(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 401 183**

(51) Int. CI.:

C12Q 1/68 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.10.2007 E 07818883 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.12.2012 EP 2097541**

(54) Título: **Balizas de ácidos nucleicos para hibridación fluorescente in situ y tecnología de chip**

(30) Prioridad:

10.10.2006 EP 06021267

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.04.2013

(73) Titular/es:

MIACOM DIAGNOSTICS GMBH (100.0%)
MEROWINGERPLATZ 1A
40225 DUSSELDORF, DE

(72) Inventor/es:

THRIPPLETON, IAN

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

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

Balizas de ácidos nucleicos para hibridación fluorescente *in situ* y tecnología de chip.

La presente invención se refiere a balizas para hibridación fluorescente *in situ* y tecnología de chip.

Antecedentes/técnica anterior

Debido al éxito generalizado de la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), los laboratorios de microbiología están esperando la aplicación de la biología molecular a la microbiología rutinaria. Esto se ha postergado por un problema inherente y fundamental de la biología molecular. Debido a su precisión, es necesario conocer qué herramientas (sondas) elegir. El prerrequisito es que se tiene que especificar una petición respecto a los organismos que se van a detectar. En las muestras clínicas, sin embargo, no se sabe cuál de los más de 2.000 patógenos clínicamente relevantes es el agente causal de una infección. Una estrategia racional resuelve el problema

- Debe focalizarse en el 95% de los organismos que causan problemas
- Si se conoce dónde se ha tomado la muestra, y existen datos clínicos, el número de organismos puede reducirse a entre 2 y 16.
- El número de organismos para cubrir el percentil 95 en la mayor parte de las muestras clínicas es del orden de 100

Este razonamiento hace que sea económicamente factible realizar un ensayo basado en sonda de ADN de una manera rutinaria.

El agrupamiento de microorganismos y el ensayo muy rápido para presencia/ausencia de microorganismos específicos o un rango de microorganismos también es relevante en otros campos de los ensayos microbiológicos: Bancos de sangre, Industria farmacéutica, Industria cosmética e Industria alimentaria. Frecuentemente, los mismos organismos son relevantes en todas las disciplinas y por lo tanto se necesita estandarizar las condiciones de reacción para todas las sondas.

La detección de ARN ribosomal mediante Hibridación Fluorescente *in situ* (FISH) o utilizando tecnología de chip representa una manera eficaz de utilizar la sensibilidad y especificidad de las sondas de ADN sin tener que usar una etapa de amplificación enzimática. FISH se basa en dos estrategias para la detección *in situ* de dianas generando una señal lo suficientemente fuerte como para ser detectada con dispositivos de medición estándar tales como microscopio de epifluorescencia:

1. En una célula están presentes moléculas idénticas en números suficientes como para unirse a una sonda específica de oligonucleótido o análogo de nucleótido con un fluoróforo cada una.

2. Sondas grandes que portan una pluralidad de fluoróforos, por ejemplo, cósmidos marcados.

La tecnología FISH para la identificación de microorganismos en sus entornos respectivos es muy conocida en la técnica. La aplicación de FISH para la detección de patógenos tiene un interés especial para la microbiología clínica y la infectología, en las que FISH se distingue por su velocidad y rentabilidad.

La detección de ARNr con la tecnología de chip también exime de la necesidad de amplificar la diana. El ARNr total se extrae de una muestra y se pone en un chip. Se concentran sondas específicas en un área superficial pequeña y atraen las moléculas de ARNr respectivas para proporcionar señales específicas de presencia/ausencia. Con el fin de hacer que dichos chips sean económicamente viables necesitan ser usados repetidamente con las menores manipulaciones posibles. Además, la estandarización de las características de la sonda es primordial para la generación de resultados reproducibles.

Con el fin de obtener aceptación en un entorno rutinario, las sondas deben diseñarse de manera tal que todas las sondas para un estado patológico puedan correrse simultáneamente bajo condiciones idénticas en un recipiente (chips, dispositivos microfluídicos o placas de microtitulación). En el diseño de las sondas y para preparar sondas económicamente viables, debe tenerse en cuenta que una sonda puede ser relevante para diferentes estados patológicos. Por lo tanto, no sólo un conjunto de sondas sino todas las sondas deben funcionar bajo condiciones de hibridación idénticas. Por consiguiente, deben ensayarse la secuencia y longitud de las sondas de trabajo.

La selección y definición de una sonda de trabajo no puede realizarse por una simple comparación de secuencia y determinación de un valor T_m teórico. Dependiendo del algoritmo aplicado, se obtiene un amplio conjunto de valores que no proporciona una guía respecto a la elección de la secuencia de la sonda adecuada para condiciones de hibridación estandarizadas.

La elección del algoritmo y de los factores que influyen en la calidad de una sonda se discute ampliamente en la técnica (1-7). Una guía adicional puede buscarse comparando secuencias y la posición real en la estructura

tridimensional del ribosoma. En un intento de racionalizar el diseño de sondas, Behrens et al (8) investigaron la correlación entre los sitios de hibridación y la accesibilidad real con la ayuda del modelo tridimensional 3Å del ribosoma. Sus descubrimientos demostraron que el SDS usado en los procedimientos in situ tiene un efecto desnaturalizante predominante, no capturado por los algoritmos que predicen las estructuras secundarias.

Un problema adicional tanto en la tecnología FISH como de chip es que el procedimiento requiere una etapa de lavado astringente para eliminar las sondas no unidas, lo que requiere etapas de manipulación, reactivos y tiempo adicionales. El éxito de una hibridación puede depender ampliamente de la habilidad y precisión aplicadas en la etapa de lavado. Sin embargo, las aplicaciones rutinarias requieren etapas y manipulación mínimas, lo más importante es que deben ser independientes de las habilidades individuales.

Una solución a la reducción de etapas sería la aplicación de transferencia de energía resonante de fluorescencia ("FRET") en la formación de horquilla de un oligonucleótido o análogo de nucleótido (baliza molecular). En la técnica se conocen varias estrategias para el desarrollo de balizas y las descripciones generalizadas para su construcción están disponibles libremente (13). Las balizas se usan ampliamente en PCR en tiempo real, en la que se hibridan en disolución a un número creciente de moldes generados por las enzimas amplificadoras (15). Sólo se han hecho unos pocos intentos para generar balizas para la detección/identificación de bacterias en membranas (14). Se construyó una baliza exitosa para detectar E. coli en células completas con una sonda de ácido nucleico peptídico (PNA). La sonda de ADN correspondiente no proporcionó un rendimiento adecuado (16). La producción de balizas de PNA adicionales está limitada debido a la baja solubilidad de los oligonucleótidos basados en PNA según se establece en las recomendaciones de diseño (17).

La Patente CA 2176266/EP 0745690 proporciona una guía para la construcción de tallos universales para PCR en tiempo real (9). Sorprendentemente, estas recomendaciones no proporcionan balizas de trabajo cuando se combinan con sondas diseñadas para identificar microorganismos *in situ*. La PCR en tiempo real se realiza en disolución mientras que tanto ISH (hibridación *in situ*) como los chips requieren dianas fijadas. Sus detalles termodinámicos no eran compatibles con los requerimientos de la hibridación *in situ* y FRET. Así, no pudieron predecirse tallos de trabajo universales para aplicaciones con dianas fijadas. Por lo tanto era necesario buscar empíricamente balizas específicas que se ajustaran a oligonucleótidos o análogos de nucleótidos individuales con el fin de conseguir una pluralidad de balizas que funcionaran bajo especificaciones ISH idénticas.

En la selección de balizas ISH debe tenerse cuidado para que el tallo no dificulte el equilibrio delicado de hibridación hacia ARN enrollado en grandes complejos proteína(ARN tales como ribosomas. La accesibilidad de los sitios de unión se discute ampliamente en la técnica y se resume en (1).

Las limitaciones adicionales en el diseño de una sonda baliza son proporcionadas por el tamaño de los poros generados en la pared celular durante el procedimiento ISH. La adición del mismo tallo a diferentes sondas resulta en balizas claramente individuales. Una pluralidad de sondas forman ya bucles en horquilla y la adición de un tallo no resulta en la formación de una "baliza". Además, la simple adición de bases para formar pares complementarios puede incrementar la T_m en un grado tal que termodinámicamente se prefiere la horquilla en lugar de la formación de híbridos. Hay que considerar tallos especiales que empujen a la secuencia a la formación de balizas a la vez que se mantiene la T_m en o por debajo de la del híbrido. Las enseñanzas respecto al diseño de balizas (13) muestra que el incremento de la longitud del tallo en un par de bases incrementa la T_m 5^0C y que la T_m del tallo debería ser 10^0C mayor que la T_m de la secuencia que hibrida.

FISH con microorganismos individuales, tales como bacterias, basado en secuencias de ARNr específicas, puede ser difícil debido al impedimento estérico del ARNr en el ribosoma. En otras palabras, una baliza que forme una horquilla puede hibridar mal con la secuencia diana de ARNr incluida.

Es por lo tanto la materia de la presente invención proporcionar balizas moleculares que superen las desventajas descritas anteriormente al menos parcialmente. La solución proporcionada en la presente invención y las realizaciones preferidas de ésta se describen en las reivindicaciones.

La materia de la presente invención es un ácido nucleico capaz de formar un híbrido con una secuencia de ácido nucleico diana y capaz de formar una estructura en horquilla si no se forma ningún híbrido con la secuencia diana, comprendiendo dicho ácido nucleico

(a) una parte de ácido nucleico que comprende

(a1) una secuencia complementaria a la secuencia de ácido nucleico diana,

(a2) un par de dos secuencias complementarias capaces de formar un tallo,

(b) un efector y un inhibidor, en el que el inhibidor inhibe al efector cuando el ácido nucleico forma una estructura en horquilla y en el que el efector es activo cuando el ácido nucleico no está formando una estructura en horquilla.

El ácido nucleico de la presente invención capaz de formar un híbrido con una secuencia de ácido nucleico diana y capaz de formar una estructura en horquilla si no se forma ningún híbrido con la secuencia diana también se refiere

en la presente memoria como "baliza", "baliza molecular", "horquilla" o "bucle de horquilla", en el que la forma "abierta" (no se forma tallo) así como la forma "cerrada" (la baliza forma un tallo) están incluidas. La forma abierta incluye una baliza que no forma un híbrido con una secuencia diana y una baliza que forma un híbrido con la secuencia diana.

En particular, las dos secuencias complementarias (a2) están flanqueando la secuencia (a1), es decir, la primera secuencia (a2) está unida al extremo 3' de la secuencia (a1) y la segunda secuencia (a2) está unida al extremo 5' de la secuencia (a1).

El híbrido de la secuencia (a1) con la secuencia diana también se refiere en la presente memoria como "híbrido con la secuencia cognada" o como "híbrido cognado".

En la presente invención, el efector puede estar unido a una de las dos secuencias complementarias capaces de formar un tallo, mientras que el inhibidor puede estar unido a la otra de las dos secuencias complementarias, de manera que el inhibidor esencialmente inhibe la actividad del efector cuando se forma un tallo, y el efector es activo cuando la horquilla está abierta. Preferiblemente, el efector está unido al extremo 5' o al extremo 3' de la baliza, respectivamente, o a una posición que está a 1, 2, 3, 4, ó 5 nucleótidos de distancia del extremo 5' o del extremo 3', respectivamente. El inhibidor está unido preferiblemente al otro extremo no cubierto por el efector, es decir, al extremo 3' o al extremo 5', respectivamente, o a una posición que está a 1, 2, 3, 4, ó 5 nucleótidos de distancia del extremo 3' o del extremo 5', respectivamente.

El diseño de los bucles de horquilla descritos en la presente memoria se diferencia por lo tanto fundamentalmente de las balizas muy conocidas en la técnica.

La hibridación de la baliza de la presente invención con la secuencia diana puede tener lugar en condiciones en las que el bucle está abierto. Una baliza que no forma un tallo cuando hibrida es capaz de hibridar con una secuencia de ARNr diana, por ejemplo, y por lo tanto puede conseguir una hibridación exitosa.

Este objetivo se consigue, por ejemplo, por una T_m de la baliza (es decir, la T_m del tallo) que es esencialmente igual a o menor que la T_m del híbrido cognado (es decir, el híbrido de la baliza con la secuencia diana). Así, la hibridación con la secuencia diana tiene lugar cuando el tallo está abierto, por ejemplo, si la hibridación tiene lugar en condiciones esencialmente sin Mg^{2+}.

"T_m esencialmente igual" del híbrido cognado y el tallo de la baliza se refiere a temperaturas de fusión que se diferencian en menos de 5^0C, preferiblemente menos de 3^0C, más preferiblemente menos de 2^0C, más preferiblemente menos de 1^0C, más preferiblemente menos de $0,5^0$C, incluso más preferiblemente menos de $0,2^0$C, lo más preferiblemente menos de $0,1^0$C.

Con el fin de conseguir una inhibición del efector por el inhibidor, formando los dos parte de la baliza, en aquellas moléculas de baliza que no hibridan con la secuencia diana, la formación del tallo debe inducirse después de la reacción de hibridación. Esto puede conseguirse, por ejemplo, con una baliza que tiene una $\Delta G < 0$, de manera que la horquilla se formará espontáneamente. Además, la formación del tallo puede introducirse lavando con un tampón que contiene Mg^{2+} como se describe en la presente memoria.

En particular, los bucles de la horquilla se construyen de una manera tal que en condiciones de hibridación estandarizadas (por ejemplo, en condiciones esencialmente sin Mg^{2+}) el tallo de la baliza está abierto de manera que las posibles limitaciones estéricas no dificultan el proceso de hibridación. Por ejemplo, las limitaciones estéricas pueden estar presentes cuando la secuencia diana es una secuencia de ARNr. Si el efector es un fluoróforo, el fluoróforo no se extinguirá por la gran proximidad de las proteínas ribosomales.

Las condiciones adecuadas para la inducción de la formación del tallo después de la hibridación incluyen un tampón que contiene Mg^{2+}, por ejemplo que contiene aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mM Mg^{2+}, más particular aproximadamente 5 a aproximadamente 15 mM Mg^{2+}, incluso más particular aproximadamente 8 a aproximadamente 12 mM Mg^{2+}, lo más particular aproximadamente 10 mM Mg^{2+}. El tampón puede tener un pH > 8.

Además, las balizas funcionan en su totalidad y no pueden diseccionarse en tallo y bucle ya que el efecto del vecino más próximo y apilamiento tiene una gran influencia en sus propiedades termodinámicas. Las balizas preferidas de la presente invención se resumen en la Tabla 1. Éstas muestran claramente que la secuencia tallo preferida es independiente de la ΔG, T_m, contenido de GC o longitud de la secuencia elegida para identificar una especie.

En la presente invención, se establecen las especificaciones termodinámicas para la construcción individual de las balizas adecuadas para condiciones estandarizadas: La energía de Gibbs (ΔG) para la formación de la baliza tiene que diseñarse de manera tal que

- La baliza se formará espontáneamente ($\Delta G < 0$) en ausencia de una secuencia diana cognada en condiciones de hibridación.
- La ΔG del híbrido cognado es significativamente menor (es decir, más negativa) que la ΔG de la baliza.

- La ΔG respectiva de la baliza es menor que un emparejamiento erróneo o secuencia no cognada.

- La T_m para la formación de la baliza tiene que diseñarse de manera tal que la T_m de la baliza sea menor que o esencialmente la T_m del híbrido.

Se prefiere que la ΔG del híbrido cognado esté en el intervalo de aproximadamente -17 a aproximadamente -25 kcal/mol, preferiblemente aproximadamente -18 a aproximadamente -24 kcal/mol, más preferiblemente aproximadamente -19 a aproximadamente -23 kcal/mol, lo más preferiblemente aproximadamente -20 a aproximadamente -22 kcal/mol en condiciones de hibridación.

También se prefiere que la ΔG de los híbridos cognados en condiciones de hibridación no varíe más de 5 kcal/mol, preferiblemente no más de 3 kcal/mol, más preferiblemente 2 kcal/mol y lo más preferiblemente 1 kcal/mol.

Ocasionalmente, las secuencias cognadas pueden formar bucles de horquilla espontáneos, en los que sólo necesita ser suplementado un brazo para conseguir la formación de la baliza. Si la secuencia diana es una secuencia de ARNr, esto, sin embargo, da lugar al efector, por ejemplo el fluoróforo, en gran proximidad con proteínas del ribosoma potencialmente extintoras. En una configuración preferida, el tallo se extiende. Con el fin de ajustarse a dichas especificaciones termodinámicas como se describe en la presente memoria incluso con un tallo extendido, se concibió un método para mantener tanto la T_m como la ΔG dentro de las especificaciones. Según la presente invención, esto puede conseguirse por la introducción de al menos un nucleótido o análogo de nucleótido no emparejado. En la presente invención, la introducción de al menos un nucleótido no emparejado puede aumentarse por la introducción de un nucleótido o análogo de nucleótido adicional, de manera que las dos secuencias complementarias tienen una longitud diferente y el tallo se "dobla" (véase por ejemplo la posición 36 en SEQ ID NO: 1) o/y puede conseguirse por un reemplazo de un nucleótido o análogo de nucleótido emparejado por un nucleótido o análogo de nucleótido no emparejado (véase por ejemplo la posición 5 en SEQ ID NO: 7). Así, en la presente invención, las "secuencias complementarias capaces de formar un tallo" también pueden incluir al menos un nucleótido no emparejado, preferiblemente 1, 2, 3, 4 ó 5 nucleótidos no emparejados.

Como puede verse en la Tabla 2 ninguna de las secuencias descritas aquí podría concebirse como balizas de PNA debido a las limitaciones mencionadas en la construcción de oligonucleótidos de PNA. Siendo la limitación principal la longitud del oligonucleótido requerida para tener tanto suficiente especificidad como una longitud de tallo suficiente para asegurar el re-plegamiento del bucle cuando no hibrida. Es por lo tanto necesario concebir balizas de ADN que sean capaces de hibridar con afinidad y velocidad suficientes para permitir la identificación *in situ* de microorganismos.

La baliza de la presente invención no es una baliza de PNA. El núcleo de la baliza es preferiblemente un núcleo de ácido nucleico. La baliza puede comprender un análogo de ácido nucleico tal como un análogo de desoxirribonucleótido o un análogo de ribonucleótido en la parte de ácido nucleico o/y en el conector si está presente un conector. Este análogo es preferiblemente un análogo de nucleótido modificado en el resto de azúcar, la base o/y los grupos fosfato. El análogo de nucleótido no es preferiblemente un bloque de estructura PNA.

Según el mencionado percentil 95 en muestras clínicas, los patógenos pueden agruparse en grupos relacionados por enfermedad. Las sondas frente a estos organismos deben funcionar simultáneamente en las condiciones mencionadas, especialmente si todas las sondas van a utilizarse en un chip. La aplicación en chip requiere una estandarización estricta tanto de las características del cognado como del tallo. Si se emplea una combinación de más de una sonda, es decir, al menos dos sondas, todas las sondas tienen que diseñarse para funcionar en el mismo porta/chip simultáneamente.

Otra materia de la presente invención es una combinación que comprende al menos 2, preferiblemente al menos 10, al menos 20, al menos 30, al menos 40 o al menos 50 balizas. La combinación puede comprender pero no está limitada a todas las balizas de la Tabla 1, preferiblemente como máximo 100, como máximo 80, como máximo 70, como máximo 60, como máximo 50, como máximo 40, como máximo 30 o como máximo 20 balizas.

En una combinación de la presente invención, las balizas pueden tener la misma o diferentes secuencias diana. Se prefiere que las secuencias diana de las balizas individuales sean diferentes.

En una combinación de balizas de la presente invención, la diferencia en ΔG de las balizas individuales del híbrido de las secuencias de (a2) o/y el híbrido de la secuencia de (a1) con una secuencia diana puede ser como máximo aproximadamente 4 kcal/mol, preferiblemente como máximo aproximadamente 3 kcal/mol, más preferiblemente como máximo aproximadamente 2 kcal/mol, y lo más preferiblemente como máximo aproximadamente 1 kcal/mol respecto a la secuencia cognada.

En una combinación, los valores de T_m de las balizas individuales respecto a su secuencia cognada respectiva pueden diferenciarse como máximo aproximadamente 3^0C, preferiblemente como máximo aproximadamente 2^0C, más preferiblemente como máximo aproximadamente 1^0C.

Se prefiere que en la combinación de la presente invención los ácidos nucleicos individuales funciones uniformemente. "Funcionar uniformemente" significa que la hibridación exitosa puede conseguirse con diferentes

sondas de ácidos nucleicos de la presente invención en las mismas condiciones de hibridación, por ejemplo, en condiciones de hibridación estandarizadas. En otras palabras, los ácidos nucleicos que funcionan uniformemente de la presente invención no requieren la optimización individual de las condiciones de hibridación.

Dependiendo del estado patológico, determinados patógenos son, lo más frecuentemente, los agentes causales y pueden así reunirse en grupos de diagnóstico. Puede requerirse la adición u omisión de determinados patógenos dependiendo de la epidemiología regional con el fin de alcanzar el percentil 95. El listado preferido de la Tabla 1 abarca los requerimientos de Europa y la mayor parte de América del Norte.

