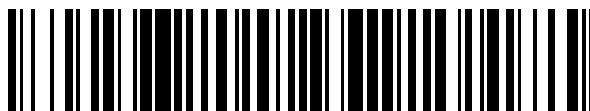


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 526 518**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2002** **E 10181536 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.11.2014** **EP 2322661**

54 Título: **Métodos y secuencias para la detección e identificación de cepas de Staphylococcus aureus MREJ tipo ix resistentes a meticilina**

30 Prioridad:

04.06.2001 CA 2348042

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.01.2015

73 Titular/es:

GENEOHM SCIENCES CANADA, INC. (100.0%)
2050, boulevard René Lévesque Ouest 4ème
étage
Sainte-Foy, QC G1V 2K8, CA

72 Inventor/es:

HULETSKY, ANN y
ROSSBACH, VALERY

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 526 518 T3

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

DESCRIPCIÓN

Métodos y secuencias para la detección e identificación de cepas de *Staphylococcus aureus* MREJ tipo ix resistentes a meticilina

Antecedentes de la invención

5 Importancia clínica del *Staphylococcus aureus*

La especie *Staphylococcus aureus* que contiene coagulasa está bien descrito que se trata de un patógeno oportunista humano. Las infecciones intrahospitalarias ocasionadas por *S. aureus* son una causa importante de morbilidad. Algunas de las infecciones más graves ocasionadas por *S. aureus* afectan a la piel e incluyen forúnculos o diviesos, celulitis, impétigo e infecciones de heridas posoperatorias en varios sitios. Algunas de las infecciones más graves producidas por *S. aureus* son bacteriemia, neumonía, osteomielitis, endocarditis aguda, miocarditis, pericarditis, cerebritis, meningitis, dermatitis exfoliativa neonatal y diferentes abscesos. La intoxicación alimentaria mediada por enterotoxinas estafilocócicas es otro síndrome importante relacionado con *S. aureus*. El síndrome del choque tóxico, una enfermedad adquirida fuera del hospital, también se ha atribuido a la infección o colonización por *S. aureus* toxigénico (Murray et al., Eds., 1999, *Manual of Clinical Microbiology*, 7.^a ed., ASM Press, Washington, D. C.).

En los años ochenta surgió en los hospitales el problema epidemiológico y clínico importante de *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM). Los SARM son resistentes a todos los β -lactámicos, entre ellos las penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y monobactámicos, que son los antibióticos utilizados con más frecuencia para curar las infecciones por *S. aureus*. Las infecciones por SARM sólo se pueden tratar con antibióticos más costosos y más tóxicos, que normalmente se utilizan como la última línea de defensa. Dado que los SARM consiguen extenderse con facilidad de un paciente a otro a través del personal, los hospitales de todo el mundo se enfrentan con el problema de controlar los SARM. Por lo tanto, es necesario desarrollar pruebas sencillas y rápidas de diagnóstico y de detección para detectar y/o identificar los SARM con el objetivo de reducir su diseminación y mejorar el diagnóstico y el tratamiento de los pacientes infectados.

La resistencia a la meticilina en *S. aureus* es única porque se debe a la adquisición del ADN de otros *Staphylococcus* sin coagulasa (o coagulasa-negativos, SCN) que codifica la proteína supernumeraria de unión a la penicilina resistente a los β -lactámicos (PBP, por su nombre en inglés), que se encarga de las funciones biosintéticas de las PBP normales cuando la célula está expuesta a los antibióticos β -lactámicos. *S. aureus* normalmente contiene cuatro PBP, de las cuales las PBP 1, 2 y 3 son esenciales. La PBP de baja afinidad en los SARM, denominada PBP 2a (o PBP2'), está codificada por el gen cromosómico *mecA* y funciona como una transpeptidasa resistente a los β -lactámicos. El gen *mecA* está ausente en los *S. aureus* sensibles a la meticilina, pero está ampliamente distribuido entre otras especies de estafilococos y está muy conservado (Ubukata et al., 1990, *Antimicrob. Agents Chemother.* 34: 170-172).

