGAGGG	CGGCCCCCAT	ACCCCGTTTT	TCGCCAACTA	CCGTCCCCAA	720
TTCTACTTCC	GTACCACTGA	CGTAACCAGGC	ACGATTACTT	TGGAAAAAGG	TGTGGAAATG	780
GTAATGCCGG	GTGAGAACGT	AACCATTACT	GTAGAACTGA	TTGCGCTAT	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
  - (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 50 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
  - (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 CTCAAACTAG AGAACATATA TTACTGGCAA AACAGGTAGG TGTACCTGCT	120
	ATGGTAGTAT TTTGAATAA AGTAGATATG GTAGATGATC CTGACCTATT AGAATTAGTT	180
10	GAGATGGAAG TAAGAGAATT ATTATCAAAA TATGGTTTC CTGGTAATGA AATAACCTATT	240
	ATTTAAAGGTT CTGCACTTCA AGCTTAGAA GGAAAACCTG AAGGTGAAAA AGCTATTAAT	300
15	GAGTTAATGA ATGCAGTAGA TACGTATATA CCTCAGCCTA TAGAGCTACA AGATAAACCT	360
	TTTTTAATGC CAATAGAGGA TGTATTTCT ATTCAGGCA GAGGTACCGT TGTAACTGGT	420
20	AGAGTGGAGT CAGGCATAAT TAAGGTGGGT GAAGAAATTG AAATAGTAGG TCTAAAAAAT	480
	ACGCAAAAAAA CGACTTGTAC AGGTGTAGAA ATGTTCAGAA AATTACTTGA TGAAGGACAA	540
	TCTGGAGATA ATGTCGGTAT ATTACTACGT GGTACAAAAA GAGAAGAAGT AGAAAGAGGA	600
25	CAAGTACTTG CAAAACCTGG GAGCATAAAA CCGCATGATA AATTGAAAGC TGAAGTGTAT	660
	GTGCTTAGTA AAGAGGAAGG TGGACGTCAT ACCCCATTAA CTAATGATTA TCGCCCACAG	720
30	TTCTATTTA GAACAACAGA TGTTACCGGC ACAATAAAAT TGCCTTCTGA TAAGCAGATG	780
	GTTATGCCTG GAGATAATGC TACCTTTCA 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
  - (B) TIPO: ácido nucleico
  - (C) CADENA: doble
  - (D) TOPOLOGÍA: lineal
- 45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- 50 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:
  - (A) ORGANISMO: *Salmonella typhimurium*
- 55 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 164:

60

65

ES 2 329 202 T3

5	AACATGATCA CCGGTGCTGC TCAGATGGAC GGCGCGATCC TGGTTGTTGC TGCGACTGAC	60
	GGCCCGATGC CGCAGACCCG TGAGCACATC CTGCTGGTC GTCAGGTAGG CGTTCCGTAC	120
	ATCATCGTGT TCCTGAACAA ATGCACATG GTTGATGACG AAGAGCTGCT GGAACCTGGTT	180
10	GAGATGGAAG TTTCGCGAACT GCTGTCTCAG TACGACTTCC CGGGCGACGA CACTCCGATC	240
	GTTCGTGGTT CTGCTCTGAA AGCGCTGGAA GGCGACGCAG AGTGGGAAGC GAAAATCATC	300
	GAACCTGGCTG GCTTCCCTGGA TTCTTATATT CCGGAACCCAG AGCGTGCAGAT TGACAAGCCG	360
15	TTCCCTGCTGC CGATCGAAGA CGTATTCTCC ATCTCCGGTC GTGGTACCGT TGTTACCGT	420
	CGTGTAGAGC CGGGTATCAT CAAAGTGGC GAAGAAGTTG AAATCGTTG TATCAAAGAG	480
20	ACTCAGAAAGT CTACCTGTAC TGGCGTTGAA ATGTTCCGCA AACTGCTGGA CGAAGGCCGT	540
	GCCGGTGAGA ACGTAGGTGT TCTGCTGCGT GGTATCAAAC GTGAAGAAAT CGAACGTGGT	600
	CAGGTACTGG CTAAGCCGGG CACCATCAAG CCGCACACCA AGTTCGAAC TGAAGTGTAC	660
25	ATTCTGTCCA AAGATGAAGG CGGCCGTCA ACTCCGTTCT TCAAAGGCTA CCGTCCGCAG	720
	TTCTACTTCC GTACTACTGA CGTGACTGGT ACCATCGAAC TGCCGGAAGG CGTAGAGATG	780
30	GTAATGCCGG GCGACAAACAT CAAAATGGTT GTTACCCCTGA TCCACCCGAT CGCGATGGAC	840
	GACGGTCTGC GTTTCGCAAT CCGTGAAGGC GGCGTACCG TTGGCGCGGG C	891