Se describe aún más un kit o chip que puede contener al menos dos balizas de la Tabla 1 requeridas para detectar los organismos listados opcionalmente junto con los reactivos de hibridación requeridos. Preferiblemente, el chip o kit contiene al menos 10, al menos 20, al menos 30, al menos 40 o al menos 50 balizas. El kit o chip puede contener como máximo todas las balizas de la Tabla 1, preferiblemente como máximo 100, como máximo 80, como máximo 70, como máximo 60, como máximo 50, como máximo 40, como máximo 30 o como máximo 20 balizas.

La lista de agrupaciones y kits resultantes para la detección, enumeración e identificación de los organismos listados se reúne en la Tabla 1.

Las balizas pueden aplicarse en ensayos diseñados para realizarse en tubos, placas de microtitulación, pocillos de microtitulación de filtración, portas y chips. La detección puede hacerse con fluorescencia, fluorescencia en tiempo resuelto, con una pluralidad de fluoróforos y utilizando enzimas electroquímicas.

En la realización preferida para FISH, el ensayo se realiza en portas de vidrio diseñados para contener y separar varias muestras.

Otra materia de la presente invención es un método de hibridación que comprende

(a) poner en contacto al menos un ácido nucleico de cualquiera de la presente invención o una combinación de ácidos nucleicos de la presente invención con una muestra biológica,

(b) hibridar el ácido nucleico o la combinación de ácido nucleico de (a) con la muestra en condiciones en las que el tallo del ácido nucleico está abierto, por ejemplo, hibridar con un tampón esencialmente sin Mg^{2+}, e

(c) inducir condiciones que permitan la formación del tallo en aquellas moléculas de ácido nucleico de (a) que no forman un híbrido con la muestra, por ejemplo, lavar con un tampón que contiene magnesio, por ejemplo a pH>8 o/y a temperatura ambiente.

La muestra puede ser cualquier muestra de origen biológico, tal como una muestra clínica o alimentaria, que se sospecha que comprende un ácido nucleico para detectarse por la baliza. La muestra puede ser una muestra que comprende microorganismos, tales como bacterias, levaduras y mohos, en particular bacterias Gram positivas o/y Gram negativas.

También puede emplearse en el método de hibridación un kit o chip como se describe en la presente memoria.

"Esencialmente sin Mg^{2+}" se refiere a una concentración de Mg^{2+} de menos de 1 mM, preferiblemente menos de 0,1 mM, más preferiblemente menos de 0,05 mM, lo más preferiblemente menos de 0,01 mM.

El tampón en la etapa (c) puede contener aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mM Mg^{2+}, más particular aproximadamente 5 a aproximadamente 15 mM Mg^{2+}, incluso más particular aproximadamente 8 a aproximadamente 12 mM Mg^{2+}, lo más particular aproximadamente 10 mM Mg^{2+}.

Puede aplicarse cualquier protocolo de hibridación adecuado que comprende la aplicación de una disolución esencialmente sin Mg^{2+} y una disolución que contiene Mg^{2+} como se ha indicado anteriormente. Por ejemplo, puede usarse el protocolo siguiente: Se aplican alicuotas de muestras clínicas a campos definidos en los portas. Preferiblemente, se aplica una cantidad definida de 10 μl y se seca.

1. Las muestras se fijan con calor a los portas.

2. Los organismos Gram positivos se someten a una digestión con Lisozima/Lisostafina según especificaciones publicadas. En una realización preferida, la digestión se lleva a cabo durante 7 minutos a 46^0C en una cámara humidificada.

3. Se forman poros por ejemplo sumergiendo el porta en 100% metanol o etanol durante varios minutos. En una realización preferida, el metanol o etanol se enfría en hielo y el tiempo de inmersión es 7 minutos para organismos Gram negativos y 3 minutos para organismos Gram positivos.

4. El porta se seca en un secador de portas, por ejemplo a 55^0C.

5. Las balizas se disuelven en un tampón de hibridación (que puede ser esencialmente sin Mg^{2+}) y se aplican a cada campo del porta mientras están en el secador de portas.

6. El porta se pone en una cámara de hibridación, humidificada con tampón de hibridación. En una realización preferida, el porta se cubre con un cubre portas hidrofóbico y se pone en un secador de portas cubierto a 46^0C durante 12 minutos.

7. El porta se lava con un tampón que contiene magnesio, por ejemplo a pH>8 o/y a temperatura ambiente. El tampón puede contener aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mM Mg^{2+}, más particular aproximadamente 5 a aproximadamente 15 mM Mg^{2+}, incluso más particular aproximadamente 8 a aproximadamente 12 mM Mg^{2+}, lo más particular 10 mM Mg^{2+}.

8. El porta se seca y puede montarse con fluido de montaje y puede leerse bajo un microscopio de epifluorescencia con un aumento total, por ejemplo, de 400x, 600x ó 1.000x.

Si se usan otros recipientes para la hibridación, la detección puede ser mediante citometría de flujo o lector de fluorescencia automatizado muy conocido en la técnica.

Otra realización más comprendida se refiere a aplicaciones de chip de las balizas de la presente invención. Para las aplicaciones de chip, es necesario unir covalentemente las balizas a una superficie transportadora. Para facilitar esto, la base 3' terminal de las balizas diseñadas puede biotinilarse o unirse mediante un reactivo hetero-bifuncional a una enzima usando métodos muy conocidos en la técnica de la química de proteínas y ácidos nucleicos. Las balizas biotiniladas pueden añadirse a chips recubiertos con estreptavidina que pueden obtenerse libremente de fuentes comerciales (19). En esta aplicación, los bucles de horquilla biotinilados respectivos pueden unirse a una pluralidad de campos distintos de un chip, por ejemplo al menos 10, al menos 50, al menos 100, al menos 200 o al menos 500 campos o como máximo 500, como máximo 400 o como máximo 300 campos. El ARN total puede extraerse de las muestras usando kits disponibles comercialmente (20) y puede aplicarse al chip en condiciones de hibridación. Después de la hibridación, el chip puede lavarse brevemente con un tampón que contiene magnesio, por ejemplo a pH>8. La fluorescencia en un campo indica la presencia de la secuencia diana específica, por ejemplo, un ARN específico que indica la presencia de un organismo respectivo en la muestra.

Con el fin de ampliar los ensayos de hibridación a aplicaciones rutinarias a gran escala, es necesario analizar una pluralidad de muestras secuencialmente en un chip reusable. El diseño del chip debe permitir la producción a gran escala, un control de calidad eficaz y una vida larga a temperatura ambiente.

Con el fin de cumplir con estas especificaciones, en otra realización de la presente invención, una baliza de la presente invención se une covalentemente a una enzima que produce una señal catalizando una reacción específica. En particular, la enzima puede producir una señal electroquímica. Las enzimas adecuadas comprenden, pero no están limitadas a, tirosinasa, peroxidasa, sulfito oxidasa, fosfatasa alcalina, glucosa oxidasa, guanina oxidasa. En una realización preferida, la enzima se obtiene recombinantemente de una secuencia genómica de un organismo termo o hipertermofílico para volverla estable en condiciones de hibridación y temperaturas elevadas (21). La enzima puede estar unida a la baliza en un extremo de la molécula de baliza. En el otro extremo de la molécula, puede estar unido un inhibidor que es capaz de inhibir la actividad de la enzima. Cuando no está presente ninguna secuencia cognada para dichos bucles de horquilla el inhibidor inhibe la enzima y no se genera ninguna señal. En presencia de una secuencia cognada el bucle permanecerá no plegado con el inhibidor alejado de la enzima y la enzima producirá una señal electroquímica que puede detectarse por dispositivos bien descritos en la técnica. Puede emplearse un conector para la unión de la enzima o/y el inhibidor, en particular para la unión del inhibidor.

En una realización preferida adicional, la glucosa oxidasa se une a un extremo de dichos bucles de horquilla y un inhibidor de la glucosa oxidasa, tal como un nucleótido de adenina o análogo de nucleótido de adenina, se une al otro extremo del bucle de horquilla. Los nucleótidos de adenina son inhibidores conocidos de la glucosa oxidasa (22, 23). Puede emplearse un conector para la unión de la glucosa oxidasa o/y el inhibidor de la glucosa oxidasa, en particular para la unión del inhibidor de la glucosa oxidasa. Cuando no está presente ninguna secuencia cognada para dichos bucles de horquilla, el inhibidor, en particular el nucleótido de adenina, inhibe la enzima y no se genera ninguna señal. En presencia de una secuencia cognada, el bucle permanecerá no plegado con el inhibidor alejado de la enzima y la enzima producirá una señal electroquímica que puede detectarse por dispositivos bien descritos en la técnica.

Para realizar dicho ensayo, se han desarrollado una gran pluralidad de secuencias con características idénticas (Tabla 1), que pueden aplicarse a posiciones definidas en el dispositivo de detección (chip) respectivamente. El ARN total se extrae de una muestra utilizando un procedimiento de extracción y kits fácilmente disponibles en el mercado (20) y se pone en el chip en condiciones de hibridación. Después de la hibridación, el chip se lava con tampón de sustrato a 46^0C y se lee la señal. Al final del ciclo, todo el ARN hibridado se elimina por lavado con tampón de hibridación a temperatura elevada. Preferiblemente, la temperatura de lavado se elige 10^0C por encima de la T_m respectiva. En una realización preferida, el chip se lava a 60^0C con tampón de hibridación. La temperatura puede bajarse entonces hasta 46^0C para equilibrar para el siguiente ciclo analítico.

Leyendas

La Tabla 1 describe secuencias de baliza de la presente invención. Abreviaturas: R&G: un marcador fluorescente rojo o/y verde puede unirse a la baliza, tal como Cy3 o FITC o un derivado de éstos.

La Tabla 2 describe que las balizas de PNA no son adecuadas en la presente invención. Los cálculos se realizaron con las secuencias de la Tabla 1 asumiendo que la baliza era una baliza de PNA. A diferencia de las balizas de ADN, todos los cinco criterios siguientes tienen que cumplirse: contenido de GC < 60%, < 3 bases autocomplementarias, 4 purinas seguidas, longitud máxima de 18, palíndromos de secuencia inversa o repeticiones u horquillas. "Sí" ("No") en la Tabla 2 indica que el criterio se cumple (no se cumple). La columna "Final" indica si una baliza PNA es adecuada en la presente invención ("Sí") o no ("No"). "No" en final indica que uno de los cinco criterios no se cumple. "Sí" indicaría que todos los criterios se cumplen. Se juzga que todas las secuencias de la Tabla 2 son "No". Así, ninguna de las secuencia de la Tabla 1 sería adecuada en una baliza PNA.

REFERENCIAS

1. Sebastian Behrens, Caroline Rühland, João Inácio, Harald Huber, A. Fonseca, I. Spencer-Martins, Bernhard M. Fuchs, y Rudolf Amann, In Situ Accessibility of Small-Subunit rRNA of Members of the Domains *Bacteria*, *Archaea*, and *Eucarya* to Cy3-Labeled Oligonucletide or nucleotide analogue Probes , Applied and Environmental Microbiology, marzo 2003, p. 1748-1758, Vol. 69, No. 3
2. Wallace, R.B.; Shaffer, J.; Murphy, R.F.; Bonner, J.; Hirose, T.; Itakura, K. Nucleic Acids Res. 6, 3543 (1979).
3. Howley, P.M; Israel, M.F.; law, M-F.; Martin,M.A. J. Biol. Chem. 254, 4876.

   Las ecuaciones para ARN son:

   Tm = 79.8 + 18.5 log M + 58.4 (XG+XC) + 11.8(XG+XC)2 - 820/L - 0.35F

   Y para los híbridos ADN-ARN:

   Tm = 79.8 + 18.5 log M + 58.4 (XG+XC) + 11.8(XG+XC)2 - 820/L – 0.50F
4. Breslauer, K.J.; Frank, R.; Blšcker, H.; Marky, L.A. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 3746-3750(1986). Para ARN véase: Freier, S.M.; Kierzek, R.; Jaeger, J.A.; Sugimoto, N.; Caruthers, M.H.; Neilson, T.; Turner, D.H. Proc. Natl. Acad. Sci. 83, 9373-9377 (1986).
5. Rychlik, W.; Spencer, W.J.; Rhoads, R.E. (1990) Nucl. Acids Res. 18 (21), 6409-6412.
6. Owczarzy R., You Y., Moreira B.G., Manthey J.A., Huang L., Behlke M.A., Walder J.A. (2004) Effects of Sodium Ions on DNA Duplex Oligomers: Improved Predictions of Melting Temperatures, Biochemistry, 43:3537-3554.
7. Sebastian Behrens,[1] Bernhard M. Fuchs,[1] Florian Mueller,[2] y Rudolf Amann[1] Appl Environ Microbiol. 2003 August; 69(8): 4935–4941.
8. HYBRIDIZATION PROBES FOR NUCLEIC ACID DETECTION-UNIVERSAL STEMS vista del documento Patente número: CA2176266

Fecha de publicación: 1996-11-13,/EP0745690 (A2)

9. Tyagi, S., D. P. Bratu, y F. R. Kramer. 1998. Multicolor molecular beacons for allele discrimination. Nat. Biotechnol. 16:49–53.
10. Tyagi, S., y F. R. Kramer. 1996. Molecular beacons: probes that fluoresce upon hybridization. Nat. Biotechnol. 14:303–308.
11. Schofield, P., A. N. Pell, y D. O. Krause. 1997. Molecular beacons: trial of a fluorescence-based solution hybridization technique for ecological studies with ruminal bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 63:1143–1147.
12. www.molecular-beacons.org
13. Molecular Beacons: Trial of a Fluorescence-Based Solution bv Hybridization Technique for Ecological Studies with Ruminal Bacteria PETER SCHOFIELD, ALICE N. PELL,* Y DENIS O. KRAUSE† APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Mar. 1997, p. 1143–1147
14. Steven Park, May Wong, Salvatore A. E. Marras, Emily W. Cross, Timothy E. Kiehn, Vishnu Chaturvedi, Sanjay Tyagi, y David S. Perlin ; Journal of Clinical Microbiology, August 2000, p. 2829-2836, Vol. 38, No. 8; Rapid Identification of *Candida dubliniensis* Using a Species-Specific Molecular Beacon
15. Chuanwu Xi, Michal Balberg, Stephen A. Boppart, y Lutgarde Raskin APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Sept. 2003, p. 5673–5678 Vol. 69, No. 9 Use of DNA and Peptide Nucleic Acid Molecular Beacons for Detection and Quantification of rRNA in Solution and in Whole Cells
16. Guidelines for Sequence Design of PNA Oligomers www.appliedbiosystems.com/support/seqguide.cfm
17. Tijssen, P. Hybridization with nucleic acid probes. parte I. Theory and nucleic acid preparation, p. 268. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
18. Nanogen, www.nanogen.com
19. Qiagene, www.Qiagene.com
20. Microbiology and Molecular Biology Reviews, March 2001, p. 1-43, Vol.

65, No. 1 Hyperthermophilic Enzymes: Sources, Uses, and Molecular Mechanisms for Thermostability, Claire Vieille y Gregory J. Zeikus

21. ELECTROCHEMICAL SENSORS FOR ENVIRONMENTAL MONITORING: A REVIEW OF RECENT TECHNOLOGY by JOSEPH WANG Department of Chemistry and Biochemistry, New Mexico State University Las Cruces, Nuevo Méjico 88003
22. Brenda, www.brenda.uni-koeln.de

REIVINDICACIONES

1. Un ácido nucleico capaz de formar un híbrido con una secuencia de ácido nucleico diana y capaz de formar una estructura en horquilla si no se forma ningún híbrido con la secuencia diana, comprendiendo dicho ácido nucleico

(a) una parte de ácido nucleico que comprende

(a1) una secuencia complementaria a la secuencia de ácido nucleico diana, en el que la secuencia de ácido nucleico diana es una secuencia de ácido nucleico de un miocoroganismo,

(a2) un par de dos secuencias complementarias capaces de formar un tallo,

(b) un efector y un inhibidor, en el que el inhibidor inhibe al efector cuando el ácido nucleico forma una estructura en horquilla y en el que el efector es activo cuando el ácido nucleico no está formando una estructura en horquilla y en el que el efector es un marcador luminiscente, en particular un marcador fluorescente y el inhibidor es un extintor,

caracterizado porque el ácido nucleico se construye en un método que comprende

(i) diseñar la secuencia de (a1) de manera que la ΔG del híbrido de la secuencia de (a1) con su secuencia diana está en el intervalo de aproximadamente -17 a aproximadamente -25 kcal/mol en condiciones de hibridación que comprenden hibridación en un tampón que tiene una concentración de Mg^{2+} de menos de 1 mM, y

(ii) diseñar las secuencias de (a2) de manera que la ΔG del híbrido de las secuencias de (a2) es menor de 0 en ausencia de la secuencia diana y mayor que la ΔG del híbrido de la secuencia de (a1) con su secuencia diana.

2. El ácido nucleico de la reivindicación 1, en el que la T_m del híbrido de las secuencias de (a2) es esencialmente igual a o menor que la T_m del híbrido de la secuencia de (a1) con la secuencia diana, por ejemplo, como máximo aproximadamente 5^0C, aproximadamente 4^0C, aproximadamente 3^0C, aproximadamente 2^0C o aproximadamente 1^0C menor en particular en un tampón que tiene una concentración de Mg^{2+} de menos de 1 mM.

3. El ácido nucleico de la reivindicación 1 ó 2, en el que la ΔG del híbrido de las secuencias de (a2) es menor que la ΔG de un híbrido del ácido nucleico con una secuencia que se empareja erróneamente o/y una secuencia diferente de la secuencia diana.

4. El ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la formación del tallo tiene lugar en presencia de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mM Mg^{2+}, en particular en presencia de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 mM Mg^{2+}, más particular en presencia de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 mM Mg^{2+}.

5. El ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la parte de ácido nucleico (a) consiste en ribonucleótidos, análogos de ribonucleótidos, desoxirribonucleótidos o/y análogos de desoxirribonucleótidos, siendo dichos análogos de nucleótidos diferentes de bloques estructurales de PNA.

6. El ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la parte de ácido nucleico (a) se selecciona de las secuencias baliza de la Tabla 1.

7. Una combinación que comprende al menos dos ácidos nucleicos según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

8. La combinación de la reivindicación 7, en la que los valores ΔG del híbrido de las secuencias de (a2) o/y el híbrido de la secuencia de (a1) con una secuencia diana de los ácidos nucleicos individuales se diferencia como máximo aproximadamente 4kcal/mol, o/y en el que los valores de T_m del híbrido de las secuencias de (a2) o/y el híbrido de la secuencia de (a1) con una secuencia diana de los ácidos nucleicos individuales se diferencia como máximo aproximadamente 3^0C.

9. La combinación de la reivindicación 7 u 8, en la que los ácidos nucleicos individuales funcionan uniformemente en las condiciones de hibridación requeridas para hibridar en condiciones de hibridación *in situ*.

10. Un método de hibridación *in situ* que comprende

(a) poner en contacto al menos un ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una combinación de ácidos nucleicos de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9 con una muestra biológica,

(b) hibridar el ácido nucleico o la combinación de ácido nucleico de (a) con la muestra en un tampón que tiene una concentración de Mg^{2+} de menos de 1 mM de manera que el tallo del ácido nucleico está abierto, e

(c) inducir condiciones que permitan la formación del tallo en aquellas moléculas de ácido nucleico de (a) que no forman un híbrido con la muestra, en el que la formación del tallo tiene lugar en un tampón que tiene una concentración de Mg^{2+} de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mM Mg^{2+}.

11. El método de la reivindicación 10, en el que la formación del tallo tiene lugar en un tampón que tiene una concentración de Mg^{2+} de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 mM Mg^{2+}, en particular aproximadamente 8 a aproximadamente 10 mM Mg^{2+}.

12. Uso de al menos un ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o/y una combinación de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9 en el método de la reivindicación 10 u 11 para identificar la presencia o ausencia de uno o una pluralidad de organismos, en particular microorganismos, en una muestra biológica tal como una pluralidad de materia viva o muerta de origen humano, animal o/y alimentario.