Cuando se determinó la secuencia nucleotídica de la región del ADN que rodea al gen *mecA* de la cepa N315 de *S. aureus* (aislada en Japón en 1982), Hiramatsu et al. hallaron que el gen *mecA* se alberga en un nuevo elemento genético, denominado casete cromosómico estafilocócico de *mec* (SCC*mec*, por su nombre en inglés), insertado en el cromosoma. SCC*mec* es un elemento genético móvil caracterizado por la presencia de repeticiones directas e inversas terminales, un conjunto de genes de recombinasas específicas de sitio (*ccrA* y *ccrB*) y el complejo génico *mecA* (Ito et al., 1999, *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 1449-1458; Katayama et al., 2000, *Antimicrob. Agents Chemother.* 44: 1549-1555). El elemento se escinde con precisión del cromosoma de la cepa N315 de *S. aureus* y se integra en un sitio cromosómico específico de *S. aureus* en la misma orientación mediante la función de un conjunto único de genes de recombinasas que comprenden *ccrA* y *ccrB*. Se encontraron dos nuevos elementos genéticos de SCC*mec* que compartían características estructurales similares cuando se clonó y secuenció la región del ADN que rodeaba el gen *mecA* de las cepas de SARM NCTC 10442 (la primera cepa de SARM aislada en Inglaterra en 1961) y 85/2082 (una cepa de Nueva Zelanda aislada en 1985). Los tres SCC*mec* se han denominado tipo I (NCTC 10442), tipo II (N315) y tipo III (85/2082) basándose en el año de aislamiento de las cepas (Ito et al., 2001, *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 1323-1336) (figura 1). Hiramatsu et al. han encontrado que los ADN de SCC*mec* están integrados en un sitio específico del cromosoma de *S. aureus* sensible a la meticilina (SASM). Caracterizaron las secuencias nucleotídicas de las regiones que flanqueaban los extremos izquierdo y derecho del ADN de SCC*mec* (a saber, *attL* y *attR*, respectivamente), así como las regiones alrededor del sitio de integración del ADN de SCC*mec* (a saber, *attB_{sc}*, que es el sitio de integración en el cromosoma bacteriano para el ADN de SCC*mec*). El sitio *attB_{sc}* se localizaba en el extremo 3' de un nuevo marco de lectura abierto (ORF, por su nombre en inglés), *orfX*. El gen *orfX* posiblemente codifica un polipéptido de 159 aminoácidos que comparte identidad con algunos polipéptidos identificados previamente, pero de función desconocida (Ito et al., 1999, *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 1449-1458). Recientemente, Hiramatsu et al. (Ma et al., 2002, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 1147-1152) y Oliveira et al., (Oliveira et al., 2001, *Microb. Drug Resist.* 7: 349-360) han descrito un nuevo tipo de SCC*mec* (tipo IV). Las secuencias del extremo derecho del nuevo SCC*mec* de tipo IV de las cepas de *S. aureus* CA05 y 8/6-3P publicadas por Hiramatsu et al. (Ma et al., 2002, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 1147-1152) eran casi idénticas a lo largo de 2000 nucleótidos al SCC*mec* de tipo II de la cepa de *S. aureus* N315 (Ito et al., 2001, *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 1323-1336). No se dispone de secuencias del extremo derecho del SCC*mec* de

tipo IV en las cepas de *S. aureus* HDE288 y PL72 descritas por Oliveira et al. (Oliveira et al., 2001, *Microb. Drug Resist.* 7: 349-360).

- Los métodos que se han usado antes para detectar e identificar los SARM (Saito et al., 1995, *J. Clin. Microbiol.* 33: 2498-2500; Ubukata et al., 1992, *J. Clin. Microbiol.* 30: 1728-1733; Murakami et al., 1991, *J. Clin. Microbiol.* 29: 2240-2244; Hiramatsu et al., 1992, *Microbiol. Immunol.* 36: 445-453), que se basan en la detección del gen *mecA* y de secuencias cromosómicas específicas de *S. aureus*, encontraron dificultades a la hora de discriminar entre los SARM y los estafilococos sin coagulasa (SCN) resistentes a la meticilina porque el gen *mecA* está ampliamente distribuido tanto en *S. aureus* como en los SCN (Suzuki et al., 1992, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 36: 429-434). Hiramatsu et al. (patente de los EE.UU. n.º 6 156 507) han descrito un ensayo de PCR específico de los SARM que utiliza cebadores que son capaces de hibridarse específicamente al extremo derecho de los 3 tipos de ADN de SCCmec en combinación con un cebador específico para el cromosoma de *S. aureus*, que corresponde a la secuencia nucleotídica a la derecha del sitio de integración de SCCmec. Dado que las secuencias nucleotídicas que rodean el sitio de integración de SCCmec en otras especies estafilocócicas (tales como *S. epidermidis* y *S. haemolyticus*) son diferentes a las encontradas en *S. aureus*, este ensayo de PCR era específico para la detectar los SARM. Este ensayo de PCR también suministró información para la tipificación de MREP (por su nombre en inglés, que significa «polimorfismo del extremo derecho de *mec*») del ADN de SCCmec (Ito et al., 2001, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 45: 1323-1336; Hiramatsu et al., 1996, *J. Infect. Chemother.* 2: 117-129). Este método de tipificación se aprovecha del polimorfismo del extremo derecho de los ADN de SCCmec adyacentes al sitio de integración entre los tres tipos de SCCmec. El tipo III tiene una secuencia nucleotídica única, mientras que el tipo II tiene una inserción de 102 nucleótidos en el extremo derecho del SCCmec de tipo I. El método de tipificación de MREP descrito por Hiramatsu et al., (Ito et al., 2001, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 45: 1323-1336; Hiramatsu et al., 1996, *J. Infect. Chemother.* 2: 117-129) define el SCCmec de tipo I como el MREP de tipo i, el SCCmec de tipo II como el MREP de tipo ii y el SCCmec de tipo III como el MREP de tipo iii. Se debe observar que el método de tipificación de MREP no consigue diferenciar entre el SCCmec de tipo II y el nuevo SCCmec de tipo IV descrito por Hiramatsu et al. (Ma et al., 2002, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 46: 1147-1152) porque estos dos tipos de SCCmec muestran la misma secuencia nucleotídica en el extremo derecho.