35

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 165:

40

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

45

- (A) LONGITUD: 881 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

50

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)

55

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

60

- (A) ORGANISMO: *Shewanella putida*

65

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 165:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	<b>ATGATCACTG GTGCTGCACA GATGGACGGC GCGATTCTGG TAGTCGCTTC AACAGACGGT</b>	<b>60</b>
5	<b>CCAATGCCAC AGACTCGTGA GCACATCCTG CTTTCTCGTC AGGTTGGCGT ACCATTCA</b>	<b>120</b>
	<b>ATCGTATTCA TGAACAAATG TGACATGGTA GATGACGAAG AGCTGTTAGA GCTAGTTGAG</b>	<b>180</b>
10	<b>ATGGAAGTGC GTGAACTGTT ATCAGAACATAC GATTTCCCAG GTGATGACTT ACCGGTAATC</b>	<b>240</b>
	<b>CAAGGTTCAAG CTCGTAAAGC GCTAGAAGGC GAGCCAGAGT GGGAAAGCAAA AATCCTTGAA</b>	<b>300</b>
	<b>TTAGCAGCGG CGCTGGATTTC TTACATTCCA GAACCACAAAC GTGACATCGA TAAGCCGTT</b>	<b>360</b>
15	<b>CTACTGCCAA TCGAAGACGT ATTCTCAATT TCAGGCCGTG GTACAGTAGT AACAGGTCGT</b>	<b>420</b>
	<b>GTTGAGCGTG GTATTGTACG CGTAGGCGAC GAAGTTGAAA TCGTTGGTGT ACGTGCAGACA</b>	<b>480</b>
20	<b>ACTAAGACAA CGTGTACTGG TGTAGAAATG TTCCGTAAAC TGCTTGACGA AGGTCGTGCA</b>	<b>540</b>
	<b>GGTGAGAACT GTGGTATTTC GTTACGTGGT ACTAAGCGTG ATGACGTAGA ACGTGGTCAA</b>	<b>600</b>
	<b>GTATTAGCGA AGCCAGGTTTC AATCAACCCA CACACTACTT TTGAATCAGA AGTTTACGTA</b>	<b>660</b>
25	<b>CTGTCAAAAG AAGAAGGTGG TCGTCACACG CCATTCTTC AAGGCTACCG TCCACAGTTTC</b>	<b>720</b>
	<b>TACTTCCGTA CAACTGACGT AACCGGTACT ATCGAACTGC CAGAAGGCGT AGAGATGGTA</b>	<b>780</b>
30	<b>ATGCCAGGCG ATAACATCAA GATGGTAGTG ACACTGATT GCCCAATCGC QATGGACGAA</b>	<b>840</b>
	<b>GGTTTACGCT TCGCAATCCG TGAAGGCGGT CGTACAGTGG T</b>	<b>881</b>

35

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 166:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 40 (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:

- 50 (A) ORGANISMO: *Stigmatella aurantiaca*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 166:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

5	AACATGATCA CGGGCGCGGC GCAGATGGAC GGAGCGATT C TGGTGGTGT CGCGGCCGAC	60
	GGCCCGATGC CCCAGACCGC TGAGCACATC CTGCTGGCCA GGCAGGTGGG CGTGCCCTAC	120
	ATCGTCGTCT TCCTGAACAA GGTGGACATG CTGGACGATC CGGAGCTGCG CGAGCTGGTG	180
10	GAGATGGAGG TGCAGCGACCT GCTCAAGAAG TACGAGTTCC CGGGCGACAG CATCCCCATC	240
	ATCCCTGGCA GCGCGCTCAA GGCGCTGGAG GGAGACACCA GCGACATCGG CGAGGGAGCG	300
	ATCCTGAAGC TGATGGCGGC GGTGGACGAG TACATCCGA CGCCGCAAGC TGCGACGGAC	360
15	AAGCCGTTCC TGATGCCGGT GGAAGACGTG TTCTCCATCG CAGGCCGAGG AACGGTGGCG	420
	ACGGGCCGAG TGGAGCGCGG CAAGATCAAG GTGGCGAGG AAGTGGAGAT CGTGGGGATC	480
20	CGTCCGACGC AGAACAGCGT CATCACGGGG GTGGAGATGT TCCGCAAGCT GCTGGACGAG	540
	GGCATGGCGG GAGACAACAT CGGAGCGCTG CTGGGAGGCC TGAAGCGCGA GGACCTGGAG	600
	CGTGGGCAGG TGCTGGCGAA CTGGGGAGC ATCAACCCGC ACACGAAGTT CAAGGCGCAG	660
25	GTGTACGTGC TGTCGAAGGA AGAGGGAGGG CGGCACACGC CGTTCTTCAA GGGATAACCGG	720
	CCGCAGTTCT ACTTCCGGAC GACGGACGTG ACCGGAACGG TGAAGCTGCC GGACAACGTG	780
30	GAGATGGTGA TGCCGGAGA CAACATCGCC ATCGAGGTGG AGCTCATTAC TCCGGTGC	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
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