13. Uso de la reivindicación 12, que es un uso diagnóstico.

Tabla 1

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 1	-10	R&G Acinetobacter	B-Acibact-1	16S ARNr	652 - 669	650-667 V
	-50					
	-100					
L- 01- 2	-10	R&G Acinatobacter baumanii	B-Acinbaum-2	16S ARNr	67 - 86	66-83 =II
	-50					
	-100					
L- 01- 3	-10	R&G Actinomyces spp.				
	-50					
	-100					
L- 01- 4	-10	R&G Aspergillus spp				
	-50					
	-100					
L- 01- 5	-10	Aspergillus flavus	Aspfla	18s	NA	NA
	-50					
	-100					
L- 01- 6	-10	Aspergillus fumigatus	Aspfum	18s	NA	NA
	-50					
	-100					
L- 01- 7	-10	Aspergillus niger	Aspnig	18s	NA	NA
	-50					
	-100					

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 8	-10		Aspergillus terreus	Aspter	18s	NA	NA
	-50						
	-100						
L- 01- 9	-10	R&G	Bacteroides/Prevotella	B-BacPrev	16S ARNr		
	-50						
	-100						
L- 01- 10	-10	R&G	Borrelia burgdorferi	B-Borrburg	16S ARNr	39 - 58	38 - 54 =II; 48 - 65 = II
	-50						
	-100						
L- 01- 11	-10	R&G	Bordetella pertussis	B-Borper	23S ARNr	1768 - 1785	1768 - 1786 = IV
	-50						
	-100						
L- 01- 12	-10	R&G	Burkholderia cepacia complex = Option I	B-Burcep-complex-1	16S	425 - 449	431 - 448 = III
	-50						
	-100						
L- 01- 13	-10	R&G	Burkholderia cepacia complex, two beacons = Option II	B-Burcep-complex - 2a	16S	404 - 383	387-403 =IV
	-50						
	-100						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L-				B-Burcep-compl- 2b	16S	446 - 433	431-448 = III
L- 01- 14	-10	R&G	Burkholderia cepacia	B-Burcep-pure	16S	441 - 460	440-456 = I
	-50						
	-100						
L- 01- 15	-10	R&G	Burkholderia pyrrocinia / stabilis/ambifaria	B-Burstabpyramb	16S	407 - 424	413-429 = II
	-50						
	-100						
L- 01- 16	-10	R&G	Burkholderia dolosa/anthina	B-Burdolant	16S	474 - 458	443-460=II
	-50						
	-100						
L- 01- 17	-10	R&G	Burkholderia multivorans	B-Burmult	16S	475 - 463	455-473=VI
	-50						
	-100						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 18	-10	R&G	Burkholderia cenocepacia/vietnamiensis	B-Bur-vietceno	16S	475 - 458	455-473=VI
L- 01- 19	-10 -50 -100	R&G	Campylobacter (termófilo patogénico)	Ctherm	23S	1419	
L- 01- 20	-10 -50 -100	R&G	Campylobacter lari	Clari	16S ARNr		
L- 01- 21	-10 -50 -100	R&G	Campylobacter jejuni	Cpjej			
L- 01- 22	-10 -50 -100	R&G	Cp. *upsaliensis*	Cpups			
L- 01- 23	-10 -50 -100	R&G	Cp coli	Cpcoli			
L- 01- 24	-10 -50 -100	R&G	Cp coli -comp	Cpcolicomp			
L- 01- 25	-10 -50 -100	R&G	Chlamydia	S-G-Chla-0232-A-18			

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 26	-10	R&G Chlamydiaceae	S-F-Chlae-0574-a-A-18			
	-50					
	-100					
L- 01- 27	-10	R&G Chlamydiales	S-O-Chls-0523-a-A-18b			
	-50					
	-100					
L- 01- 28	-10	R&G Chlamydophila	S-G-Chlph-0583-a-A-18			
	-50					
	-100					
L- 01- 29	-10	R&G Chlamydia pneumoniae	B-Chlapneu	16S ARNr		
	-50					
	-100					
L- 01- 30	-10	R&G Grupo "Chlamydia psittaci"	S-S-Cps-1414-a-A-18			
	-50					
	-100					
L- 01- 31	-10	R&G Subgrupo de las Parachlamydiaceae	Bn9658			
	-50					
	-100					
L- 01- 32	-10	R&G Chlamydia ssp.	ChlamyA			
	-50					
	-100					
L- 01- 33	-10	R&G Chlamydia trachomatis	ChltraA			
	-50					
	-100					

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 34	-10	R&G Canda albicans	Can-alb-2	18S	314 - 295	NA
	-50					
	-100					
L- 01- 35	-10	R&G Canda krusei	Cankru-2	18S	146 - 169	NA
	-50					
	-100					
L- 01- 36	-10	R&G Candida dubliniensis	Can-dub-2	18S	187 - 206	NA
	-50					
	-100					
L- 01- 37	-10	R&G Candida glabrata	Can-gla-2	18S	379 - 363	NA
	-50					
	-100					
L- 01- 38	-10	R&G Candida parapsilosis	Can-para-2	18S	310 - 291	NA
	-50					
	-100					

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 39	-10	R&G	Candida spp	Can-spp-2	18S	366 - 347	NA
	-50						
	-100						
L- 01- 40	-10	R&G	Candida tropicales	Can-trop-3	18S	64 - 84	NA
	-50						
	-100						
L- 01- 41	-10		Candida lusitaniae				
	-50						
	-100						
L- 01- 42	-10	R&G	Citrobacter freundii	B-cifreu	23S rRNA	542 - 559	547-564 = III
	-50						
	-100						
L- 01- 43	-10	R&G	Clostridium botulinum	B-Clobot	16S rRNA	173 - 194	173-190IV, 181-198 = II
	-50						
	-100						
L- 01- 44	-10		Clostridium difficile	B-Clodiff	16S rRNA	73 - 51	38-54 = II; 55-72 =III
	-50						
	-100						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 45	-10	R&G	Clostridium spp	B-Clospp	16S ARNr	52 - 35	48-65 = II; 38-54 = II
	-50						
	-100						
L- 01- 46	-10	R&G	Clostridium perfringens	B-Cloper-Cp2-10	16S ARNr	212 - 189	199-215=II
	-50						
	-100						
L- 01- 47	-10	R&G	Clostridium perfringens	B-Cloper-Cp2-18	16S ARNr		
	-50						
	-100						
L- 01- 48	-10		Clostridium tetani	B-Clotet	16S ARNr	114 - 95	91-108= II;102-118 = III
	-50						
	-100						
L- 01- 49	-10		Cryptococcus neoformans				
	-50						
	-100						
L- 01- 50	-10	R&G	Enterobacteriaceae	B-EBAC-1791	23S ARNr	1811 - 1791	1787-1804=III
	-50						
	-100						
L- 01- 51	-10	R&G	Enterobacteriaceae	B-Entero-1247	16S ARNr	1264 - 1247	1248-1265=III
	-50						
	-100						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 52	-10	R&G Enterobacteriaceae	B-Entero+182	16S ARNr	Sbjct: 201 - 182	199-215= II
	-50					
	-100					
L- 01- 53	-10	R&G Enterococci	B-Entcoc	16S ARNr	242 - 225	218-235= I;236-252=II
	-50					
	-100					
L- 01- 54	-10	R&G Enterococcus faecalis	B-Ent-alis	16S ARNr	129 - 146	127-144 = III
	-50					
	-100					
L- 01- 55	-10	R&G Enterococcus faecium	B-Ent-ium	16S ARNr	192 - 212	191-209 =II
	-50					
	-100					
L- 01- 56	-10	R&G Escherichia coli	B-Ecol-On 1	16S ARNr	75 - 95	66-83= II; 73-90=IV
	-50					
	-100					
L- 01- 57	-10	R&G Eu-bacteria	Eub			
	-50					
	-100					

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 58	-10	R&G	Fusarium spp				
	-50						
	-100						
L- 01- 59	-10	R&G	Gardnerella vaginalis	Garvag			
	-50						
	-100						
L- 01- 60	-10	R&G	Haemophilus influenzae	B-Haeinf-2	16S ARNr	189 - 167	173 - 190=IV; 181-198=II
	-50						
	-100						
L- 01- 61	-10	R&G	Haemophilus influenzae	B-Haeinf-3	16S ARNr	183 - 162	163-180=IV
	-50						
	-100						
L- 01- 62	-10	R&G	Klebsiella pneumoniae	b-Klepne-2	16S ARNr	445 - 465	443*460 = II
	-50						
	-100						
L- 01- 63	-10	R&G	Klebsiella oxytoca	B-Kleboxy	16S ARNr	467 - 444	446-463 = II
	-50						
	-100						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código	Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 64 -10 -50 -100	R&G Lactobacillus brevis	B-Lacbrev	16S ARNr	84 - 63	63-80 = II
L- 01- 65 -10 -50 -100	R&G Mycobacterium avium				
L- 01- 66 -10 -50 -100	R&G Mycobacterium bovis				
L- 01- 67 -10 -50 -100	R&G Mycobacterium chelonae				
L- 01- 68 -10 -50 -100	R&G Mycobacterium fortuitum				
L- 01- 69 -10 -50 -100	R&G Mycobacterium gordonae				
L- 01- 70 -10 -50 -100	R&G Mycobacterium intracellulare				
L- 01- 71 -10 -50 -100	R&G Mycobacterium kansasii				
L- 01- 72 -10 -50 -100	R&G Mycobacterium malmoense				
L- 01- 73 -10 -50 -100	R&G Mycobacterium smegmatis				

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 74	-10	R&G Mycobacterium tuberculosis				
	-50					
	-100					
L- 01- 75	-10	R&G Mycobacterium xenopi				
	-50					
	-100					
L- 01- 76	-10	R&G Legionella pneumophila	B-Legpne	16S ARNr	633 - 616	614 - 631 =IV
	-50					
	-100					
L- 01- 77	-10	R&G Listeria monocytogenes	Lismon			
	-50					
	-100					
L- 01- 78	-10	R&G Mycoplasma hominis	Mychom			
	-50					
	-100					
L- 01- 79		R&G Nocardia spp.				
L- 01- 80	-10	R&G Proteus mirabili/vulgaris	B-Protmivi	23S ARNr	1835 - 1818	1823-1839 = III
	-50					
	-100					
L- 01- 81	-10	R&G Pneumoscystis -1	Pcp -1	18S	1155	
	-50					
	-100					

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 82	-10	R&G Pneumocystis- 2	Pcp -2	18S	845	
	-50					
	-100					
L- 01- 83		R&G Propionibacterium acnes				
L- 01- 84		R&G Propionibacterium spp (distinto de Psaer)				
L- 01- 85	-10	R&G Pseudomonas aeruginosa	B- Psaer C	23S ARNr	1526 - 1508	1509 - 1526 = III
	-50					
	-100					
L- 01- 86	-10	R&G Pseudomonas spp	Psspp	16S ARNr	79 - 59	60-077 = II
	-50					
	-100					
L- 01- 87	-10	R&G Salmonellen	Sal 23S 331	23S ARNr		
	-50					
	-100					
L- 01- 88	-10	R&G Salmonellen 331 Komp	Komp Sal 23S 331	23S ARNr		
	-50					
	-100					
L- 01- 89	-10	R&G Salmonellen	Sal 23S 1705	23S ARNr		
	-50					
	-100					

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código	Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 90 -10	R&G Salmonellen	Sal 23S 1705 Komp	23S ARNr		
-50					
-100					
L- 01- 91 -10	R&G Salmonellen	Sal 23S 544	23S ARNr		
-50					
-100					
L- 01- 92 -10	R&G Salmonella	B-Sal 1686	23S ARNr	1705 - 1686	1696-1713= I; 1678-1695 = III
-50					
-100					
L- 01- 93 -10	R&G Serratia spp				
-50					
-100					
L- 01- 94 -10	R&G Serratia marcescens	B-Sermarc	16S ARNr	637 - 656	639-656 = VI
-50					
-100					
L- 01- 95 -10	R&G Staphylococcus aureus	B-Staphau	16S ARNr	75 - 52;	55-72 = III
-50					
-100					

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 96	-10	R&G Staphylococci	B-Staphspp-2	16S ARNr	769 - 751	756-773 = IV
	-50					
	-100					
L- 01- 97	-10	R&G Stenotrophomonas maltofilia	Stemal-2	16S ARNr	592 - 612	614-631= IV
	-50					
	-100					
L- 01- 98	-10	R&G Streptococcus agalactiae	B-Straga-2	16S ARNr	416 - 396	396-412 = IV
	-50					
	-100					
L- 01- 99	-10	R&G Streptococci	B-Strept-2	16S ARNr	459 - 439	440 - 456 = I
	-50					
	-100					
L- 01- 100	-10	R&G Streptococcus pneumoniae	B-Strepne-2	16S ARNr	202 - 178	181-198 = II
	-50					
	-100					

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código	Organismo diana	Nombre de la baliza	ARN	Posición en el ARNr (Ecoli)	Puntuación Fuchs 1=alta; VI= señal ausente/baja
L- 01- 101 -10	R&G Streptococcus pyogenes	B-Strpyo-C	16S ARNr	196 - 217	199-215 = II
-50					
-100					
L- 01- 102 -10	R&G Ureaplasma urealyticum	Ureure			
-50					
-100					
L- 01- 103 -10	R&G Urogenital-Peptostreptococci	Pepure			
-50					
-100					
L- 01- 104 -10	R&G Yersinia enterocolitica	Yerent			
-50					
-100					

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 1	-10	Baliza	1	TGCCGGATT ACC ATC CTC TCC CAT ACT CTA AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	21	11	10	48%	ΔG = -21.9
	-50	Sonda	2	ACC ATC CTC TCC CAT ACT CTA	Baliza	39			54%	ΔG = -0.48
	-100	Diana	3	TAG AGT ATG GGA GAG GAT GGT						
L- 01- 2	-10	Baliza	4	GCGCG TC CGG TAG CAA GCT ACC TTC CGCGC	Híbrido Sonda/diana	20	9	11	55%	ΔG = -22.1
	-50	Sonda	5	TC CGG TAG CAA GCT ACC TTC	Baliza	30	9	21	70%	ΔG = -0.94
	-100	Diana	6	GAA GGT AGC TTG CTA CCG GA						
L- 01- 3	-10									
	-50									
	-100									
L- 01- 4	-10									
	-50									
	-100									
L- 01- 5	-10	Baliza	7	CCGCCGGCGT AC AGA GTT CGT GGT GTC TCC TCGCCCAGCGG	Híbrido Sonda/diana	20	9	11	55%	ΔG = -21.5
	-50	Sonda	8	AC AGA GTT CGT GGT GTC TCC	Baliza	41	12	29	71%	ΔG = -0.19
	-100	Diana	9	GGA GAC ACC ACG AAC TCT GT						
L- 01- 6	-10	Baliza	10	cgtc gcc tac aga gca ggt gac g	Híbrido Sonda/diana	18	7	11	61%	ΔG = -20.6
	-50	Sonda	11	gcc tac aga gca ggt gac	Baliza	23	8	15	65%	ΔG = -0.86
	-100	Diana	12	gtc acc tgc tct gta ggc						
L- 01- 7	-10	Baliza	13	ctctga a ctg att gca ttc aat caa ctc agag	Híbrido Sonda/diana	25	16	9	36%	ΔG = -21.4
	-50	Sonda	14	a ctg att gca ttc aat caa ctc aga	Baliza	32	19	13	41%	ΔG = -0.18
	-100	Diana	15	tct gag ttg att gaa tgc aat cag t						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 8	-10	Baliza	16	TCCGTC tga ttg caa aga atc aca ctc aga GACGGA	Híbrido Sonda/diana	24	15	9	38%	ΔG = -20.9
	-50	Sonda	17	tga ttg caa aga atc aca ctc aga	Baliza	36	19	17	47%	ΔG = -0.63
	-100	Diana	18	tct gag tgt gat tct ttg caa tca						
L- 01- 9	-10	Baliza	19	GCCGCCGGCAT CCA ATG TGG GGG ACC TTC TAGCCCAGCGGC	Híbrido Sonda/diana	17	6	11	59%	ΔG = -20.1
	-50	Sonda	20	CCA ATG TGG GGG ACC TTC	Baliza	39			74%	ΔG = -0.70
	-100	Diana	21	GAA GGT CCC CCA CAT TGG						
L- 01- 10	-10	Baliza	22	TGCCGGATT CA TGC TTA AGA CGC ACT GCC AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	20	9	11	50%	ΔG = -20.9
	-50	Sonda	23	CA TGC TTA AGA CGC ACT GCC	Baliza	39			56%	ΔG = -0.59
	-100	Diana	24	GGC AGT GCG TCT TAA GCA TG						
L- 01- 11	-10	Baliza	25	TGCCGGATT CAG CAC TCT GCA AAG ACG AAA AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	21	11	10	48%	ΔG = -20.5
	-50	Sonda	26	CAG CAC TCT GCA AAG ACG AAA	Baliza	40			53%	ΔG = -0.48
	-100	Diana	27	TTT CGT CTT TGC AGA GTG CTG						
L- 01- 12	-10	Baliza	28	ACCGCTC TTT CTT TCC GGA CAA AAG TGC TTT GAGCGGCT	Híbrido Sonda/diana	24	15	9	38%	ΔG = -20.9
	-50	secuencia de sonda	29	TTT CTT TCC GGA CAA AAG TGC TTT	Baliza	39			51%	ΔG = -0.92
	-100	Diana	30	AAA GCA CTT TTG TCC GGA AAG AAA						
L- 01- 13	-10	Baliza	31	CGCCTTC AGA ACC AAG GAT TTC TTT CCG G GAAGGCG	Híbrido Sonda/diana	22	12	10	45%	ΔG = -20.5
	-50	secuencia de sonda	32	AGA ACC AAG GAT TTC TTT CCG G						ΔG = -1.07
	-100	Diana	33	CCG GAA AGA AAT CCT TGG TTC T	Baliza	36			56%	