- El conjunto de cebadores que Hiramatsu et al. describen como la combinación de cebadores óptima (SEQ ID n.º 22, 24, 28 en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 que corresponde a las SEQ ID n.º 56, 58 y 60, respectivamente, en la presente invención) se ha utilizado en la presente invención para analizar por PCR una serie de cepas de SARM y SASM (figura 1 y tabla 1). De las 39 cepas de SARM analizadas, 20 no se amplificaron mediante el ensayo de PCR múltiplex de Hiramatsu et al. (tablas 2 y 3). De hecho, el método de Hiramatsu resultó satisfactorio a la hora de detectar menos del 50% de las 39 cepas de SARM analizadas.

- Este hallazgo demuestra que algunas cepas de SARM tienen secuencias en el extremo derecho de la unión del extremo derecho de SCCmec-cromosoma que son diferentes de las identificadas por Hiramatsu et al. Por consiguiente, el sistema desarrollado por Hiramatsu et al. no permite la detección de todos los SARM. La presente invención se refiere a la generación de datos de secuencia de la unión entre el extremo derecho de SCCmec-cromosoma que se necesitan para detectar más cepas de SARM para mejorar el ensayo de Hiramatsu et al. Es necesario desarrollar más cebadores y sondas ubicuos para detectar la mayor parte de las cepas de SARM en todo el mundo.

40 Compendio de la invención

La invención se refiere a las realizaciones tal y como se definen en las reivindicaciones.

La invención se refiere a un método para detectar la presencia de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM) de MREJ de tipos i, ii, iii y ix que comprenden:

- a) poner en contacto una muestra en la que hay que analizar la presencia de dichas cepas de SARM de MREJ de tipos i, ii, iii y ix, en donde dichas cepas de SARM incluyen un elemento de casete cromosómico estafilocócico de *mec* (SCCmec) que contiene un gen *mecA* insertado en el ADN cromosómico, con lo que se genera un polimorfismo de secuencia en la unión del extremo derecho (MREJ, por su nombre en inglés) de tipo i, ii, iii o ix que comprende secuencias del extremo derecho del elemento SCCmec y del ADN cromosómico que está unido a dicho extremo derecho del elemento SCCmec, con un primer cebador y un segundo cebador para cada uno de dichos MREJ de tipos i, ii, iii y ix,

- en donde cada dicho primer cebador se hibrida con dicho extremo derecho del elemento SCCmec de una secuencia de MREJ de tipo i, ii, iii o ix seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID n.º 1, 20 a 25, 41 y 199 y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo i, SEQ ID n.º 2, 17 a 19, 26, 40, 173 a 183, 185, 186 y 197 y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo ii, SEQ ID n.º 4 a 16, 104, 184 y 198 y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo iii y SEQ ID n.º 168 y el complemento de la misma, para la MREJ de tipo ix; y en donde cada dicho segundo cebador se hibrida con una secuencia cromosómica de *S. aureus* para generar específicamente uno o varios amplicones si tal cepa de SARM de MREJ de tipo i, ii, iii o ix está presente en dicha muestra; y

y b) detectar la presencia de dicho o dichos amplicones.

La invención se refiere a un kit para detectar la presencia de cepas de SARM de MREJ de tipos i, ii, iii y ix en una muestra que comprende:

- 5 a) un primer conjunto de oligonucleótidos que se hibridan con las secuencias del extremo derecho del elemento SCCmec de MREJ de tipos i, ii, iii y ix seleccionadas del grupo que consiste en: SEQ ID n.º 1, 20 a 25, 41 y 199, y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo i, SEQ ID n.º 2, 17 a 19, 26, 40, 173 a 183, 185, 186 y 197, y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo ii, SEQ ID n.º 4 a 16, 104, 184 y 198 y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo iii, y SEQ ID n.º 168 y el complemento de la misma, para la MREJ de tipo ix; y

- 10 b) un segundo oligonucleótido que se hibrida con una secuencia cromosómica de *S. aureus*;

en donde dichos oligonucleótidos de a) y b) permiten generar selectivamente uno o varios amplicones que comprende secuencias del extremo derecho del elemento SCCmec y del ADN cromosómico que se une a dicho extremo derecho de dichas cepas de SARM de MREJ de tipos i, ii, iii y ix.