45 (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

	<b>AACATGATCA CTGGTGCCGC TCAAATGGAC GGAGCTATCC TTGTAGTTGC TTCAACTGAT</b>	<b>60</b>
5	GGACCAATGC CACAAACTCG TGAGCACATC CTTCTTCAC GTCAGGTTGG TGTTAACAC	120
	CTTATCGTGT TCATGAACAA AGTTGACCTT GTTGATGACG AAGAGTTGCT TGAATTAGTT	180
10	GAGATGGAAA TTCGTGACCT TCTTCAGAA TACGATTCC CAGGTGATGA CCTTCCAGTT	240
	ATCCAAGGTT CAGCTCTTAA AGCTCTGAA GGCGACACTA AATTTGAAGA CATCATCATG	300
15	GAATTGATGG ATACTGTTGA TTCATACATT CCAGAACCAAG AACGCGACAC TGACAAACCA	360
	TTGCTTCTTC CAGTCGAAGA CGTATTCTCA ATTACAGGTC GTGGTACAGT TGCTTCAGGA	420
20	CGTATCGACC GTGGTACTGT TCGTGTCAAC GACGAAATCG AAATCGTTGG TATCAAAGAA	480
	GAAACTAAAA AAGCTGTTGT TACTGGTGTGTT GAAATGTTCC GTAAACAACT TGACGAAGGT	540
25	CTTGCAGGAG ACAACGTAGG TATCCTTCTT CGTGGTGTTC AACGTGACGA AATCGAACGT	600
	GGTCAAGTTA TTGCTAAACC AAGTTCAATC AACCCACACA CTAAATTCAA AGGTGAAGTA	660
	TATATCCTTT CTAAAGACGA AGGTGGACGT CACACTCCAT TCTTCAACAA CTACCGTCCA	720
30	CAATTCTACT TCCGTACAAC TGACGTAACA GGTTCAATCG AACTTCCAGC AGGTACAGAA	780
	ATGGTTATGC CTGGTGATAA CGTGACAATC AACGTTGAGT TGATCCACCC AATCGCCGTA	840
35	GAACAAGGTA CTACTTTCTC AATCCGTGAA GGTGGACGTA CTGTTGGTTC AGGT	894

40 (2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 168:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

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

50 (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	CCGGTGCAGC	CCAGATGGAC	GGGCCATCC	TGGTCGTGTC	CGCCGCCGAC	60	
5	GGCCCCATGC	CCCAAACCCG	CGAGCACATC	CTGCTGGCGC	GTCAGGTGGG	CGTGCCTAC	120
	ATCATCGTGT	TCCTCAACAA	GTGCGACATG	GTCGACGACG	CCGAGCTGCT	CGAACTCGTC	180
10	GAGATGGAAG	TGCGCGAGCT	GCTGTCCAAG	TACGACTTCC	CCGGTGACGA	CACCCCCATC	240
	ATCAAGGGCT	CGGCCAAGCT	GGCCCTCGAA	GGCGACAAGG	GCQAACGTGG	CGAAGGCGCC	300
15	ATTCTCAAGC	TGGCCGAGGC	CCTGGACACC	TACATCCCCA	CGCCCGAGCG	GGCGTCGAC	360
	GGCGCGTTCC	TCATGCCCGT	GGAAGACGTG	TTCTCCATCT	CCGGGCGCGG	CACGGTGGTC	420
20	ACCGGGCGTG	TGGAGCGCGG	CATCATCAAG	GTCGGCGAGG	AAATCGAGAT	TGTCGGCCTC	480
	AAGCCCACCC	TCAAGACCAC	CTGCACCGGC	GTGGAAATGT	TCAGGAAGCT	GCTCGACCAAG	540
25	GGCCAGGCCG	GCGACAAACGT	CGGCATCTTG	CTGCGCGCGA	CCAAGCGCGA	GGAAAGTCGAG	600
	CGCGGCCAGG	TGCTGTGCAA	ACCCGGCTCG	ATCAAGCCCC	ACACCCACTT	CACCGCCGAG	660
30	GTTGTACGTGC	TGAGCAAGGA	CGAGGGCGGC	CGCCACACCC	CCTTCTTCAA	CAACTACCGC	720
	CCGCAGTTCT	ACTTCCGCAC	CACCGACGTC	ACCGGCGCCA	TGAAACTGCC	CAAGGACAAG	780
35	GAAAATGGTCA	TGCCCGCGA	TAATGTGAGC	ATCACCGTCA	AGTCATCGC	CCCCATCGCC	840
	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
- (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