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L-	Baliza	34	ACGCA AGAGCCAAGGTTTTCTTTCCG CTTGCGT	Híbrido Sonda/diana	21	11	10	48%	ΔG = -20.2
	secuencia de sonda	35	AGA GCC AAG GTT TTC TTT CCG	Baliza	34			50%	ΔG = -1.05
	Diana	36	CGG AAA GAA AAC CTT GGC TCT						
L- 01- 14 -10	Baliza	37	ACGCTC G TCA TCC CCC GGC CAT GAGCGT	Híbrido Sonda/diana	16	5	11	69%	ΔG = -20.1
-50	secuencia de sonda	38	G TCA TCC CCC GGC CAT	Baliza	28			68%	ΔG = -1.00
-100	Diana	39	ATG GCC GGG GGA TGA C						
L- 01- 15 -10	Baliza	40	CGCTC CGT CAT CCC CCG GCT ATA GGAGCG	Híbrido Sonda/diana	18	7	11	61%	ΔG = -20.6
-50	secuencia de sonda	41	CGT CAT CCC CCG GCT ATA	Baliza	29			69%	ΔG = -0.43
-100	Diana	42	TAT AGC CGG GGG ATG ACG						
L- 01- 16 -10	Baliza	43	CCGCTC GT CAT CCC CCG GCT GTA GAGCGG	Híbrido Sonda/diana	17	6	11	65%	ΔG = -20.6
-50	secuencia de sonda	44	GT CAT CCC CCG GCT GTA	Baliza	29			72%	ΔG = -0.43
-100	Diana	45	TAC AGC CGG GGG ATG AC						
L- 01- 17 -10	Baliza	46	GCCGCCGGCGT CGT CAT CCC CCG ATC GTA TCGCCCAGCGGC	Híbrido Sonda/diana	18	7	11	61%	ΔG = -20.0
-50	secuencia de sonda	47	CGT CAT CCC CCG ATC GTA	Baliza	41			73%	ΔG = -1.11
-100	Diana	48	TAC GAT CGG GGG ATG ACG						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 18	-10	Baliza	49	GCCGCCGGCGT CGT CAT CCC CCG ACT GTA TCGCCCAGCGGC	Híbrido Sonda/diana	18	7	11	61%	ΔG = -20.3
		secuencia de sonda	50	CGT CAT CCC CCG ACT GTA	Baliza	41			76%	ΔG = -1.11
		Diana	51	TAC AGT CGG GGG ATG ACG						
L- 01- 19	-10	Baliza								
	-50	Sonda	52	GCC CTA AGC GTC CTT CCA						
	-100	Diana								
L- 01- 20	-10	Baliza	53	ACGCTC GAA GTG TAA GCA ACT AAA T GAGCGT	Híbrido Sonda/diana	19	13	6	32%	-14
	-50	Sonda	54	GAA GTG TAA GCA ACT AAA T	Baliza	31			45%	-0,78
	-100	Diana	55	A TTT AGT TGC TTA CAC TTC						
L- 01- 21	-10	Baliza	56	ACGCTC AGC TAA CCA CTT ATA CCG GAGCGT	Híbrido Sonda/diana	18	10	8	44%	-17.3
	-50	Sonda	57	AGC TAA CCA CTT ATA CCG	Baliza	30			53%	-0.67
	-100	Diana	58	CGG TAT AAG TGG TTA GCT						
L- 01- 22	-10	Baliza	59	CCGCTC CGT GTG TCG CCC TAG GCG TA GAGCGG	Híbrido Sonda/diana	20	7	13	65%	-25.4
	-50	Sonda	60	CGT GTG TCG CCC TAG GCG TA	Baliza	32			72%	-0.84
	-100	Diana	61	TA CGC CTA GGG CGA CAC ACG						
L- 01- 23	-10	Baliza	62	CCGCTC TCG ATG GCA TCA GGG GTT GAGCGG	Híbrido Sonda/diana	18	8	10	56%	-20.7
	-50	Sonda	63	TCG ATG GCA TCA GGG GTT	Baliza	30			67%	-0.82
	-100	Diana	64	AAC CCC TGA TGC CAT CGA						
L- 01- 24	-10	Baliza	65	no se requiere, el competidor no está marcado	Híbrido Sonda/diana	18	7	11	61%	-22.0
	-50	Sonda	66	TCG ACG GCA TCA GGG GTT	Baliza					
	-100	Diana	67	AAC CCC TGA TGC CGT CGA						
L- 01- 25	-10	Baliza	68	ACGCCGGCGT TAG CTG ATA TCA CAT AGA TCGCCCAGCGT	Híbrido Sonda/diana	18	12	6	33%	-14.4
	-50	Sonda	69	TAG CTG ATA TCA CAT AGA	Baliza	39			59%	-0.06
	-100	Diana	70	TCT ATG TGA TAT CAG CTA						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 26	-10	Baliza	71	TCCGCCGGCGT CTT TCC GCC TAC ACG CCC TCGCCCAGCGGA	Híbrido Sonda/diana	18	6	12	67%	-22.0
	-50	Sonda	72	CTT TCC GCC TAC ACG CCC	Baliza	41			73%	-1.22
	-100	Diana	73	GGG CGT GTA GGC GGA AAG						
L- 01- 27	-10	Baliza	74	TCCGCCGGCGT CCT CCG TAT TAC CGC AGC TCGCCCAGCGGA	Híbrido Sonda/diana	18	7	11	61%	-20.5
	-50	Sonda	75	CCT CCG TAT TAC CGC AGC	Baliza	41			71%	-1.22
	-100	Diana	76	GCT GCG GTA ATA CGG AGG						
L- 01- 28	-10	Baliza	77	ACGCCGGCGT CTA ACT TTC CTT TCC GCC TCGCCCAGCGT	Híbrido Sonda/diana	18	9	9	50%	-17.3
	-50	Sonda	78	CTA ACT TTC CTT TCC GCC	Baliza	39			64%	-0.06
	-100	Diana	79	GGC GGA AAG GAA AGT TAG						
L- 01- 29	-10	Baliza	80	TCCACCGGCGT CTC TTC CTC AAC CGA AAG TCGCCCAGTGGA	Híbrido Sonda/diana	18	9	9	50%	-16,4
	-50	Sonda	81	CTC TTC CTC AAC CGA AAG	Baliza	41			61%	
	-100	Diana	82	CTT TCG GTT GAG GAA GAG						
L- 01- 30	-10	Baliza	83	TCAGCCGGCGT AAG GCA AAA CCA ACT CCC TCGCCCAGCTGA	Híbrido Sonda/diana	18	9	9	50%	-18.8
	-50	Sonda	84	AAG GCA AAA CCA ACT CCC	Baliza	41			61%	-0.02
	-100	Diana	85	GGG AGT TGG TTT TGC CTT						
L- 01- 31	-10	Baliza	86	CCGCCGGCGT TCC GTT TTC TCC GCC TAC TCGCCCAGCGG	Híbrido Sonda/diana	18	8	10	50%	-19.7
	-50	Sonda	87	TCC GTT TTC TCC GCC TAC	Baliza	39			69%	-0.40
	-100	Diana	88	GTA GGC GGA GAA AAC GGA						
L- 01- 32	-10	Baliza	89	TCCGCCGGCGT GCT CCC CTT GCT TTC GCG TCGCCCAGCGGA	Híbrido Sonda/diana	18	6	12	61%	-21.7
	-50	Sonda	90	GCT CCC CTT GCT TTC GCG	Baliza	42			69%	-1.22
	-100	Diana	91	CGC GAA AGC AAG GGG AGC						
L- 01- 33	-10	Baliza	92	ACGCTC TCG GAT GCC CAA ATA TCG GAGCGT	Híbrido Sonda/diana	18	9	9	50%	-18.4
	-50	Sonda	93	TCG GAT GCC CAA ATA TCG	Baliza	30			57%	-0.44
	-100	Diana	94	CGA TAT TTG GGC ATC CGA						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 34	-10	Baliza	95	GG aa tgg cta ccc aga agg aaa CCATTCC	Híbrido Sonda/diana	20	11	9	45%	ΔG = -19.7
	-50	secuencia de sonda	96	aa tgg cta ccc aga agg aaa	Baliza	29		15	52%	ΔG = -0.57
	-100	Diana	97	ttt cct tct ggg tag cca tt						
L- 01- 35	-10	Baliza	98	CCGCTC tgt att agc tct aga ttt cca cgg GAGCGG	Híbrido Sonda/diana	24	15	9	38%	ΔG = -21.9
	-50	secuencia de sonda	99	tgt att agc tct aga ttt cca cgg	Baliza	36		19	53%	ΔG = -0.56
	-100	Diana	100	ccg tgg aaa tct aga gct aat aca						
L- 01- 36	-10	Baliza	101	GTTTGcc ccg aaa gag taa ctt gca GGCAAAC	Híbrido Sonda/diana	20	10	10	50%	ΔG = -19.8
	-50	secuencia de sonda	102	cc ccg aaa gag taa ctt gca	Baliza	32		16	50%	ΔG = -0.55
	-100	Diana	103	tgc aag tta ctc ttt cgg gg						
L- 01- 37	-10	Baliza	104	GCCGCCGGCGT gg cca ccc agg ccc aaa TCGCCCAGCGGC	Híbrido Sonda/diana	17	5	12	71%	ΔG = -22.5
	-50	secuencia de sonda	105	gg cca ccc agg ccc aaa	Baliza	40		32	80%	ΔG = -2.30
	-100	Diana	106	ttt ggg cct ggg tgg cc						
L- 01- 38	-10	Baliza	107	GCCGCCGGCGT gc caa aaa ggc tag cca gaa TCGCCCAGCGGC	Híbrido Sonda/diana	20	10	10	50%	ΔG = -20.9
	-50	secuencia de sonda	108	gc caa aaa ggc tag cca gaa	Baliza	43		30	70%	ΔG = -1.76
	-100	Diana	109	ttc tgg cta gcc ttt ttg gc						

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 39	-10	Baliza	110	ACGC gct tgg ctg gcc ggt c GCGT	Híbrido Sonda/diana	16	4	12	75%	ΔG = -21.1
	-50	secuencia de sonda	111	g acc ggc cag cca agc	Baliza	24		18	75%	ΔG = -0.90
	-100	Diana	112	gct tgg ctg gcc ggt c						
L- 01- 40	-10	Baliza	113	ACCGCCGGCGT tac gca tca gaa aga tgg acc TCGCCCAGCGGT	Híbrido Sonda/diana	21	11	10	48%	ΔG = -20.7
	-50	secuencia de sonda	114	tac gca tca gaa aga tgg acc	Baliza	44		28	64%	ΔG = -1.03
	-100	Diana	115	GGT CCA TCT TTC TGA TGC GTA						
L- 01- 41	-10									
	-50									
	-100									
L- 01- 42	-10	Baliza	116	TGCCGGATT C TAC TTG TTA GGT GAC TGC GT AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	21	10	11	48%	ΔG = -20.4
	-50	Sonda	117	C TAC TTG TTA GGT GAC TGC GT	Baliza	40			53%	ΔG = -0.48
	-100	Diana	118	AC GCA GTC ACC TAA CAA GTA G						
L- 01- 43	-10	Baliza	119	TCTTG TAG T GC CGT TTC ATG CGA AAC TAC AA GA	Híbrido Sonda/diana	22	12	10	45%	ΔG = -20.7
	-50	Sonda	120	GC CGT TTC ATG CGA AAC TAC AA	Baliza	33			42%	ΔG = -0.79
	-100	Diana	121	TT GTA GTT TCG CAT GAA ACG GC						
L- 01- 44	-10	Baliza	122	GCCGCCGGCGT CGAAG TAA ATC GCT CAA CTT GCA TCGCCCAGCGGC	Híbrido Sonda/diana	23	13	10	43%	ΔG = -20.8
	-50	Sonda	123	CGA AGT AAA TCG CTC AAC TTG CA	Baliza	46		30	65%	ΔG = -1.33
	-100	Diana	124	TGC AAG TTG AGC GAT TTA CTT CG						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 45	-10	Baliza	125	CGCTCA CAC CCG TCC GCC GCT AAT GAGCG	Híbrido Sonda/diana	18	6	12	67%	ΔG = -22.0
	-50	Sonda	126	CAC CCG TCC GCC GCT AAT	Baliza	29			69%	ΔG = -0.39
	-100	Diana	127	ATT AGC GGC GGA CGG GTG						
L- 01- 46	-10	Baliza	128	GCCGCCGGCGT G ATT GCT CCT TTG GTT GAA TGA TG TCGCCCAGCGGC	Híbrido Sonda/diana	21	11	10	48%	ΔG = -20.9
	-50	Sonda	129	G ATT GCT CCT TTG GTT GAA TGA TG	Baliza	44			68%	ΔG = -1.22
	-100	Diana	130	CA TCA TTC AAC CAA AGG AGC AAT C						
L- 01- 47	-10	Baliza	131	ACGCTC GGT TGA ATG ATG ATG CCA T GAGCGT	Híbrido Sonda/diana	19	10	9	42%	ΔG = -21.2
	-50	Sonda	132	GGT TGA ATG ATG ATG CCA TCT TT						
	-100	Diana	133	AA AGA TGG CAT CAT CAT TCA ACC	Baliza	31			52%	ΔG = -0.16
L- 01- 48	-10	Baliza	134	GCGGAC CT GTG TTA CTC ACC CGT CCG C	Híbrido Sonda/diana	20	8	12	42%	ΔG = -21.6
	-50	Sonda	135	CT GTG TTA CTC ACC CGT CCG						
	-100	Diana	136	CGG ACG GGT GAG TAA CAC AG	Baliza	27		18	52%	ΔG = -1.15
L- 01- 49	-10									
	-50									
	-100									
L- 01- 50	-10	Baliza	137	TGCCGGATT TT CGT GTT TGC ACA GTG CTG T AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	21	11	10	48%	ΔG = -21.1
	-50	Sonda	138	TT CGT GTT TGC ACA GTG CTG T	Baliza	40			53%	ΔG = -0.48
	-100	Diana	139	A CAG CAC TGT GCA AAC ACG AA						
L- 01- 51	-10	Baliza	140	TGCCGGATT TCT CGC GAG GTC GCT TCT AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	18	7	11	61%	ΔG = -21.0
	-50	Sonda	141	TCT CGC GAG GTC GCT TCT						
	-100	Diana	142	AGA AGC GAC CTC GCG AGA	Baliza					ΔG = -0.80

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 52	-10	Baliza	143	TGCCGGATT CCC CCW CTT TGG TCT TGC GA AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	20	8	12	60%	ΔG = -20.4
	-50	Sonda	144	CCC CCW CTT TGG TCT TGC GA						
	-100	Diana	145	TC GCA AGA CCA AAG WGG GGG	Baliza	39			59%	ΔG = -0.59
L- 01- 53	-10	Baliza	146	TGCCGGATT ATC CAT CAG CGA CAC CCG AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	18	7	11	61%	ΔG = -20.5
	-50	Sonda	147	ATC CAT CAG CGA CAC CCG						
	-100	Diana	148	CGG GTG TCG CTG ATG GAT	Baliza	38			58%	ΔG = -0.80
L- 01- 54	-10	Baliza	149	TGCCGGATT CCC TCT GAT GGG TAG GTT AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	18	8	10	56%	ΔG = -19.2
	-50	Sonda	150	CCC TCT GAT GGG TAG GTT						
	-100	Diana	151	AAC CTA CCC ATC AGA GGG	Baliza	37			57%	ΔG = -0.80
L- 01- 55	-10	Baliza	152	GCCGCCGGCGT TTC AAA TCA AAA CCA TGC GGT TTC TCGCCCAGCGGC	Híbrido Sonda/diana	24	15	9	38%	ΔG = -20.0
	-50	Sonda	153	TTC AAA TCA AAA CCA TGC GGT TTC						
	-100	Diana	154	GAA ACC GCA TGG TTT TGA TTT GAA	Baliza	47			62%	ΔG = -9.42
L- 01- 56	-10	Baliza	155	TGCCGGATT GGA AGA AGC TTG CTT CTT TGC AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	21	11	10	48%	ΔG = -20.3
	-50	Sonda	156	GGA AGA AGC TTG CTT CTT TGC						
	-100	Diana	157	GCA AAG AAG CAA GCT TCT TCC	Baliza	40			53%	ΔG = -1.80
L- 01- 57	-10	Baliza	158	CGCTC GCT GCC TCC CGT AGG AGT GAGCG	Híbrido Sonda/diana	18	6	12	67%	-23.5
	-50	Sonda	159	GCT GCC TCC CGT AGG AGT	Baliza	28			71%	-0.94
	-100	Diana	160	ACT CCT ACG GGA GGC AGC						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 58	-10									
	-50									
	-100									
L- 01- 59	-10	Baliza	161	ACGCTC CAC CAT GAA GCA ACC CGT GAGCGT	Híbrido Sonda/diana	18	8	10	56%	-19.5
	-50	Sonda	162	CAC CAT GAA GCA ACC CGT	Baliza	30			60%	-0.50
	-100	Diana	163	ACG GGT TGC TTC ATG GTG						
L- 01- 60	-10	Baliza	164	ACCCGCTA TT CCG ATA ATA CGC GGT ATT AGC GGGT	Híbrido Sonda/diana	23	13	10	43%	ΔG = -21.4
	-50	Sonda	165	TT CCG ATA ATA CGC GGT ATT AGC						
	-100	Diana	166	GCT AAT ACC GCG TAT TAT CGG AA	Baliza	35			51%	ΔG = -1.18
L- 01- 61	-10	Baliza	167	CGGTGCTC TA ATA CGC GGT ATT AGC GAC AG AGAGCACCG	Híbrido Sonda/diana	22	12	10	45%	ΔG = -20.3
	-50	Sonda	168	TA ATA CGC GGT ATT AGC GAC AG						
	-100	Diana	169	CT GTC GCT AAT ACC GCG TAT AT	Baliza	39			56%	ΔG = -1.76
L- 01- 62	-10	Baliza	170	ACGCCGGCGT AGG TTA TTA ACC TCA TCG CCT TCGCCCAGCGT	Híbrido Sonda/diana	21	12	9	43%	ΔG = -19.8
	-50	Sonda	171	AGG TTA TTA ACC TCA TCG CCT						
	-100	Diana	172	AGG CGA TGA GGT TAA TAA CCT	Baliza	40			63%	ΔG = -0.92
L- 01- 63	-10	Baliza	173	GGAAGGGATAT AGG TTA TTA ACC TCA CTC CCT TCC	Híbrido Sonda/diana	24	13	11	46%	ΔG = -20.7
	-50	Sonda	174	AGG TTA TTA ACC TCA CTC CCT TCC						
	-100	Diana	175	GGA AGG GAG TGA GGT TAA TAA CCT	Baliza	35		16	46%	ΔG = -1.02

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 64	-10	Baliza	176	CGC TCAT TCA ACG GAA GCT CGT TCG ATGAGCG	Híbrido Sonda/diana	22	11	11	50%	ΔG = -21.5
	-50	Sonda	177	TCAT TCA ACG GAA GCT CGT TCG						
	-100	Diana	178	CGAAC GAGCTTCCGT TGAATGA	Baliza	31			48%	ΔG = -0.95
L- 01- 65	-10						0			
	-50									
	-100									
L- 01- 66	-10						0			
	-50									
	-100									
L- 01- 67	-10						0			
	-50									
	-100									
L- 01- 68	-10						0			
	-50									
	-100									
L- 01- 69	-10						0			
	-50									
	-100									
L- 01- 70	-10						0			
	-50									
	-100									
L- 01- 71	-10						0			
	-50									
	-100									
L- 01- 72	-10						0			
	-50									
	-100									
L- 01- 73	-10						0			
	-50									
	-100									

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 74	-10						0			
	-50									
	-100									
L- 01- 75	-10						0			
	-50									
	-100									
L- 01- 76	-10	Baliza	179	TGCCGGATT ATC TGA CCG TCC CAG GTT AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	18	8	10	56%	ΔG = -19.9
	-50	Sonda	180	ATC TGA CCG TCC CAG GTT						
	-100	Diana	181	AAC CTG GGA CGG TCA GAT	Baliza	37			57%	ΔG = -0.80
L- 01- 77	-10	Baliza	182	ACGCTC ATA AGA TGT GGC GCA TGC GAGCGT	Híbrido Sonda/diana	18	9	9	50%	-19.3
	-50	Sonda	183	ATA AGA TGT GGC GCA TGC	Baliza	30			57%	-0.64
	-100	Diana	184	GCA TGC GCC ACA TCT TAT						
L- 01- 78	-10	Baliza		to be determined			0			-19.0
	-50	Sonda	185	ATT GCT AAC CTC GCT CGA						-0.40
	-100	Diana	186	TCG AGC GAG GTT AGC AAT						
L- 01- 79							0			
L- 01- 80	-10	Baliza	187	GGC GTC ACA CCG G AT ACG TAGTGCTACGCC	Híbrido Sonda/diana	18	6	12	67%	ΔG = -20.8
	-50	Sonda	188	GGC GTC ACA CCG G AT ACG						
	-100	Diana	189	CCGT ATC CGG TGT GAC GCC	Baliza	30			63%	ΔG = -0.84
L- 01- 81	-10	Baliza	190	ACTC GGC TTC ATG CCA ACA GTC GAGT	Híbrido Sonda/diana	21	11	10	57%	-20.2
	-50	Sonda	191	GGC TTC ATG CCA ACA GTC	Baliza	25			56%	-0.45
	-100	Diana	192	GAC TGT TGG CAT GAA GCC						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 82	-10	Baliza	193	GACAC CAT AAG ATG CCG AGC GAG GTGTC	Híbrido Sonda/diana	18	8	10	56%	-19.2
	-50	Sonda	194	CAT AAG ATG CCG AGC GAG	Baliza	28			57%	-0.11
	-100	Diana	195	CTC GCT CGG CAT CTT ATG						
L- 01- 83							0			
L- 01- 84							0			
L- 01- 85	-10	Baliza	196	ACCGCCGGCGT A AGA CGA CTC GTC ATC ACC T TCGCCCAGCGGT	Híbrido Sonda/diana	20	10	10	50%	ΔG = -20.3
	-50	Sec. sonda	197	A AGA CGA CTC GTC ATC ACC T	Baliza	42			67%	ΔG = -1.13
	-100	Diana	198	A GGT GAT GAC GAGTCG TCT T						
L- 01- 86	-10	Baliza	199	GCCGCCGGCGT GGC AGA TTC CTA GGC ATT ACT TCGCCCAGCGGC	Híbrido Sonda/diana	21	11	10	48%	ΔG = -21.2
	-50	Sec. sonda	200	GGC AGA TTC CTA GGC ATT ACT						
	-100	Diana	201	AGT AAT GCC TAG GAA TCT GCC	Baliza	44		30	68%	ΔG = -1.65
L- 01- 87	-10	Baliza	202	AGCTC TGC GCT TTT GTG TAC GGG GCT GAGCT	Híbrido Sonda/diana	21	10	11	57%	-25.3
	-50	Sonda	203	TGC GCT TTT GTG TAC GGG GCT	Baliza	31			58%	-0.34
	-100	Diana	204	AGC CCC GTA CAC AAA AGC GCA						
L- 01- 88	-10	Baliza		no se requiere, el competidor no está marcado	Híbrido Sonda/diana Baliza	18	7	11	61%	-18.8
	-50	Sonda	205	G TGCA TTT GTG TAC GGG GC						
	-100	Diana	206	AGC CCC GTA CAC AAA AGC GCA						
L- 01- 89	-10	Baliza	207	CGCTC CTT CAC CTA CGT GTC AGC G GAGCG	Híbrido Sonda/diana	19	8	11	58%	-21.1
	-50	Sonda	208	CTT CAC CTA CGT GTC AGC G	Baliza	29			66%	-0.78
	-100	Diana	209	C GCT GAC ACG TAG GTG AAG						

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 90	-10	Baliza		no se requiere, el competidor no está marcado	Híbrido Sonda/diana	20	10	10	50%	-9.6
	-50	Sonda	210	T CAC CTA CAT ATC AGC GTG C	Baliza					-0.26
	-100	Diana	211	C GCT GAC ACG TAG GTG AAG A						
L- 01- 91	-10	Baliza		?	Híbrido Sonda/diana	18	9	9	50%	
	-50	Sonda	212	GTT TAC CTG TGT GAC TGC	Baliza					
	-100	Diana		0						
L- 01- 92	-10	Baliza	213	TGCCGGATT CTT CAC CTA CGT GTC AGC G AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	19	8	11	58%	ΔG = -21.1
	-50	Sec. sonda	214	CTT CAC CTA CGT GTC AGC G						
	-100	Diana	215	C GCT GAC ACG TAG GTG AAG	Baliza	38			58%	ΔG = -0.69
L- 01- 93	-10						0			
	-50									
	-100									
L- 01- 94	-10	Baliza	216	GCCGCCGGCGT CG AGA CTC TAG CTT GCC AGT TCGCCCAGCGGC	Híbrido Sonda/diana	20	9	11	55%	ΔG = -21.8
	-50	Sec. sonda	217	CG AGA CTC TAG CTT GCC AGT						
	-100	Diana	218	ACT GGC AAG CTA GAG TCT CG	Baliza	43			72%	ΔG = -1.76
L- 01- 95	-10	Baliza	219	TGCCGGATT TTC TCG TCC GTT CGC TCG ACT TGC AATCCCGGCA	Híbrido Sonda/diana	24	10	14	58%	ΔG = -20.7
	-50	Sec. sonda	220	TTC TCG TCC GTT CGC TCG ACT TGC						
	-100	Diana	221	GCA AGT CGA GCG AAC GGA CGA GAA	Baliza	43			58%	ΔG = -0.22

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código			SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 96	-10	Baliza	222	GCAAC TT TCG CAC ATC AGC GTC AGT T GC	Híbrido Sonda/diana	21	11	10	48%	ΔG = -20.9
	-50	Sec. sonda	223	TT TCG CAC ATC AGC GTC AGT T						
	-100	Diana	224	A ACT GAC GCT GAT GTG CGA AA	Baliza	28			54%	ΔG = -0.84
L- 01- 97	-10	Baliza	225	CCC TCT ACC ACA CTC TAG TCG GGT AGA GGG	Híbrido Sonda/diana	21	9	12	52%	ΔG = -21.2
	-50	Sec. sonda	226	CCC TCT ACC ACA CTC TAG TCG						
	-100	Diana	227	CGA CTA GAG TGT GGT AGA GGG	Baliza	30			57%	ΔG = -1.63
L- 01- 98	-10	Baliza	228	GCCGCCGGCGT ACT CCT ACC AAC GTT CTT CTC TCGCCCAGCGGC	Híbrido Sonda/diana	21	10	11	48%	ΔG = -20.5
	-50	Sec. sonda	229	ACT CCT ACC AAC GTT CTT CTC						
	-100	Diana	230	GAG AAG AAC GTT GGT AGG AGT	Baliza	45			67%	ΔG = -0.79
L- 01- 99	-10	Baliza	231	GGCCTTC GCC GTC CCT TTC TGG TTA GTT GAAGGCC	Híbrido Sonda/diana	21	10	11	52%	ΔG = -22.3
	-50	Sec. sonda	232	GCC GTC CCT TTC TGG TTA GTT						
	-100	Diana	233	AAC TAA CCA GAA AGG GAC GGC	Baliza	35			60%	ΔG = -1.15
L- 01- 100	-10	Baliza	234	GCGT TAA GCA AAT GTC ATG CAA CAT CTA CTTAACGC	Híbrido Sonda/diana	25	17	8	32%	ΔG = -20.4
	-50	Sec. sonda	235	T TAA GCA AAT GTC ATG CAA CAT CTA						
	-100	Diana	236	TAG ATG TTG CAT GAC ATT TGC TTA A	Baliza	38			39%	ΔG = -0.64

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		SEQ.ID. NO:	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido AT	Contenido GC		delta Gs diana: -21+/-2 kcal/mol
L- 01- 101 -10	Baliza	237	TGCCTTC GAG CAA TTG CCC CTT TTA AAT TAC GAAGGCA	Híbrido Sonda/diana	24	15	9	38%	ΔG = -20.0
-50	Sec. sonda	238	GAG CAA TTG CCC CTT TTA AAT TAC						
-100	Diana	239	GTA ATT TAA AAG GGG CAA TTG CTC	Baliza	38			45%	ΔG = -1.01
L- 01- 102 -10	Baliza	240	ACGCTC GTT CCC CAA CTC CCT ACT GAGCGT	Híbrido Sonda/diana	18	8	10	56%	-20.2
-50	Sonda	241	GTT CCC CAA CTC CCT ACT	Baliza	30			60%	-0.78
-100	Diana	242	AGT AGG GAG TTG GGG AAC						
L- 01- 103 -10	Baliza	243	ACTC CCC CTT GTG TAA GGC AGG GAGT	Híbrido Sonda/diana	24	13	11	54%	-21.4
-50	Sonda	244	CCC CTT GTG TAA GGC AGG	Baliza	28			54%	-0.61
-100	Diana	245	CCT GCC TTA CAC AAG GGG						
L- 01- 104 -10	Baliza	246	ACGCTC CCC ACT TTG GTC CGA AGA GAGCGT	Híbrido Sonda/diana	18	8	10	56%	-19.6
-50	Sonda	247	CCC ACT TTG GTC CGA AGA	Baliza	30			60%	-0.66
-100	Diana	248	TCT TCG GAC CAA AGT GGG						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Tm diana: 71+/- 3 oC	Td (Suggs et al) 48-60	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 1	-10	71.6	62	41	Acinetobacter (651/1392)	Moraxellaceae (665/2068)	no clasificado_ Moraxellaceae (6/31)
	-50	65.9					
	-100						
L- 01- 2	-10	72.2	62	Acinetobacter_baumannii_X81667	Moraxellaceae (23/2142)		
	-50	69.8					
	-100						
L- 01- 3	-10						
	-50						
	-100						
L- 01- 4	-10						
	-50						
	-100						
L- 01- 5	-10	70.8	62				
	-50	63.3					
	-100						
L- 01- 6	-10	70.0	58				
	-50	67.8					
	-100						
L- 01- 7	-10	69.4	68				
	-50	63.1					
	-100						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Tm diana: 71+/- 3 oC	Td (Suggs et al) 48-60	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 8	-10	68.9	66				
	-50	66.6					
	-100						
L- 01- 9	-10	68.6	56				
	-50	66.0					
	-100						
L- 01- 10	-10	70.2	62	34 B burgdorferi / 100 Borrelia	89 B burgdorferi / 245 Borrelia		
	-50	66.7					
	-100						
L- 01- 11	-10	68.8	62	B. pertussis. Parapertussis, B_bronchiseptica, Bordetella_avium	0	0	0
	-50	65.9					
	-100						
L- 01- 12	-10	69.6	66		Burkholderiaceae (1867/2900)		
	-50	68.0					
	-100						
L- 01- 13	-10	69.0	64		Burkholderiaceae. (78/2900)		
	-50	69.0					
	-100						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		**Tm** diana: **71+/- 3 oC**	**Td (Suggs et al) 48-60**	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L-		68.8 69.0	62		Burkholderiaceae. (3/2900)		
L- 01- 14	-10 -50 -100	69.6 69.9	54		Burkholderiaceae. (23/2900)		
L- 01- 15	-10 -50 -100	70.5 65.3	58		Burkholderiaceae. (67/2900). B pyrrocinea		
L- 01- 16	-10 -50 -100	70.5 65.3	56		Burkholderiaceae. (23/2900)		
L- 01- 17	-10 -50 -100	69.0 67.1	58		Burkholderiaceae. (1/2900)		

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		**Tm** diana: **71+/- 3 oC**	**Td (Suggs et al) 48-60**	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 18	-10	69.6	58		Burkholderiaceae (143/2900)		
		67.1					
L- 01- 19	-10		0				
	-50						
	-100						
L- 01- 20	-10	57	50				
	-50	68,3					
	-100						
L- 01- 21	-10	63,6	52				
	-50	67.4					
	-100						
L- 01- 22	-10	77,8	66				
	-50	68.5					
	-100						
L- 01- 23	-10	70,1	56				
	-50	68.0					
	-100						
L- 01- 24	-10	72,7	58				
	-50						
	-100						
L- 01- 25	-10	57,7	48				
	-50	62.7					
	-100						

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		**Tm** diana: **71+/- 3 oC**	**Td (Suggs et al) 48-60**	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 26	-10	72,6	60				
	-50	67.8					
	-100						
L- 01- 27	-10	69,8	58				
	-50	67.8					
	-100						
L- 01- 28	-10	63,6	54				
	-50	62.7					
	-100						
L- 01- 29	-10	61,9	54				
	-50						
	-100						
L- 01- 30	-10	67,3	54				
	-50	62.5					
	-100						
L- 01- 31	-10	68,2	56				
	-50	64.3					
	-100						
L- 01- 32	-10	72,2	60				
	-50	67.8					
	-100						
L- 01- 33	-10	65,8	54				
	-50	65.7					
	-100						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		**Tm** diana: **71+/- 3 oC**	**Td (Suggs et al) 48-60**	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 34	-10	68.3	58	26/26 @ 40			
	-50	66.2					
	-100						
L- 01- 35	-10	70.8	66	1/3 @48 otras especies no clínicas			
	-50	66.4					
	-100						
L- 01- 36	-10	68.2°	60	7/7 @ 40			
	-50	65.9 C					
	-100						
L- 01- 37	-10	74.0 C	58	8/11 @34; 3 no clínicas			
	-50	69.5 C					
	-100						
L- 01- 38	-10	70.2 C	60	17/24 @ 40; 3 C fennica; 1 C solomi; 1 C spp; 2 genes eucariotas no cultivados			
	-50	69.9 C					
	-100						

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		**Tm** diana: **71+/- 3 oC**	**Td (Suggs et al) 48-60**	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 39	-10	71.5 C	56	51/55 @40			
	-50	70.0 C					
	-100						
L- 01- 40	-10	69.5°C	62	4/11@42			
	-50	66.9°C					
	-100						
L- 01- 41	-10						
	-50						
	-100						
L- 01- 42	-10	69.0	64	only Citrobacter freundii y Pseudomonas aeruginosa@puntuación completa	0	0	0
	-50	65.9					
	-100						
L- 01- 43	-10	69.4	64				
	-50	65.6					
	-100						
L- 01- 44	-10	69.4	66	Only C-diff @ puntuación completa	Clostridium_difficile_X73450	Clostridiaceae (18/8924)	
	-50	68.0					
	-100						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		**Tm** diana: **71+/- 3 oC**	**Td (Suggs et al) 48-60**	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 45	-10	73.1	60				
	-50	65.2					
	-100						
L- 01- 46	-10	69.1	62	Sólo Clostridium perfringes con puntuación completa	Clostridiaceae (49/7851)		
	-50	67.6					
	-100						
L- 01- 47	-10	69.3	56	Sólo Clostridium perfringes con puntuación completa	Clostridiaceae (49/7851)		
	-50						
	-100	63.6					
L- 01- 48	-10	71.3	64	Sólo Clostridium tetani con puntuación completa	Clostridiaceae (1/8924)		
	-50						
	-100	70.9					
L- 01- 49	-10						
	-50						
	-100						
L- 01- 50	-10	70.2	62	92 Enterobacteriaceae	0	0	0
	-50	65.9					
	-100						
L- 01- 51	-10	70.7	58	101 Enterobacteriaceae	Enterobacteriaceae (1857/5527) Incluyendo: Proteus (24/90); Providencia (17/35)		
	-50						
	-100	68.2					

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		**Tm** diana: **71+/- 3 oC**	**Td (Suggs et al) 48-60**	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 52	-10	69.7	64	101 Enterobacteriaceae	Enterobacteriaceae (2663/5527) sin Proteus&Providencia		
	-50						
	-100	66.7					
L- 01- 53	-10	69.5	58	18 Enterococci	género Enterococcus (425/847)		
	-50						
	-100	68.2					
L- 01- 54	-10	67.7	56	sólo E. faecalis con puntuación completa	Enterococcus (193/803) los otros 600 son en su mayor parte E. no faecalis no clasificados		
	-50						
	-100	68.2					
L- 01- 55	-10	67.7	66	5 faecium y 1 faecalis con puntuación completa	64/157 son faecium sólo 1 faecalis	0	0
	-50						
	-100	64.0					
L- 01- 56	-10	68.8	62	18 E.coli & EHEC/39el resto total es sólo Haemophilus_parasuis, Mannheimia glucosida.	0	0	0
	-50						
	-100	67.2					
L- 01- 57	-10	75,1	60				
	-50	67.7					
	-100						

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		**Tm** diana: **71+/- 3 oC**	**Td (Suggs et al) 48-60**	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 58	-10						
	-50						
	-100						
L- 01- 59	-10	68	56				
	-50	66.2					
	-100						
L- 01- 60	-10	70.6	66	Haemophilus_influenzae_F_U32708	Pasteurellaceae (283/2293)		
	-50						
	-100	69.1					
L- 01- 61	-10	69.2	64	Haemophilus_influenzae_F_U32708	Pasteurellaceae (278/2293)		
	-50						
	-100	T 70.9					
L- 01- 62	-10	68.1	60	Klebsiella_pneumoniae_Y17656	Enterobacteriaceae (32/5830)		
	-50						
	-100	66.1					
L- 01- 63	-10	69.3	70	Klebsiella_oxytoca_Y17655	Enterobacteriaceae (20/6874)		
	-50						
	-100	68.3					

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Tm diana: 71+/- 3 oC	Td (Suggs et al) 48-60	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 64	-10	70.4	66	Lactobacillus_brevis_X61134	Lactobacillaceae (38/2674)		
	-50						
	-100	66.6					
L- 01- 65	-10		0				
	-50						
	-100						
L- 01- 66	-10		0				
	-50						
	-100						
L- 01- 67	-10		0				
	-50						
	-100						
L- 01- 68	-10		0				
	-50						
	-100						
L- 01- 69	-10		0				
	-50						
	-100						
L- 01- 70	-10		0				
	-50						
	-100						
L- 01- 71	-10		0				
	-50						
	-100						
L- 01- 72	-10		0				
	-50						
	-100						
L- 01- 73	-10		0				
	-50						
	-100						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Tm diana: 71+/- 3 oC	Td (Suggs et al) 48-60	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 74	-10		0				
	-50						
	-100						
L- 01- 75	-10		0				
	-50						
	-100						
L- 01- 76	-10	69.2	56	Sólo Legionella con puntuación completa	Sólo 78 Legionella		
	-50						
	-100	68.2					
L- 01- 77	-10	67,5	54				
	-50	67.3					
	-100						
L- 01- 78	-10	67,1	0				
	-50	64.3					
	-100						
L- 01- 79			0				
L- 01- 80	-10	70.4	60	Secuencia de Proteus 23s no encontrada en la base de datos; el acierto más próximo es E. coli con una puntuación de 28 (sobre 36)	0	0	0
	-50						
	-100	66.2					
L- 01- 81	-10	69	62				
	-50	65.5					
	-100						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Tm diana: 71+/- 3 oC	Td (Suggs et al) 48-60	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 82	-10	67,5					
	-50	63.2					
	-100						
L- 01- 83			0				
L- 01- 84			0				
L- 01- 85	-10	69.1	60				
	-50	67.4					
	-100						
L- 01- 86	-10	70.5	62				
	-50						
	-100	69.4					
L- 01- 87	-10	77,6	64				
	-50	64.1					
	-100						
L- 01- 88	-10	66,4	58				
	-50						
	-100						
L- 01- 89	-10	70,8	60				
	-50	68.0					
	-100						

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Tm diana: 71+/- 3 oC	Td (Suggs et al) 48-60	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 90	-10	46	60				
	-50	64.0					
	-100						
L- 01- 91	-10		54				
	-50						
	-100						
L- 01- 92	-10	70.4	60	9 Salmonella, 1 Y enterolytica, sin más aciertos	0	0	0
	-50						
	-100	67.4					
L- 01- 93	-10		0				
	-50						
	-100						
L- 01- 94	-10	71.6	62	Serratia_marcescens_AF124042	abierto, hacer clic para contraer el género Serratia (249/544) (aciertos/ total buscado)		
	-50						
	-100	69.9					
L- 01- 95	-10	69.9	76	12 Stapg aureus con puntuación completa, sin más	77 sobre 171 (Staur captura 78/ 269 y por lo tanto es menos específico)		
	-50						
	-100	64.0					

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Tm diana: 71+/- 3 oC	Td (Suggs et al) 48-60	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 96	-10	70.2	62		Staphylococcaceae (1230/2473)		
	-50						
	-100	Tm = 66.4Å°C					
L- 01- 97	-10	70.5	66				
	-50						
	-100	70.8					
L- 01- 98	-10	69.1	64	Streptococcus agalactiae, Streptococcus difficile @ puntuación completa	Streptococcaceae (96/7045)		
	-50						
	-100	65.7					
L- 01- 99	-10	72.7	64	Streptococcus_criae_X58316	Lactobacillales (337/12134)		
	-50						
	-100	69.9					
L- 01- 100	-10	68.4	66	Streptococcus_mitis_D38482			
	-50						
	-100	65.9					

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código	**Tm** diana: **71+/- 3 oC**	**Td (Suggs et al) 48-60**	Aciertos en BLAST de ARN	Aciertos directos en emparejamiento de sonda I (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda II (sólo 16S)	Aciertos directos en emparejamiento de sonda III (sólo 16S)
L- 01- 101 -10	67.9	66	Streptococcus_pyogenes_AF076028	Streptococcaceae (95/7045)		
-50						
-100	67.7					
L- 01- 102 -10	69,1	56				
-50	68.3					
-100						
L- 01- 103 -10	71,8	70				
-50	67.5					
-100						
L- 01- 104 -10	68,1	56				
-50	67.0					
-100						

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 1	-10 -50 -100	Wagner M., Erhart R., Manz W., Amann R., Lemmer H., Wedi D. y Schleifer K.-H. (1994). Appl. Environ. Microbiol. 60: 792-800.
L- 01- 2	-10 -50 -100	Nueva
L- 01- 3	-10 -50 -100	
L- 01- 4	-10 -50 -100	
L- 01- 5	-10 -50 -100	Nueva
L- 01- 6	-10 -50 -100	Nueva
L- 01- 7	-10 -50 -100	Nueva

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 8	-10 -50 -100	Nueva
L- 01- 9	-10 -50 -100	Véase también Patente 4977251 11.12.1990: DNA Sonden für die Detektion von Bacteroides Spezies (expired) Manz W., et al.. (1996). Application of a suite of 16S rRNA-specific oligonucleotide probes designed to investigate bacteria of the phylum cytophaga-flavobacter-bacteroides in the natural environment. Microbiol. 142: 1097-1106.
L- 01- 10	-10 -50 -100	Hammer et al, Microbiology (2001), 147, 1425-1436.
L- 01- 11	-10 -50 -100	Jürgen Bohnert, Barbara Hübner, Konrad Botzenhart, Int. J. Hyg. Environ. Health 203, 77-82 (2000)
L- 01- 12	-10 -50 -100	Nueva
L- 01- 13	-10 -50 -100	Nueva: según Govan debería abarcar, B. pyrocina, stabilis, multivorans, cepacia, ambiforia

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código	Referencia para la secuencia cognada
L-	Nueva: según Govan debería abarcar, B. dolosa, cenocepacia, vietnamensis, anthina
L- 01- 14 -10 -50 -100	Nueva: sólo B. cepacia y tropicalis
L- 01- 15 -10 -50 -100	Nueva, captura B. pyrocina, stabilis y ambifaria
L- 01- 16 -10 -50 -100	Nueva: según Govan debería abarcar, B. doloda anthinia
L- 01- 17 -10 -50 -100	Nueva: según Govan debería abarcar, B. multivorans

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 18	-10	Nueva: según Govan debería abarcar, B. cenocepacia y vietnamiensis
L- 01- 19	-10 -50 -100	Presentación de Poppert en Jena, diapositivas disponibles, y Sven Poppert, Andreas Essig, Reinhard Marre, Michael Wagner, y Matthias Horn. 2002. Detection and differentiation of chlamydiae by fluorescence in situ hybridization (FISH). Appl. Environ. Microbiol: 68; 4081-4089
L- 01- 20	-10 -50 -100	Presentación de Poppert en Jena, diapositivas disponibles, y Sven Poppert, Andreas Essig, Reinhard Marre, Michael Wagner, y Matthias Horn. 2002. Detection and differentiation of chlamydiae by fluorescence in situ hybridization (FISH). Appl. Environ. Microbiol: 68; 4081-4089
L- 01- 21	-10 -50 -100	Presentación de Poppert en Jena, diapositivas disponibles, y Sven Poppert, Andreas Essig, Reinhard Marre, Michael Wagner, y Matthias Horn. 2002. Detection and differentiation of chlamydiae by fluorescence in situ hybridization (FISH). Appl. Environ. Microbiol: 68; 4081-4089
L- 01- 22	-10 -50 -100	Presentación de Poppert en Jena, diapositivas disponibles, y Sven Poppert, Andreas Essig, Reinhard Marre, Michael Wagner, y Matthias Horn. 2002. Detection and differentiation of chlamydiae by fluorescence in situ hybridization (FISH). Appl. Environ. Microbiol: 68; 4081-4089
L- 01- 23	-10 -50 -100	Presentación de Poppert en Jena, diapositivas disponibles, y Sven Poppert, Andreas Essig, Reinhard Marre, Michael Wagner, y Matthias Horn. 2002. Detection and differentiation of chlamydiae by fluorescence in situ hybridization (FISH). Appl. Environ. Microbiol: 68; 4081-4089
L- 01- 24	-10 -50 -100	Presentación de Poppert en Jena, diapositivas disponibles, y Sven Poppert, Andreas Essig, Reinhard Marre, Michael Wagner, y Matthias Horn. 2002. Detection and differentiation of chlamydiae by fluorescence in situ hybridization (FISH). Appl. Environ. Microbiol: 68; 4081-4089
L- 01- 25	-10 -50 -100	Applied and Environmental Microbiology, August 2002, p. 4081-4089, Vol. 68, No. 8