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

50 (vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

- (A) ORGANISMO: *Treponema pallidum*

55 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 169:

60

65

ES 2 329 202 T3

5	AATATGATCA CGGGTGCTGC GCAGATGGAC GGTGGTATTG TCGTCGTGTC TGCGCCTGAC	60
	GGCGTTATGC CACAGACGAA GGAGCATCTT CTGCTCGCCC GTCAGGTTGG TGTTCCCTCC	120
	ATCATTGTTT TTTTGAACAA GGTTGATTTG GTTGATGATC CTGAGTTGCT AGAGCTGGTG	180
10	GAAGAAGAGG TCGGTGATGC GCTTGCTGGA TATGGGTTTT CGCGTGGAGAC GCCTATCGTC	240
	AAGGGGTCTG CGTTTAAGC TCTGCAGGAT GGCGCTTCCC CGGAGGATGC AGCTTGTATT	300
	GAGGAACCTGC TTGCGGCCAT GGATTCTAC TTTGAAGACC CAGTGCCTGA CGACGCAAGA	360
15	CCTTCTTGC TCTCTATCGA GGATGTGTAC ACTATTTCTG GGCGTGGTAC CGTTGTCACG	420
	GGGCGCATCG AATGTGGGT AATTAGTCTG AATGAAGAGG TCGAGATCGT CGGGATTAAG	480
	CCCACTAAGA AAACAGTGGT TACTGGCATT GAGATGTTA ATAAGTTGCT TGATCAGGGA	540
20	ATTGCAGGTG ATAACGTGGG GCTGCTTTTG CGCGGGGTGG ATAAAAAAGA GTTGAGCGC	600
	GGTCAGGTGC TTTCTAAGCC CGGTTCTATT AAGCCACACA CCAAGTTGA GGCGCAGATC	660
25	TACGTGCTCT CTAAGGAAGA GGGTGGCCGT CACAGTCCTT TTTTCAGG TTATCGTCCG	720
	CAGTTTTATT TTAGAACTAC TGACATTACC GGTACGATTCT CTCTTCTGA AGGGTAGAC	780
30	ATGGTGAAAGC CGGGGGATAA CACCAAGATT ATAGGTGAGC TCATCCACCC GATAGCTATG	840
	GACAAAGGTC TGAAGCTTGC GATTGTGAA GGGGGCGCA CTATTGCTTC TGGT	894

35

(2) INFORMACIÓN SOBRE SEQ ID NO 170:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 40 (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:

50 (A) ORGANISMO: *Ureaplasma urealyticum*

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 170:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