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 26	-10	Applied and Environmental Microbiology, August 2002, p. 4081-4089, Vol. 68, No. 8
	-50	
	-100	
L- 01- 27	-10	Applied and Environmental Microbiology, August 2002, p. 4081-4089, Vol. 68, No. 8
	-50	
	-100	
L- 01- 28	-10	Applied and Environmental Microbiology, August 2002, p. 4081-4089, Vol. 68, No. 8
	-50	
	-100	
L- 01- 29	-10	Applied and Environmental Microbiology, August 2002, p. 4081-4089, Vol. 68, No. 8
	-50	
	-100	
L- 01- 30	-10	Applied and Environmental Microbiology, August 2002, p. 4081-4089, Vol. 68, No. 8
	-50	
	-100	
L- 01- 31	-10	Applied and Environmental Microbiology, August 2002, p. 4081-4089, Vol. 68, No. 8
	-50	
	-100	
L- 01- 32	-10	Applied and Environmental Microbiology, August 2002, p. 4081-4089, Vol. 68, No. 8
	-50	
	-100	
L- 01- 33	-10	Applied and Environmental Microbiology, August 2002, p. 4081-4089, Vol. 68, No. 8
	-50	
	-100	

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código	Referencia para la secuencia cognada	
L- 01- 34 -10	Nueva	
-50		
-100		
L- 01- 35 -10	Nueva	
-50		
-100		
L- 01- 36 -10	Nueva	
-50		
-100		
L- 01- 37 -10	Nueva	
-50		
-100		
L- 01- 38 -10	Nueva	
-50		
-100		

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 39	-10	Nueva
	-50	
	-100	
L- 01- 40	-10	Nueva
	-50	
	-100	
L- 01- 41	-10	Nueva
	-50	
	-100	
L- 01- 42	-10	INAUGURAL-DISSERTATION, Qiang Fang, zu Tübingen, C:\Aktenkoffer\paper\FISH\23s-probe for Salmonella.pdf
	-50	
	-100	
L- 01- 43	-10	obtenida de Meier H., Amann R., Ludwig W. y Schleifer K.-H. (1999). Specific oligonucleotide probes for in situ detection... Syst. Appl. Microbiol. 22: 186-196. Ésta detecta Firmicutes. TGG AAG ATT CCC TAC TGC crap. Clavel T., Borrmann D., Braune A., Doré J. y Blaut M. (2006). Occurrence and activity of human intestinal bacteria that activate dietary lignans. Anaerobe: En prensa, 5'- CTC GGA CAT TAC TGC CCG CG -3'
	-50	
	-100	
L- 01- 44	-10	Nueva
	-50	
	-100	

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 45	-10 -50 -100	obtenida de Meier H., Amann R., Ludwig W. y Schleifer K.-H. (1999). Specific oligonucleotide probes for in situ detection... Syst. Appl. Microbiol. 22: 186-196. Ésta detecta Firmicutes. TGG AAG ATT CCC TAC TGC crap. Clavel T., Borrmann D., Braune A., Doré J. y Blaut M. (2006). Occurrence and activity of human intestinal bacteria that activate dietary lignans. Anaerobe: En prensa. 5'- CTC GGA CAT TAC TGC CCG CG -3'
L- 01- 46	-10 -50 -100	Rönner S. G. E. y Stackebrandt E. (1994). Identification of Clostridium perfringens by 16S and 23S rRNA oligonucleotide probes. Syst. Appl. Microbiol. 17: 425-432.
L- 01- 47	-10 -50 -100	Rönner S. G. E. y Stackebrandt E. (1994). Identification of Clostridium perfringens by 16S and 23S rRNA oligonucleotide probes. Syst. Appl. Microbiol. 17: 425-432.
L- 01- 48	-10 -50 -100	Nueva
L- 01- 49	-10 -50 -100	Nueva
L- 01- 50	-10 -50 -100	obtenida de Jürgen Bohnert, Barbara Hübner, Konrad Botzenhart Int. J. Hyg. Environ. Health 203, 77-82 (2000)
L- 01- 51	-10 -50 -100	obtenida de Ootsubo M., Shimizu T., Tanaka R., Sawabe T., Tajima K., Yoshimizu M., Ezura Y., Ezaki T. y Oyaizu H. (2002). Oligonucleotide probe for detecting Enterobacteriaceae by in situ hybridization. J. Appl. Microbiol. 93: 60-68.

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 52	-10	obtenida de Kempf V. A., Trebesius K. y Autenrieth I. B. (2000). Fluorescent in situ hybridization allows rapid identification of microorganisms in blood cultures. J. Clin. Microbiol. 38: 830-838.
	-50	
	-100	
L- 01- 53	-10	obtenida de :Wang R., Beggs M., Robertson L. y Cerniglia C. (2002). Design and evaluation of oligonucleotide-microarray method for the detection of human intestinal bacteria in fecal samples. FEMS Microbiol. Lett. 213: 175-182.
	-50	
	-100	
L- 01- 54	-10	obtenida de Behr T., Koob C., Schedl M., Mehlen A., Meier H., Knopp D., Frahm E., Obst U., Schleifer K., Niessner R. y Ludwig W. (2000). A nested array of rRNA targeted probes for the detection and identification of enterococci by reverse hybridization. Syst. Appl. Microbiol. 23: 563-572.
	-50	
	-100	
L- 01- 55	-10	NUEVA, empezada a partir de la secuencia de Wang y movida hacia 5' por etapas y realizando BLAST
	-50	
	-100	
L- 01- 56	-10	obtenida de : Wang R., Beggs M., Robertson L. y Cerniglia C. (2002). Design and evaluation of oligonucleotide-microarray method for the detection of human intestinal bacteria in fecal samples. FEMS Microbiol. Lett. 213: 175-182.
	-50	
	-100	
L- 01- 57	-10	Amman revisión 1995
	-50	
	-100	

ES 2 401 183 T3

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 58	-10 -50 -100	Nueva
L- 01- 59	-10 -50 -100	Comparar secuencia: Patente 5654418 05.08.1997 von Sheiness (Becton Dickinson and Company): Nucleic acid probes useful for detecting microorganisms associated with vaginal infections. Verfahren zur Detektion von vón Mikroorganismen die mit vaginalen Krankheiten assoziiert sind, z.B. Gardnerella vaginalis, Trichomonas vaginalis und Candida albicans. Beispiel für ein Krankheitsbild und den entsprechenden Sondensatz.
L- 01- 60	-10 -50 -100	Nueva superposición de 6 bases con Haeinf-1
L- 01- 61	-10 -50 -100	Nueva, sin superposición
L- 01- 62	-10 -50 -100	Nueva
L- 01- 63	-10 -50 -100	NUEVA

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 64	-10	obtenida de Blasco L., Ferrer S. y Pardo I. (2003). Development of specific fluorescent oligonucleotide probes for in situ identification of wine lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Lett. 225: 115-123.
	-50	
	-100	
L- 01- 65	-10	
	-50	
	-100	
L- 01- 66	-10	
	-50	
	-100	
L- 01- 67	-10	
	-50	
	-100	
L- 01- 68	-10	
	-50	
	-100	
L- 01- 69	-10	
	-50	
	-100	
L- 01- 70	-10	
	-50	
	-100	
L- 01- 71	-10	
	-50	
	-100	
L- 01- 72	-10	
	-50	
	-100	
L- 01- 73	-10	
	-50	
	-100	

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 74	-10	
	-50	
	-100	
L- 01- 75	-10	
	-50	
	-100	
L- 01- 76	-10	Dorothee Grimm,1 Hilde Merkert,1 Wolfgang Ludwig,2 Karl-Heinz Schleifer,2 Jörg Hacker,1 y Bettina C. Brand1* Appl Environ Microbiol. 1998 julio; 64(7): 2686–2690.
	-50	
	-100	
L- 01- 77	-10	Wang, R. -F., Cao, W. -W. y Johnson, M. G. (1991). Development of a 16S rRNA-based oligomer probe specific for Listeria monocytogenes. Appl. Environ. Microbiol. 57, 3666-3670.
	-50	
	-100	
L- 01- 78	-10	
	-50	
	-100	
L- 01- 79		
L- 01- 80	-10	obtenida de INAUGURAL-DISSERTATION, Qiang Fang, zu Tübingen, C:\Aktenkoffer\paper\FISH\23s-probe for Salmonella.pdf
	-50	
	-100	
L- 01- 81	-10	Nueva
	-50	
	-100	

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 82	-10	Nueva
	-50	
	-100	
L- 01- 83		
L- 01- 84		
L- 01- 85	-10	Nueva
	-50	
	-100	
L- 01- 86	-10	Nueva
	-50	
	-100	
L- 01- 87	-10	Salmonella spp. in foods by fluorescent in situ hybridization with 23S rRNA probes: a comparison with conventional culture methods. J Food Prot. 2003 mayo;66(5)723-31 *Fang Q, Brockmann
	-50	
	-100	
L- 01- 88	-10	Salmonella spp. in foods by fluorescent in situ hybridization with 23S rRNA probes: a comparison with conventional culture methods. J Food Prot. 2003 mayo;66(5)723-31 *Fang Q, Brockmann
	-50	
	-100	
L- 01- 89	-10	Salmonella spp. in foods by fluorescent in situ hybridization with 23S rRNA probes: a comparison with conventional culture methods. J Food Prot. 2003 mayo;66(5)723-31 *Fang Q, Brockmann
	-50	
	-100	

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 90	-10	Salmonella spp. in foods by fluorescent in situ hybridization with 23S rRNA probes: a comparison with conventional culture methods. J Food Prot. 2003 mayo;66(5)723-31 *Fang Q, Brockmann
	-50	
	-100	
L- 01- 91	-10	Salmonella spp. in foods by fluorescent in situ hybridization with 23S rRNA probes: a comparison with conventional culture methods. J Food Prot. 2003 mayo;66(5)723-31 *Fang Q, Brockmann
	-50	
	-100	
L- 01- 92	-10	Salmonella spp. in foods by fluorescent in situ hybridization with 23S rRNA probes: a comparison with conventional culture methods. J Food Prot. 2003 mayo;66(5)723-31 *Fang Q, Brockmann
	-50	
	-100	
L- 01- 93	-10	Nueva
	-50	
	-100	
L- 01- 94	-10	Nueva
	-50	
	-100	
L- 01- 95	-10	derived from Urakawa H., Fantroussi, S. E., Smidt, H., Smoot, J. C., Tribou, E. H., Kelly, J. J., Noble, P. A., Stahl, D. A. (2003). Optimization of single-base-pair mismatch discrimination in oligonucleotide microarrays. Appl. Envir. Microbiol. 69: 2848-2856.
	-50	
	-100	

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 96	-10	obtenida de Urakawa H., Fantroussi, S. E., Smidt, H., Smoot, J. C., Tribou, E. H., Kelly, J. J., Noble, P. A., Stahl, D. A. (2003). Optimization of single-base-pair mismatch discrimination in oligonucleotide microarrays. Appl. Envir. Microbiol. 69: 2848-2856.
	-50	
	-100	
L- 01- 97	-10	Nueva
	-50	
	-100	
L- 01- 98	-10	Nueva
	-50	
	-100	
L- 01- 99	-10	Nueva
	-50	
	-100	
L- 01- 100	-10	Nueva
	-50	
	-100	

Tabla 1 (continuación)

Loop Diagostics Número de código	Referencia para la secuencia cognada
L- 01- 101 -10	Nueva
-50	
-100	
L- 01- 102 -10	Comparar secuencia: Patente 5728522 17.03.1998 von Del Vecchio (Research Corporation Technologies): Oligonucleotides and nucleic acids for the detection of *Ureaplasma urealyticum*. Test für die PCR-Detektion von *Ureaplasma urealyticum*
-50	
-100	
L- 01- 103 -10	
-50	
-100	
L- 01- 104 -10	Compara para secuencias: Patente 5593831 14.01.1997 von Shah (Amoco Corporation): Nucleic acid probes for the detection of Yersinia enterocolitica: Nukleinsäure Sonden, die an die rRNA von Y. enterocolitica binden nicht aber an die rRNA von non-Yersinia enterocolitica für die Detektion von Yersinia enterocolitica in Nahrungsmitteln und anderen Proben. Karlheinz Trebesius et al., Journal of Clinical Microbiology, septiembre1998, p. 2557-2564, Vol. 36, No. 9
-50	
-100	

Tabla 2

1

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		¿PNA-adecuada? en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
L- 01- 1	-10	Acinetobacter	TGCCGGATT ACC ATC CTC TCC CAT ACT CTA AATCCCGGCA	Baliza	39		54%	sí	no	no	no		no
	-50		ACC ATC CTC TCC CAT ACT CTA	Híbrido sonda/diana	21	10	48%	sí	sí	sí	no		no
	-100		TAG AGT ATG GGA GAG GAT GGT										
L- 01- 2	-10	Acinatobacter baumanii	GCGCG TC CGG TAG CAA GCT ACC TTC CGCGC	Baliza	30	21	70%	no	no	no	no		no
	-50		TC CGG TAG CAA GCT ACC TTC	Híbrido sonda/diana	20	11	55%	sí		no	no		no
	-100		GAA GGT AGC TTG CTA CCG GA										
L- 01- 3	-10	Actinomyces spp.											
	-50												
	-100												
L- 01- 4	-10	Aspergillus spp											
	-50												
	-100												
L- 01- 5	-10	Aspergillus flavus	CCGCCGGCGT AC AGA GTT CGT GGT GTC TCC TCGCCCAGCGG	Baliza	41	29	71%	no		sí	no		no
	-50		AC AGA GTT CGT GGT GTC TCC	Híbrido sonda/diana	20	11	55%	sí	no	no	no		no
	-100		GGA GAC ACC ACG AAC TCT GT										
L- 01- 6	-10	Aspergillus fumigatus	cgtc gcc tac aga gca ggt gac g	Baliza	23	15	65%	no		sí	no		no
	-50		gcc tac aga gca ggt gac	Híbrido sonda/diana	18	11	61%	no	no	no	sí		no
	-100		gtc acc tgc tct gta ggc										
L- 01- 7	-10	Aspergillus niger	ctctga a ctg att gca ttc aat caa ctc agag	Baliza	32	13	41%	sí		sí	no		no
	-50		a ctg att gca ttc aat caa ctc aga	Híbrido sonda/diana	25	9	36%	sí	no	sí	no		no
	-100		tct gag ttg att gaa tgc aat cag t										
L- 01- 8	-10	Aspergillus terreus	TCCGTC tga ttg caa aga atc aca ctc aga GACGGA	Baliza	36	17	47%	sí		sí	no		no

Tabla 2 (continuación)

2

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
	-50		tga ttg caa aga atc aca ctc aga	Híbrido sonda/diana	24	9	38%	sí	no	sí	no		no
	-100		tct gag tgt gat tct ttg caa tca										
L- 01- 9	-10	Bacteroides/Prevotella	GCCGCCGGCAT CCA ATG TGG GGG ACC TTC TAGCCCAGCGGC	Baliza	39		74%	no		no	no		no
	-50		CCA ATG TGG GGG ACC TTC	Híbrido sonda/diana	17	11	59%	sí	no	no	sí		no
	-100		GAA GGT CCC CCA CAT TGG										
L- 01- 10	-10	Borrelia burgdorferi	TGCCGGATT CA TGC TTA AGA CGC ACT GCC AATCCCGGCA	Baliza	39		56%	sí		sí	no		no
	-50		CA TGC TTA AGA CGC ACT GCC	Híbrido sonda/diana	20	11	50%	sí	no	no	no		no
	-100		GGC AGT GCG TCT TAA GCA TG										
L- 01- 11	-10	Bordetella pertussis	TGCCGGATT CAG CAC TCT GCA AAG ACG AAA AATCCCGGCA	Baliza	40		53%	sí		sí	no		no
	-50		CAG CAC TCT GCA AAG ACG AAA	Híbrido sonda/diana	21	10	48%	sí	no	no	no		no
	-100		TTT CGT CTT TGC AGA GTG CTG										
L- 01- 12	-10	Burkholderia cepacia	ACCGCTC TTT CTT TCC GGA CAA AAG TGC TTT GAGCGGCT	Baliza	39		51%	sí		no	no		no
	-50	complejo= Opción I	TTT CTT TCC GGA CAA AAG TGC TTT	Híbrido sonda/diana	24	9	38%	sí	no	no	no		no
	-100		AAA GCA CTT TTG TCC GGA AAG AAA										
L- 01- 13	-10	Burkholderia cepacia	CGCCTTC AGA ACC AAG GAT TTC TTT CCG G GAAGGCG	Baliza	36		56%	sí		no	no		no
	-50	complejo, dos balizas= Opción II	AGA ACC AAG GAT TTC TTT CCG G	Híbrido sonda/diana	22	10	45%	sí	no	no	no		no
	-100		CCG GAA AGA AAT CCT TGG TTC T										
L-			ACGCA AGAGCCAAGGTTTTCTTTCCG CTTGCGT	Baliza	34		50%	sí		sí	no		no
			AGA GCC AAG GTT TTC TTT CCG	Híbrido sonda/diana	21	10	48%	sí	no	sí	no		no
			CGG AAA GAA AAC CTT GGC TCT										

Tabla 2 (continuación)

3

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
L- 01- 14	-10	Burkholderia cepacia	ACGCTC G TCA TCC CCC GGC CAT GAGCGT	Baliza	28		68%	no		no	no		no
	-50		G TCA TCC CCC GGC CAT	Híbrido sonda/diana	16	11	69%	no	no	no	sí		no
	-100		ATG GCC GGG GGA TGA C										
L- 01- 15	-10	Burkholderia pyrrocinia / stabilis/ambifaria	CGCTC CGT CAT CCC CCG GCT ATA GGAGCG	Baliza	29		69%	no		no	no		no
	-50		CGT CAT CCC CCG GCT ATA	Híbrido sonda/diana	18	11	61%	no	no	no	sí		no
	-100		TAT AGC CGG GGG ATG ACG										
L- 01- 16	-10	Burkholderia dolosa/anthina	CCGCTC GT CAT CCC CCG GCT GTA GAGCGG	Baliza	29		72%	no		no	no		no
	-50		GT CAT CCC CCG GCT GTA	Híbrido sonda/diana	17	11	65%	no	no	no	sí		no
	-100		TAC AGC CGG GGG ATG AC										
L- 01- 17	-10	Burkholderia multivorans	GCCGCCGGCGT CGT CAT CCC CCG ATC GTA TCGCCCAGCGGC	Baliza	41		73%	no		no	no		no
	-50		CGT CAT CCC CCG ATC GTA	Híbrido sonda/diana	18	11	61%	no	no	no	sí		no
	-100		TAC GAT CGG GGG ATG ACG										
L- 01- 18	-10	Burkholderia cenocepacia/vietnamiensis	GCCGCCGGCGT CGT CAT CCC CCG ACT GTA TCGCCCAGCGGC	Baliza	41		76%	no		no	no		no
			CGT CAT CCC CCG ACT GTA	Híbrido sonda/diana	18	11	61%	no	no	no	sí		no
			TAC AGT CGG GGG ATG ACG										
L- 01- 19	-10 -50 -100	Campylobacter (pathogenic thermophiles	GCC CTA AGC GTC CTT CCA		18	11	61%	no		no	sí		no
L- 01- 20	-10	Campylobacter lari	ACGCTC GAA GTG TAA GCA ACT AAA T GAGCGT	Baliza	31		45%	sí		sí	no		no
	-50		GAA GTG TAA GCA ACT AAA T	Híbrido sonda/diana	19	6	32%	sí	no	sí	no		no
	-100		A TTT AGT TGC TTA CAC TTC										
L- 01- 21	-10	Campylobacter jejuni	ACGCTC AGC TAA CCA CTT ATA CCG GAGCGT	Baliza	30		53%	sí		sí	no		no

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
	-50		AGC TAA CCA CTT ATA CCG	Híbrido sonda/diana	18	8	44%	sí	no	no	sí		no
	-100		CGG TAT AAG TGG TTA GCT										
L- 01- 22	-10	Cp. *upsaliensis*	CCGCTC CGT GTG TCG CCC TAG GCG TA GAGCGG	Baliza	32		72%	no	no	no	no		no
	-50		CGT GTG TCG CCC TAG GCG TA	Híbrido sonda/diana	20	13	65%	no		no	no		no
	-100		TA CGC CTA GGG CGA CAC ACG										
L- 01- 23	-10	Cp coli	CCGCTC TCG ATG GCA TCA GGG GTT GAGCGG	Baliza	30		67%	no	no	no	no		no
	-50		TCG ATG GCA TCA GGG GTT	Híbrido sonda/diana	18	10	56%	sí		no	sí		no
	-100		AAC CCC TGA TGC CAT CGA										
L- 01- 24	-10	Cp coli -comp	not required, competitor is not labelled	Baliza									
	-50		TCG ACG GCA TCA GGG GTT	Híbrido sonda/diana	18	11	61%	no		no	sí		no
	-100		AAC CCC TGA TGC CGT CGA										
L- 01- 25	-10	Chlamydia	ACGCCGGCGT TAG CTG ATA TCA CAT AGA TCGCCCAGCGT	Baliza	39		59%	sí	no	sí	no		no
	-50		TAG CTG ATA TCA CAT AGA	Híbrido sonda/diana	18	6	33%	sí		no	sí		no
	-100		TCT ATG TGA TAT CAG CTA										
L- 01- 26	-10	Chlamydiaceae	TCCGCCGGCGT CTT TCC GCC TAC ACG CCC *TCGCCCAGCGGA*	Baliza	41		73%	no	no	no	no		no
	-50		CTT TCC GCC TAC ACG CCC	Híbrido sonda/diana	18	12	67%	no		no	sí		no
	-100		GGG CGT GTA GGC GGA AAG										
L- 01- 27	*-10*	*Chlamydiales*	*TCCGCCGGCGT CCT CCG TAT TAC* CGC AGC TCGCCCAGCGGA	Baliza	41		71%	*no*	no	*no*	*no*		no
	-50		CCT CCG TAT TAC CGC AGC	Híbrido sonda/diana	18	11	61%	no		no	sí		no
	-100		GCT GCG GTA ATA CGG AGG										
L- 01- 28	-10	Chlamydophila	ACGCCGGCGT CTA ACT TTC CTT TCC GCC TCGCCCAGCGT	Baliza	39		64%	no	no	no	no		no

ES 2 401 183 T3

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
	-50		CTA ACT TTC CTT TCC GCC	Híbrido sonda/diana	18	9	50%	sí		no	sí		no
	-100		GGC GGA AAG GAA AGT TAG										
L- 01- 29	-10	Chlamydia pneumoniae	TCCACCGGCGT CTC TTC CTC AAC CGA AAG TCGCCCAGTGGA	Baliza	41		61%	no	no	sí	no		no
	-50		CTC TTC CTC AAC CGA AAG	Híbrido sonda/diana	18	9	50%	sí		no	sí		no
	-100		CTT TCG GTT GAG GAA GAG										
L- 01- 30	-10	"Chlamydia psittaci" group	TCAGCCGGCGT AAG GCA AAA CCA ACT CCC TCGCCCAGCTGA	Baliza	41		61%	no	no	sí	no		no
	-50		AAG GCA AAA CCA ACT CCC	Híbrido sonda/diana	18	9	50%	sí		no	sí		no
	-100		GGG AGT TGG TTT TGC CTT										
L- 01- 31	-10	Subgrupo de Parachlamydiaceae	CCGCCGGCGT TCC GTT TTC TCC GCC TAC TCGCCCAGCGG	Baliza	39		69%	no	no	no	no		no
	-50		TCC GTT TTC TCC GCC TAC	Híbrido sonda/diana	18	10	50%	sí		no	sí		no
	-100		GTA GGC GGA GAA AAC GGA										
L- 01- 32	-10	Chlamydia ssp.	TCCGCCGGCGT GCT CCC CTT GCT TTC GCG TCGCCCAGCGGA	Baliza	42		69%	no	no	no	no		no
	-50		GCT CCC CTT GCT TTC GCG	Híbrido sonda/diana	18	12	61%	no		no	sí		no
	-100		CGC GAA AGC AAG GGG AGC										
L- 01- 33	-10	Chlamydia trachomatis	ACGCTC TCG GAT GCC CAA ATA TCG GAGCGT	Baliza	30		57%	sí	no	no	no		no
	-50		TCG GAT GCC CAA ATA TCG	Híbrido sonda/diana	18	9	50%	sí		no	sí		no
	-100		CGA TAT TTG GGC ATC CGA										
L- 01- 34	-10	Canda albicans	GG aa tgg cta ccc aga agg aaa CCATTCC	Baliza	29	15	52%	sí	no	sí	no		no
	-50		aa tgg cta ccc aga agg aaa	Híbrido sonda/diana	20	9	45%	sí		sí	no		no
	-100		ttt cct tct ggg tag cca tt										

ES 2 401 183 T3

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
L- 01- 35	-10	Canda krusei	CCGCTC tgt att agc tct aga ttt cca cgg GAGCGG	Baliza	36	19	53%	sí	no	sí	no		no
	-50		tgt att agc tct aga ttt cca cgg	Híbrido sonda/diana	24	9	38%	sí		no	no		no
	-100		ccg tgg aaa tct aga gct aat aca										
L- 01- 36	-10	Candida dublinlensis	GTTTGcc ccg aaa gag taa ctt gca GGCAAAC	Baliza	32	16	50%	sí	no	no	no		no
	-50		cc ccg aaa gag taa ctt gca	Híbrido sonda/diana	20	10	50%	sí		no	no		no
	-100		tgc aag tta ctc ttt cgg gg										
L- 01- 37	-10	Candida glabrata	GCCGCCGGCGT gg cca ccc agg ccc aaa TCGCCCAGCGGC	Baliza	40	32	80%	no	no	no	no		no
	-50		gg cca ccc agg ccc aaa	Híbrido sonda/diana	17	12	71%	no		no	sí		no
	-100		ttt ggg cct ggg tgg cc										
L- 01- 38	-10	Candida parapsilosis	GCCGCCGGCGT gc caa aaa ggc tag cca gaa TCGCCCAGCGGC	Baliza	43	30	70%	no	no	no	no		no
	-50		gc caa aaa ggc tag cca gaa	Híbrido sonda/diana	20	10	50%	sí		no	no		no
	-100		ttc tgg cta gcc ttt ttg gc										
L- 01- 39	-10	Candida spp	ACGC gct tgg ctg gcc ggt c GCGT	Baliza									
	-50		g acc ggc cag cca agc	Híbrido sonda/diana	16	12	75%	no		no	sí		no
	-100		gct tgg ctg gcc ggt c		24	18	75%	no	no	no	no		no
L- 01- 40	-10	Candida tropicales	ACCGCCGGCGT tac gca tca gaa aga tgg acc TCGCCCAGCGGT	Baliza	44	28	64%	no	no	sí	no		no
	-50		tac gca tca gaa aga tgg acc	Híbrido sonda/diana	21	10	48%	sí		no	no		
	-100		GGT CCA TCT TTC TGA TGC GTA										
L- 01- 41	-10	Candida lusitaniae		Baliza									
	-50			Híbrido sonda/diana									
	-100												

ES 2 401 183 T3

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
L- 01- 42	-10	Citrobacter freundii	TGCCGGATT C TAC TTG TTA GGT GAC TGC GT AATCCCGGCA	Baliza	40		53%	sí	no	sí	no		no
	-50		C TAC TTG TTA GGT GAC TGC GT	Híbrido sonda/diana	21	11	48%	sí		no	no		no
	-100		AC GCA GTC ACC TAA CAA GTA G										
L- 01- 43	-10	Clostridium botulinum	TCTTG TAG T GC CGT TTC ATG CGA AAC TAC AA GA	Baliza	33		42%	sí	no	no	no		no
	-50		GC CGT TTC ATG CGA AAC TAC AA	Híbrido sonda/diana	22	10	45%	sí		no	no		no
	-100		TT GTA GTT TCG CAT GAA ACG GC										
L- 01- 44	-10	Clostridium difficile	GCCGCCGGCGT CGAAG TAA ATC GCT CAA CTT GCA TCGCCCAGCGGC	Baliza	46	30	65%	no	no	sí	no		no
	-50		CGA AGT AAA TCG CTC AAC TTG CA	Híbrido sonda/diana	23	10	43%	sí		no	no		no
	-100		TGC AAG TTG AGC GAT TTA CTT CG										
L- 01- 45	-10	Clostridium spp	CGCTCA CAC CCG TCC GCC GCT AAT GAGCG	Baliza	29		69%	no	no	no	no		no
	-50		CAC CCG TCC GCC GCT AAT	Híbrido sonda/diana	18	12	67%	no		no	sí		no
	-100		ATT AGC GGC GGA CGG GTG										

ES 2 401 183 T3

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
L- 01- 46	-10	Clostridium perfringens	GCCGCCGGCGT G ATT GCT CCT TTG GTT GAA TGA TG TCGCCCAGCGGC	Baliza	44		68%	no	no	sí	no		no
	-50		G ATT GCT CCT TTG GTT GAA TGA TG	Híbrido sonda/diana	21	10	48%	sí		no	no		no
	-100		CA TCA TTC AAC CAA AGG AGC AAT C										
L- 01- 47	-10	Clostridium perfringens	ACGCTC GGT TGA ATG ATG ATG CCA T GAGCGT	Baliza	31		52%	sí	sí	sí	no		no
	-50		GGT TGA ATG ATG ATG CCA TCT TT	Híbrido sonda/diana	19	9	42%	sí		sí	no		no
	-100		AA AGA TGG CAT CAT CAT TCA ACC										
L- 01- 48	-10	Clostridium tetani	GCGGAC CT GTG TTA CTC ACC CGT CCG C	Baliza	27	18	52%	sí	no	no	no		no
	-50		CT GTG TTA CTC ACC CGT CCG	Híbrido sonda/diana	20	12	42%	sí		no	no		no
	-100		CGG ACG GGT GAG TAA CAC AG										
L- 01- 49	-10	Cryptococcus neoformans		Baliza									
	-50			Híbrido sonda/diana									
	-100												
L- 01- 50	-10	Enterobacteriaceae	TGCCGGATT TT CGT GTT TGC ACA GTG CTG T AATCCCGGCA	Baliza	40		53%	yes	no	sí	no		no
	-50		TT CGT GTT TGC ACA GTG CTG T	Híbrido sonda/diana	21	10	48%	yes		no	no		no
	-100		A CAG CAC TGT GCA AAC ACG AA										
L- 01- 51	-10	Enterobacteriaceae	TGCCGGATT TCT CGC GAG GTC GCT TCT AATCCCGGCA	Baliza	27	16	59%	yes	no	no	no		no
	-50		TCT CGC GAG GTC GCT TCT	Híbrido sonda/diana	18	11	61%	no		no	sí		no
	-100		AGA AGC GAC CTC GCG AGA										
L- 01- 52	-10	Enterobacteriaceae	TGCCGGATT CCC CCW CTT TGG TCT TGC GA AATCCCGGCA	Baliza	39		59%	yes	no	no	no		no
	-50		CCC CCW CTT TGG TCT TGC GA	Híbrido sonda/diana	20	12	60%	no		no	no		no

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
	-100		TC GCA AGA CCA AAG WGG GGG										
L- 01- 53	-10	Enterococci	TGCCGGATT ATC CAT CAG CGA CAC CCG AATCCCGGCA	Baliza	38		58%	sí	no	no	no		no
	-50		ATC CAT CAG CGA CAC CCG	Híbrido sonda/diana	18	11	61%	no		no	sí		no
	-100		CGG GTG TCG CTG ATG GAT										
L- 01- 54	-10	Enterococcus faecalis	TGCCGGATT CCC TCT GAT GGG TAG GTT AATCCCGGCA	Baliza	37		57%	sí	no	sí	no		no
	-50		CCC TCT GAT GGG TAG GTT	Híbrido sonda/diana	18	10	56%	sí		no	sí		no
	-100		AAC CTA CCC ATC AGA GGG										

Tabla 2 (continuación)

10

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
L- 01- 55	-10	Enterococcus faecium	GCCGCCGGCGT TTC AAA TCA AAA CCA TGC GGT TTC TCGCCCAGCGGC	Baliza	47		62%	no	no	sí	no		no
	-50		TTC AAA TCA AAA CCA TGC GGT TTC	Híbrido sonda/diana	24	9	38%	sí		no	no		no
	-100		GAA ACC GCA TGG TTT TGA TTT GAA										
L- 01- 56	-10	Escherichia coli	TGCCGGATT GGA AGA AGC TTG CTT CTT TGC AATCCCGGCA	Baliza	40		53%	sí	no	sí	no		no
	-50		GGA AGA AGC TTG CTT CTT TGC	Híbrido sonda/diana	21	10	48%	sí		no	no		no
	-100		GCA AAG AAG OAA GCT TCT TCC										
L- 01- 57	-10	Eu-bacteria	CGCTC GCT GCC TCC CGT AGG AGT GAGCG	Baliza	28		71%	no		no	no		no
	-50		GCT GCC TCC CGT AGG AGT	Híbrido sonda/diana	18	12	67%	no	no	no	sí		no
	-100		ACT CCT ACG GGA GGC AGC										
L- 01- 58	-10	Fusarium spp											
	-50												
	-100												
L- 01- 59	-10	Gardnerella vaginalis	ACGCTC CAC CAT GAA GCA ACC CGT GAGCGT	Baliza	30		60%	no	no	no	no		no
	-50		CAC CAT GAA GCA ACC CGT	Híbrido sonda/diana	18	10	56%	sí		no	sí		no
	-100		ACG GGT TGC TTC ATG GTG										
L- 01- 60	-10	Haemophilus Influenzae	ACCCGCTA TT CCG ATA ATA CGC GGT ATT AGC GGGT	Baliza	35		51%	sí	no	no	no		no
	-50		TT CCG ATA ATA CGC GGT ATT AGC	Híbrido sonda/diana	23	10	43%	sí		no	no		no
	-100		GCT AAT ACC GCG TAT TAT CGG AA										
L- 01- 61	-10	Haemophilus Influenzae	CGGTGCTC TA ATA CGC GGT ATT AGC GAC AG AGAGCACCG	Baliza	39		56%	sí	no	no	no		no

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
	-50		TA ATA CGC GGT ATT AGC GAC AG	Híbrido sonda/diana	22	10	45%	sí		no	no		no
	-100		CT GTC GCT AAT ACC GCG TAT AT										
L- 01- 62	-10	Klebsiella pneumoniae	ACGCCGGCGT AGG TTA TTA ACC TCA TCG CCT TCGCCCAGCGT	Baliza	40		63%		no	no	no		no
	-50		AGG TTA TTA ACC TCA TCG CCT	Híbrido sonda/diana	21	9	43%	sí		no	no		no
	-100		AGG CGA TGA GGT TAA TAA CCT										
L- 01- 63	-10	Klebsiella oxytoca	GGAAGGGATAT AGG TTA TTA ACC TCA CTC CCT TCC	Baliza	35	16	46%	sí	no	sí	no		no
	-50		AGG TTA TTA ACC TCA CTC CCT TCC	Híbrido sonda/diana	24	11	46%	sí		sí	no		no
	-100		GGA AGG GAG TGA GGT TAA TAA CCT										
L- 01- 64	-10	Lactobacillus brevis	CGC TCAT TCA ACG GAA GCT CGT TCG ATGAGCG	Baliza	31		48%	sí	no	sí	no		no
	-50		TCAT TCA ACG GAA GCT CGT TCG	Híbrido sonda/diana	22	11	50%	sí		sí	no		no
	-100		CGAAC GAGCTTCCGT TGAATGA										
L- 01- 65	-10	Mycobacterium avium		Baliza									
	-50			Híbrido sonda/diana									
	-100												
L- 01- 66	-10	Mycobacterium bovis											
	-50												
	-100												
L- 01- 67	-10	Mycobacterium chelonae											
	-50												
	-100												
L- 01- 68	-10	Mycobacterium fortuitum											
	-50												
	-100												
L- 01- 69	-10	Mycobacterium gordonae											
	-50												

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
	-100												
L- 01- 70	-10	Mycobacterium											
	-50	intracellulare											
	-100												
L- 01- 71	-10	Mycobacterium											
	-50	kansasii											
	-100												
L- 01- 72	-10	Mycobacterium											
	-50	malmoense											
	-100												
L- 01- 73	-10	Mycobacterium											
	-50	smegmatis											
	-100												
L- 01- 74	-10	Mycobacterium											
	-50	tuberculosis											
	-100												
L- 01- 75	-10	Mycobacterium											
	-50	xenopi											
	-100												
L- 01- 76	-10	Legionella pneumophila	TGCCGGATT ATC TGA CCG TCC CAG GTT AATCCCGGCA	Baliza	37			57%	sí	no	sí	no	no
	-50		ATC TGA CCG TCC CAG GTT	Híbrido sonda/diana	18	10		56%	sí		no	sí	no
	-100		AAC CTG GGA CGG TCA GAT										
L- 01- 77	-10	Listeria monocytogenes	ACGCTC ATA AGA TGT GGC GCA TGC GAGCGT	Baliza	30			57%	sí	no	no	no	no
	-50		ATA AGA TGT GGC GCA TGC	Híbrido sonda/diana	18	9		50%	sí		no	sí	no
	-100		GCA TGC GCC ACA TCT TAT										
L- 01- 78	-10	Mycoplasma hominis	TBD	Baliza									
	-50		ATT GCT AAC CTC GCT CGA	Híbrido sonda/diana									
	-100		TCG AGC GAG GTT AGC AAT										

ES 2 401 183 T3

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
L- 01- 79		Nocardia spp.		Baliza									
				Híbrido sonda/diana									
L- 01- 80	-10	Proteus mirabili/vulgaris	GGC GTC ACA CCG G AT ACG TAGTGCTACGCC	Baliza	30		63%	no	no	no	no		no
	-50		GGC GTC ACA CCG G AT ACG	Híbrido sonda/diana	18	12	67%	sí		no	sí		no
	-100		CCGT ATC CGG TGT GAC GCC										
L- 01- 81	-10	Pneumoscystis -1	ACTC GGC TTC ATG CCA ACA GTC GAGT	Baliza	25		56%	sí	no	sí	no		no
	-50		GGC TTC ATG CCA ACA GTC	Híbrido sonda/diana	21	10	57%	sí		sí	no		no
	-100		GAC TGT TGG CAT GAA GCC										
L- 01- 82	-10	Pneumocystis-2	GACAC CAT AAG ATG CCG AGC GAG GTGTC	Baliza	28		57%	sí	no	no	no		no
	-50		CAT AAG ATG CCG AGC GAG	Híbrido sonda/diana	18	10	56%	sí		no	sí		no
	-100		CTC GCT CGG CAT CTT ATG										
L- 01- 83		Propionibacterium acnes											
L- 01- 84		Propionibacterium spp (distinta de Psaer)											
L- 01- 85	-10	Pseudomonas aeruginosa	ACCGCCGGCGT A AGA CGA CTC GTC ATC ACC T TCGCCCAGCGGT	Baliza	42		67%	no	no	sí	no		no
	-50		A AGA CGA CTC GTC ATC ACC T	Híbrido sonda/diana	20	10	50%	sí		no	no		no
	-100		A GGT GAT GAC GAGTCG TCT T										
L- 01- 86	-10	Pseudomonas spp	GCCGCCGGCGT GGC AGA TTC CTA GGC ATT ACT TCGCCCAGCGGC	Baliza	44	30	68%	no	no	sí	no		no
	-50		GGC AGA TTC CTA GGC ATT ACT	Híbrido sonda/diana	21	10	48%	sí		no	no		no

ES 2 401 183 T3

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
	-100		AGT AAT GCC TAG GAA TCT GCC										
L- 01- 87	-10	Salmonellen	AGCTC TGC GCT TTT GTG TAC GGG GCT GAGCT	Baliza	31		58%	sí	no	no	no		no
	-50		TGC GCT TTT GTG TAC GGG GCT	Híbrido sonda/diana	21	11	57%	sí		no	no		no
	-100		AGC CCC GTA CAC AAA AGC GCA										
L- 01- 88	-10	Salmonellen 331 Komp	not required, competitor is not labelled	Baliza									
	-50		G TGCA TTT GTG TAC GGG GC	Híbrido sonda/diana	18	11	61%	no		no	sí		no
	-100		AGC CCC GTA CAC AAA AGC GCA										
L- 01- 89	-10	Salmonellen	CGCTC CTT CAC CTA CGT GTC AGC G GAGCG	Baliza	29		66%	no	no	sí	no		no
	-50		CTT CAC CTA CGT GTC AGC G	Híbrido sonda/diana	19	11	58%	sí		no	no		no
	-100		C GCT GAC ACG TAG GTG AAG										
L- 01- 90	-10	Salmonellen	not required, competitor is not labelled	Baliza									
	-50		T CAC CTA CAT ATC AGC GTG C	Híbrido sonda/diana	20	10	50%	sí	no	sí	no		no
	-100		C GCT GAC ACG TAG GTG AAG A										
L- 01- 91	-10	Salmonellen		Baliza									
	-50			Híbrido sonda/diana									
	-100												
L- 01- 92	-10	Salmonella	TGCCGGATT CTT CAC CTA CGT GTC AGC G AATCCCGGCA	Baliza	38		58%	sí	no	sí	no		no
	-50		CTT CAC CTA CGT GTC AGC G	Híbrido sonda/diana	19	11	58%	sí		no	no		no
	-100		C GCT GAC ACG TAG GTG AAG										
L- 01- 93	-10	Serratia spp		Baliza									
	-50			Híbrido sonda/diana									