5	AATATGATTA CAGGGGCAGC ACAAAATGGAT GGAGCAATT TAGTTATTGC TGCATCTGAT	60
	GGGGTTATGG CTCAAACAA AGAACATATT TTATTAGCAC GTCAAGTTGG TGTTCACAAA	120
	ATCGTTGTTT TCTTAAACAA ATGTGATTC ATGACAGATC CAGATATGCA AGATCTTGTT	180
10	GAAATGGAAG TTCGTGAATT ATTATCTAAA TATGGATTG ATGGCGATAA CACACCAGTT	240
	ATTCGTGGTT CAGGTCTTAA GGCTTTAGAA GGAGATCCAG TTTGAGAAGC AAAAATTGAT	300
	GAATTAATGG ACGCAGTTGA TTCATGAATT CCATTACCAAG AACGTAGTAC TGACAAACCA	360
15	TTCTTATTAG CAATTGAAGA TGTATTACA ATTTCAGGAC GTGGTACAGT AGTAACTGGA	420
	CGTGTGAAAC GTGGTGTATT AAAAGTTAAT GATGAGGTTG AAATTGTTGG TCTAAAAGAC	480
20	ACTCAAAAAA CTGTTGTTAC AGGAATTGAA ATGTTTAGAA AATCATTAGA TCAAGCTGAA	540
	GCTGGTGATA ATGCTGGTAT TTTATTACGT GGTATTAAAA AAGAAGATGT TGAACGTGGT	600
	CAAGTACTTG TAAAACCAGG ATCAATTAAA CCTCACCGTA CTTTACTGC TAAAGTTTAT	660
25	ATTCTTAAAA AAGAAGAAGG TGGACGTCAT ACACCTATTG TTTCAGGATA CCGTCCACAA	720
	TTCTATTITA GAACAACAGA TGTAACAGGT GCTATTTCAT TACCTGCTGG TGTTGATTG	780
30	GTATGCCAG GTGATGACGT TGAAATGACT GTAGAATTAA TTGCTCCAGT TGCATTGAA	840
	GATGGATCTA AATTCTCAAT CCGTGAAGGT GGTAAAACGT TAGGTCAATGG T	891

35 (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

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

(vi) PROCEDENCIA ORIGINAL:

(A) ORGANISMO: *Wolinella succinogenes*

50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO 171:

55

60

65

ES 2 329 202 T3

	<b>AACATGATTA CAGGTGCTGC TCAAATGGAT GGCGCGATTTC TTGTTGTTTC TGCGGCCGGAT</b>	<b>60</b>
5	GGCCCCATGC CCCAAACTAG GGAGCACATT CTTCTTCTC GACAAGTAGG CGTTCCCTAC	120
	ATCGTGGTTT TCTTGAACAA AGAAGATATG GTTGATGACG CTGAGCTTCT TGAGCTTGT	180
10	GAAATGGAAG TTAGAGAACT TCTTAGCAAC TACGACTTCC CTGGAGATGA CACTCCTIATC	240
	GTTGCAGGTT CCGCTCTTAA AGCTCTTGAA GAGGCTAACG ACCAGGAAAA TGTTGGCGAG	300
15	TGGGGCGAGA AAGTATTGAA GCTTATGGCT GAGGTTGACC GATATATTCC TACGCCTGAG	360
	CGAGATGTGG ATAAGCCTTT CCTTATGCCT GTTGAAGACG TATTCTCCAT CGCGGGTCGT	420
20	GGAACCGTTG TGACAGGAAG AATTGAAAGA GGCGTGGTTA AAGTCGGTGA CGAAGTAGAA	480
	ATCGTTGGTA TCCGAAACAC ACAAAAAAACA ACCGTAAC TG GCGTTGAGAT GTTCCGAAAA	540
25	GAGCTCGACA AGGGTGAGGC GGGTGACAAC GTTGGTGGTC TTTTGAGAGG CACCAAGAAA	600
	GAAGATGTG AGAGAGGTAT GGTTCTTGT AAAATAGGTT CTATCACTCC TCACACTAAC	660
	TTTGAAGGTG AAGTTTACGT TCTTCCAAA GAGGAAGGCG GACGACACAC TCCATTCTTC	720
30	AATGGATAACC GACCTCAGTT CTATGTTAGA ACTACAGACG TTACCGGTTTC TATCTCTCTT	780
	CCTGAGGGCG TAGAGATGGT TATGCCTGGT GACAACGTTA AGATCAATGT TGAGCTTATC	840
	GCTCCTGTAG CCCTCGAAGA GGGAACACGA TTCGCGATCC GTGAAGGTGG TCGAACCGTT	900
35	<b>GGTGCAGGTT</b>	<b>909</b>

(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
- 50 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: DNA (genómico)
- (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
  - (B) POSICIÓN: 6
  - 55 (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"
- (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
  - (B) POSICIÓN: 12
  - 60 (D) OTRA INFORMACIÓN: /note= "n = inosina"
- (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: misc\_feature
  - (B) POSICIÓN: 18
  - 65 (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:

25 (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 174:

35 GAATAATTCC ATATCCTCCG

20

40

45

50

55

60

65