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
	-100												
L- 01- 94	-10	Serratia marcescens	GCCGCCGGCGT CG AGA CTC TAG CTT GCC AGT TCGCCCAGCGGC	Baliza	43		72%	no	no	sí	no		no
	-50		CG AGA CTC TAG CTT GCC AGT	Híbrido sonda/diana	20	11	55%	sí		no	no		no
	-100		ACT GGC AAG CTA GAG TCT CG										

ES 2 401 183 T3

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código		Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
L- 01- 95	-10	Staphylococcus aureus	TGCCGGATT TTC TCG TCC GTT CGC TCG ACT TGC AATCCCGGCA	Baliza	43		58%	sí	no	sí	no		no
	-50		TTC TCG TCC GTT CGC TCG ACT TGC	Híbrido sonda/diana	24	14	58%	sí		no	no		no
	-100		GCA AGT CGA GCG AAC GGA CGA GAA										
L- 01- 96	-10	Staphylococci	GCAAC TT TCG CAC ATC AGC GTC AGT T GC	Baliza	28		54%	sí	no	sí	no		no
	-50		TT TCG CAC ATC AGC GTC AGT T	Híbrido sonda/diana	21	10	48%	sí		sí	no		no
	-100		A ACT GAC GCT GAT GTG CGA AA										
L- 01- 97	-10	Stenotrophomonas maltofilia	CCC TCT ACC ACA CTC TAG TCG GGT AGA GGG	Baliza	30		57%	sí	no	no	no		no
	-50		CCC TCT ACC ACA CTC TAG TCG	Híbrido sonda/diana	21	12	52%	sí		no	no		no
	-100		CGA CTA GAG TGT GGT AGA GGG										
L- 01- 98	-10	Streptococcus agalactiae	GCCGCCGGCGT ACT CCT ACC AAC GTT CTT CTC TCGCCCAGCGGC	Baliza	45		67%	no	no	sí	no		no
	-50		ACT CCT ACC AAC GTT CTT CTC	Híbrido sonda/diana	21	11	48%	sí		no	no		no
	-100		GAG AAG AAC GTT GGT AGG AGT										
L- 01- 99	-10	Streptococci	GGCCTTC GCC GTC CCT TTC TGG TTA GTT GAAGGCC	Baliza	35		60%	no	no	no	no		no
	-50		GCC GTC CCT TTC TGG TTA GTT	Híbrido sonda/diana	21	11	52%	sí		no	no		no
	-100		AAC TAA CCA GAA AGG GAC GGC										
L- 01- 100	-10	Streptococcus pneumoniae	GCGT TAA GCA AAT GTC ATG CAA CAT CTA CTTAACGC	Baliza	38		39%	sí	no	sí	no		no
	-50		T TAA GCA AAT GTC ATG CAA CAT CTA	Híbrido sonda/diana	25	8	32%	sí		sí	no		no
	-100		TAG ATG TTG CAT GAC ATT TGC TTA A										
L- 01- 101	-10	Streptococcus pyogenes	TGCCTTC GAG CAA TTG CCC CTT TTA AAT TAC GAAGGCA	Baliza	38		45%	sí	no	no	no		no

ES 2 401 183 T3

Tabla 2 (continuación)

Loop Diagostics Número de código	Organismo diana	Secuencia 5'-3'		Longitud	Contenido GC		en contenido GC	en <3 bases auto. compl.	en 4 purinas seguidas	long. (máx 18)	Sec. inversa palíndromos/ repeticiones/ horquilla	Final
-50		GAG CAA TTG CCC CTT TTA AAT TAC	Híbrido sonda/diana	24	9	38%	sí		no	no		no
-100		GTA ATT TAA AAG GGG CAA TTG CTC										
L- 01- 102 -10	Ureaplasma urealyticum	ACGCTC GTT CCC CAA CTC CCT ACT GAGCGT	Baliza	30		60%	no	no	no	no		no
-50		GTT CCC CAA CTC CCT ACT	Híbrido sonda/diana	18	10	56%	sí		no	sí		no
-100		AGT AGG GAG TTG GGG AAC										
L- 01- 103 -10	Urogenital-Peptostreptococci	ACTC CCC CTT GTG TAA GGC AGG GAGT	Baliza	28		54%	sí	no	no	no		no
-50		CCC CTT GTG TAA GGC AGG	Híbrido sonda/diana	24	11	54%	sí		no	no		no
-100		CCT GCC TTA CAC AAG GGG										
L- 01- 104 -10	Yersinia enterocolitica	ACGCTC CCC ACT TTG GTC CGA AGA GAGCGT	Baliza	30		60%	no	no	sí	no		no
-50		CCC ACT TTG GTC CGA AGA	Híbrido sonda/diana	18	10	56%	sí		no	sí		no
-100		TCT TCG GAC CAA AGT GGG										

ES 2 401 183 T3

Tabla 3 Lista de las sondas de Baliza que funcionan en condiciones idénticas a la Tabla 1 y poseen condiciones fisicoquímicas muy similares		
Organismo diana	Nombre de la baliza	Secuencia 5'-3'
Acinetobacter spp,	B-Acibact-1	TGCCGGTT TTAGGCCAGATGGCTGCC AATCCCGGCA
Aspergillus fumigatus,	Aspfum	CCGG CCC CCG AGA GGT GAT ACA T GCCGG
Aspergillus niger,	Aspnig	CCGGC AAT TAC AAT GCG GAC TCC GAA G CCGG
Klebsiella pneumoniae,	B;Klepne-2	ACGCCGGCGT AGG TTA TTA ACC TCA TCG CCT TCGCCCAGCGT
Mycobacterium avium Complex,	B.Mycav	CCC GGT GTT GAT ATA AGG CAG GTG CCGGG
Mycobacterium chelonae,	B-Mchel	CCCGG CA TGA AGT GTG TGG TCC TAT CCGGG
Mycobacterium fortuitum,	B-Mfort	CCCGG TGA AGC GCG TGG TCA TAT TC CCGGG
Mycobacterium gordonae,	B-Mgord	CCCGG TGT GTC CTG TGG TCC TAT TC CCGGG
Mycobacterium intracellulare,	B-Mintra	CCCGG AC ATG CGT CTA AAG GTC CTA CCGGG
Mycobacterium kansasii/gastri,	B-Mkan	CCCGG TA GAG CTG AGA CGT ATC GAT C CGGG

Mycobacterium malmoense,	B-Mmalm	CCG CG CCA CTG AAA CGC CCT ATT CGCGG
Mycobacterium smegmatis,	B-Msmeg	CCCGG CAC GTC GAG GGC TCT GAC CCGGG
Mycobacterium tuberculosis complex,	B-Mtb-compl	CCA CCG GAG AGG AAA AGG AGG TGG
Mycobacterium xenopi,	B-Mxen	CCGCG C CGC TAC CAA ACG CTT TC GCGG
Shigella (some E.coli),	B-Shig	CCGGG tca ccc tgt atc gca cgc ct CCCGG
Staphylococcus aureus,	B-Staphau	TGCCGGATT TTC TCG TCC GTT CGC TCG ACT TGC AATCCCGGCA
Streptococcus agalactiae,	B-Straga-2	GCCGCCGGCGT ACT CCT ACC AAC GTT CTT CTC TCGCCCAGCGGC
Streptococcus pyogenes,	B-Strpyo-C	TGCCTTC GAG CAA TTG CCC CTT TTA AAT TAC GAAGGCA
Citrobacter freundii,	Citfreu-WI	CCCGGT CGC TTC ATT ACG CTA TGT ATC C ACCGGG
Streptococcus pyogenes,	B-Strpyo-D	CGCTC GAG CAA TTG CCC CTT TTA AAT TAC GAGCG
Streptococcus pneumoniae,	B-Strepne-2	CCGT TAA GCA AAT GTC ATG CAA CAT CTA CTTA ACGG
Streptococci, F111	B-Strept-2	CGCCTTC GCC GTC CCT TTC TGG TTA GTT GAAGGCG
Streptococcus agalactiae,	B-Straga-3	CCGCT ACT CCT ACC AAC GTT CTT CTC AGCGG
Serratia marcescens,	B-Sermarc	CCGCTC CG AGA CTC TAG CTT GCC AGT GAGCGG
Pseudomonas spp.,	B-Psspp	CGCTC GGC AGA TTC CTA GGC ATT ACT GAGCG
Staphylococci,	B-Staphspp-2	CCAAC TT TCG CAC ATC AGC GTC AGT T GG

Salmonella,	B-Sal 1686	CGCTC CTT CAC CTA CGT GTC AGC G GAGCG
Pseudomonas aeruginosa,	B- Psaer D	CCCGG A AGA CGA CTC GTC ATC AGC T CCGGG
Legionella pneumophila ,	B-Legpne	CC GG ATC TGA CCG TCC CAG GTT CC GG
Klebsiella oxytoca,	B-Kleboxy	CCGAGGT AGG TTA TTA ACC TCA CTC CCT TCC TCGG
Staphylococcus aureus,	B-Staur-W1	CCCCT CAA GCT TCT CGT CCG TTC G A GGGG
Listeria monocytogenes,	Lismon	CCTA GCA TGC GCC ACA TCT TAT CA GCTAGG
Klebsiella pneumoniae,	B-Klepne-3	CAGGCTT AGG TTA TTA ACC TCA TCG CCT G
Haemophilus influenzae,	B-Haeinf	CCCGG CC GCA CTT TCA TCT TCC GAT CCGGG
Burkholderia spp.,	B-Burk. Spp	CCCGG CCA GTC ACC AAT GCA GTT CC CCGGG

Burkholderia cepatia & Burkholderia cenocepatia,	B-Burcep-cen WI	CCT GCC TA TGT ATT CAG CCA TGG CAGG
Burkholderia malii & Burkholderia pseudomalei,	B-Burpseumal WI	GGGCC T CGC CTC ACT AGA CCT ATG CCGGG
Burkholderia vietnamensis,	B-Burviet WI	CCCGG T CGC TTC TCT GGA CCT ATG CCGGG
Burkholderia multivorans,	B-Burmult WI	CCCGG CTT CAC CCT TCC AGC GCA CCGGG
Burkholderia gladioli,	B-Burgla WI	CCAGC GG TAC GGT CAC TGT TAA ACT GCTGG
Acinetobacter spp,	B-Acibact-2	CCGTAG ACC ATC CTC TCC CAT ACT CTA CGG
Acinetobacter baumanii,	B-Acinbaum-3	C CG CTA GGT CCG GTA GCA AGC GG
Aspergillus flavus,	B-Aspfla-3	CGGCC TAC ATT CCG GGA GCC TTT G GCCG
Aspergillus terreus,	Aspter	CCGAT CAG ACA CCC CGC CCC ATA GATCGG
Bacteroides/Prevotella,	B-BacPrev	CCGCG GT GTC TCA GTT CCA ATG TGG G CGCGG
Borrelia burgdorferi+garinii+afzelii+valaisiana,	B-Borrcompl	CCCGG GGT AAC AGA TAA CAA GGG TTG CCCGGG
Bordetella pertussis,	B-Borper	CCGGG CTC CCC ACA CTT TCG TGC A CCCGG

Escherichia coli,	B-Ecol-II	CCG GCA AAG AAG CAA GCT TCT TCC CCGG
Gardnerella vaginalis,	Garvag	CCGCTC CAC CAT GAA GCA ACC CGT GAGCGG
Eu-bacteria,	B-Eub-338	CCGCGT GCT GCC TCC CGT AGG AGT CGCGG
Enterococcus faecium,	B-Encoc-ium	C TTC AAA TCA AAA CCA TGC GGT TTC ATTTGAAG
Stenotrophomonas maltophilia,	B-Sternal-2	CCCGGA CCC TCT ACC ACA CTC TAG TCG CCGGG
Enterococcus faecalis,	B-Encoc-alis-1	CAACCA CCC TCT GAT GGG TAG GTT G
Enterococci,	B-Entcoc	CCCGG C ATC CAT CAG CGA CAC CCG CCG GG
Enterobacteriaceae,	B-Entero-1247	CCCGG TCT CGC GAG GTC GCT TCT CCGGG
Clostridium perfringens,	B-Cloper-Cp2-10	GCATCA G ATT GCT CCT TTG GTT GAA TGA TG C

Clostridium spp.,	B-Clospp	CCC GG TAC CGT CAT TAT CGT CCC CCGGG
Chlamydia trachomatis,	ChltraA	CCGC TCG GAT GCC CAA ATA TCGC GG
Candida dubliniensis,	B-Can-dub	CCCGG C CCG AAA GAG TAA CTT GCA AAA CCGGG
Candida glabrata,	B-Cangla	CCCGG AGG CAA GGG GCG CAA AA CCGGG
Candida krusei,(Issatchenkia orientalis)	B-Cankru	CCGTGA CCT GCA GCA AGA ACC GAT CACGG
Candida lusitaniae, (Clavispora lusitaniae)	B.Canlus	CACT G CCG ACT CAG ACC ACG AAA GCAGTG
Candida albicans,	B-Canalb-3	CCGCG TT TAC ACA GAC CCG GGT CAT CGCGG
Candida tropicalis,	B-Cantrop	CCTCGG AC ATT CCA ACG CAA TTC TCCTAC CGAGG
Candida parapsilosis,	B-Can-para	CCCGG CAC ATT TCT TTG CAC TTA TCC TAC CCGGG

Chlamydia pneumoniae,	B-Chlapneu	CCGGG CTC TTC CTC AAC CGA AAG GT CCCGG
grupo Chlamydia psittaci,	B-S-S-Cps-1414-a-A-18	CCGG AAG GCA AAA CCA ACT CCC AT CCGG
Campylobacter (termófilos patogénicos),	B-Ctherm	CCCGG GCC CTA AGC GTC CTT CCA CCGGG
Campylobacter coli,	B-Cpcoli	CGCTC TCG ATG GCA TCA GGG GTT GAGCG
Campylobacter lari,	Clari	CCCGG CCC GAA GTG TTA GCA ACT AAA TC GCCGGG
Campylobacter jejuni,	B-Cjj	CCGGG TA AGC TAA CCA CAC CTT ATA CCG CCCGG
Campylobacter upsaliensis,	B-Cpups	CCCGGGC CGT GTG TCG CCC TAG GCG TA GCCCGGG
Pneumocystis carinii,	B-Pncari	CCCTGC TA TCC AGT AAC TGA AAC CGA TGC AGGG
Mycoplasma pneumoniae,	B-Myplapn	CCTCCG TGA TAG CTG TTT CCA ACT ACC GGA GG
Cryptococcus neoformans,	B-Cryneo	CCTGG TAT GAT TCA CCA TAG AGG GCC AGG
EHEC,	B-EHEC	CCCG GT CAC CCC ATA AAA GAG GCT CCGGG
Neisseria meningitidis,	B-Neimeng	CACCG TTA TCC CCC ACT ACT CGG TG
Neisseria gonorrhoeae,	B-Neigon	CCCGG ACC CCG CCA ACC AGC TAA CCGGG
Clostridium difficile,	B-Clodiff	CGGGT CGA AGT AAA TCG CTC AAC TTG CA CCCG
Clostridium botulinum,	B-Clobot	CG TT GC CGT TTC ATG CGA AAC TAC AA CG
Clostridium tetani,	B-Clotet	CCGG AA CT GTG TTA CTC ACC CGT CCG G
Peptostreptococcus anaerobius,	B-Pepan	CCGGC CTT TGA TAT ATC TAC GAT GCC G G
Peptostreptococcus magnus,	B-pepmag	CCGC CTA ATC CGA AAT GAA TTC TGG CG G

Peptostreptococcus magnus,	B-pepmag	CCGCC ATG TGT TTC TAC GAT TTT ATG CGG CGG
Peptostreptococcus micros,	B-Pepmic	CCCGG ACT TTC ATT TCA TTT CCA TTC CCG GG
Enterococcus faecalis,	B-Encoc-alis-2	CCATCG GCA CTC GGG AGG AAA GAA G CGATGG
Enterococcus faecium,	B-entfae-1	CGC CCA TGC GGT TTT GAT TGT TAT AC GGGCG
Enterococcus casseliflavus,	B-Entcas	CCGCG CAA GGG ACG AAC ATT TTA CTC TC GCGG
Enterococcus gallinarum,	B-entfae-2	CCGCG CAA GGG ATG AAC GTT CTA CTC GCGG
Candida albicans,	B-Canalb-2	CCCGG TTT CCT TCT GGG TAG CCA TT CCGGG
Morganella morganii (Proteus morganii),	B.Mormorg	CCGG CAA GAC TCT AGC TGA CCA GTA TC GCCGG
Proteus mirabilis,	B-Protmir	CG CCGATA GTG CAA GGT CCG AAG CGGCG
Proteus vulgaris,	B-Protvul	CCG CCG TAG ACG TCA TGC GGT A GGCGG
Treponema pallidum,	B-Trepal	CCCGG TCC GCC ACT CTA GAG AAA CG CCGGG
Trichonomas vaginalis,	B-Trivag	CCCGG GAA TGG CGT GCC TCT GAT GA CCGGG
Micrococci,	B-Micoc	CCCGG ACC TCA CAG TAT CGC AAC C GGG
Lactobacillus brevis,	B-Lacbrev	CGG CCG CGG GAT CAT CCA GAA GGCCG
Yersinia enterocolitica,	B-Yerent	CCCGG ATC TCT GCT AAA TTC CGT GGA TG CCGGG

Bacillus cereus,	B-Bacce	CCATAC CAC TCT GCT CCC GAA GG TATGG
Vibrio cholerae,	B-Vibchol	CTGAT GCA TAT CCG GTA GCG CAA G CATCAG
Vibrio parahaemolyticus,	B-Vibpara	CCCGG TGC AGC TAT TAA CTA CAC TAC C CCGGG
Cryptosporidium spp.,	B-Crypt	CCGTA CAT AAG GTG CTG AAG GAG TAA G TACGG
Coxiella burnetii,	B-Cox	CCGGG ACC CTT GAG AAT TTC TTC CCC GG
Bartonella spp.,	B-Bart	CCG GCA CAA ATT TCT CTG TGT TAT TCC G CCGG
Enterobacter sakazakii,	B-Entsak	CCCGG TCT CTG CAG GAT TCT CTG GAT G CCGGG
Enterobacter cloacae,	B-Entclo	
Enterobacter aerogenes,	B-Entaer	
Ehrlichia spp.,	B-Ehrlich	CCGC GCT AAT CTA ACG TAG GCT CAT C GCGG
Rickettsia spp.,	B-Rickspp	CCGCG CAC TCA CTC GGT ATT GCT GGA T CGCGG
Rickettsia spotted fever complex,	B-Rickspot	CTA GCC CCA ATT AGT CCG TTC G GCTAG
Rickettsia typhi complex,	B-Ricktyph	CG CCC GTC TGC CAC TAA TTA ACT A GGGCG
Leishmania spp.,	B-Leisch	CCCGG AAA AGG CGT TAC GGC CGG G
Toxoplasma gondii,	B-Toxgan	CCGGC TCC AGG GGA AGA GGC ATG CCGG
Yeast spp.,	B-Yeast	CCCG GGT ATT TAC ATT GTA CTC ATT CCA A CCGGG
Francisella tularensis,	B-Frantul	CCAT GCG ACA GCC CGA AAG CCA GCATGG
Lactobacillus spp. A,	B-lactspp-A	CCC GGA GTT CCA CTG TCC TCT TC CCGGG
Lactobacillus spp. B,	B-lactspp-B	CCCGG ATC AGT CTC TCA ACT CGG C CGGG
Burkholderia cepacia complex	B-Bcc	CCC GGTTGGCAACCCTCTGTTCC CCGGG
Staphylococcus aureus,	B-Staur-3	CCT G CAA GCT TCT CGT CCG TTC GC AGG
Burkholderia ambifaria	B-Burkamp	pendiente debido a la falta de secuencias 23S

Burkholderia antina	B-Burkant	pendiente debido a la falta de secuencias 23S
Burkholderia dolosa	B-Burkdol	pendiente debido a la falta de secuencias 23S
Burkholderia pyrrocinia	B-Burkpyrr	pendiente debido a la falta de secuencias 23S
Burkholderia stabilis	B-Burkstab	pendiente debido a la falta de secuencias 23S
Lactobacilli,		
Candida spp,	véaseYeast	
Lactobacilli,		
Staphylococcus corosus,		
Staphylococcus aureus,	B-Staur	CCCCT CAA GCT TCT CGT CCG TTC G AGGGG
Eu-bacteria,	B-Eub-338	CCGCGT GCT GCC TCC CGT AGG AGT CGCGG
Eu-bacteria,	B-Eub-338	CCGCGT GCT GCC TCC CGT AGG AGT CGCGG
Eu-bacteria,	B-Eub-338	CCGCGT GCT GCC TCC CGT AGG AGT CGCGG
Eu-bacteria,	B-Eub-338	CCGCGT GCT GCC TCC CGT AGG AGT CGCGG