- 15 Un objeto de la presente invención es dar a conocer un método específico, ubicuo y sensible que utiliza sondas y/o cebadores de amplificación para determinar la presencia y/o la cantidad de ácidos nucleicos de todas las cepas de SARM.

La ubicuidad de al menos el 50% entre las cepas que representan las cepas de SARM de los tipos IV a X es un objeto de esta invención.

- 20 Por consiguiente, se da a conocer un método para detectar la presencia de una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (SARM) en una muestra, en donde la cepa de SARM es resistente debido a la presencia de un inserto de SCCmec que contiene un gen *mecA*, en donde dicho SCCmec está insertado en ácidos nucleicos bacterianos, con lo que se genera una unión en el extremo derecho polimórfico (MREJ), en donde el método comprende la etapa de hibridar los ácidos nucleicos de la muestra con una serie de sondas y/o cebadores, caracterizado por que:

- 25 (i) los cebadores y/o sondas son específicos de las cepas de SARM y capaces de hibridarse con ácidos nucleicos de MREJ polimórficas, en donde la MREJ polimórfica comprende MREJ de tipos i a x; y

- (ii) los cebadores y/o sondas juntos son capaces de hibridarse con al menos cuatro tipos de MREJ seleccionadas de MREJ de los tipos i a x.

- 30 En una realización específica, los cebadores y/o sondas se escogen para que se hibriden en las condiciones de hibridación corrientes e incluso más específicamente, se colocan juntos en el mismo confinamiento físico.

- 35 Se ha desarrollado un método específico que utiliza cebadores y/o sondas que tienen al menos 10 nucleótidos de longitud y que son capaces de hibridarse con la MREJ de los tipos i a iii, definidas en cualquiera de las SEQ ID n.º: 1, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 41, 199; 2, 17, 18, 19, 26, 40, 173; 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 185, 186, 197; 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 104, 184, 198, y con una o más MREJ de los tipos iv a ix, que tiene las SEQ ID n.º 42, 43, 44, 45, 46, 51; 47, 48, 49, 50; 171; 165, 166; 167; 168. Para ser perfectamente ubicuos con todas las MREJ secuenciadas, los cebadores y/o sondas juntos pueden hibridarse con dichas SEQ ID n.º de MREJ de los tipos i a ix.

Los siguientes cebadores y/o sondas específicos que tienen las secuencias siguientes se han denominado:

para la detección de MREJ de tipo i

- 40 66, 100, 101, 105, 52, 53, 54, 55,
56, 57, 64, 71, 72, 73, 74, 75, 76,
70, 103, 130, 132, 158, 159, 59,
62, 126, 127, 128, 129, 131, 200,
201, 60, 61, 63

- 45 32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164
85, 86, 87, 88, 89

para la detección de MREJ de tipo ii

- 66, 97, 99, 100, 101, 106, 117,

- 118, 124, 125, 52, 53, 54, 55, 56, 57
64, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 70,
103, 130, 132, 158, 159
59, 62
- 5 126, 127
128, 129, 131, 200, 201
60, 61, 63
32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164
85, 86, 87, 88, 89
- 10 para la detección de MREJ de tipo iii
67, 98, 102, 107, 108
64, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 70,
103, 130, 132, 158, 159
58,
- 15 59, 62
126, 127
128, 129, 131, 200, 201
60, 61, 63
32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164
- 20 85, 86, 87, 88, 89
para la detección de MREJ de tipo iv
79, 77, 145, 147
64, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 70,
103, 130, 132, 158, 159
- 25 59, 62
126, 127
128, 129, 131, 200, 201
60, 61, 63
68
- 30 32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164
85, 86, 87, 88, 89
para la detección de MREJ de tipo v
65, 80, 146, 154, 155
64, 71, 72, 73, 74, 75, 76,
- 35 70, 103, 130, 132, 158, 159
59, 62
126, 127

128, 129, 131, 200, 201

60, 61, 63

32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164

85, 86, 87, 88, 89

5 para la detección de MREJ de tipo vi

202, 203, 204

64, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 70,

103, 130, 132, 158, 159

59, 62

10 126, 127

128, 129, 131, 200, 201

60, 61, 63

32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164

85, 86, 87, 88, 89

15 para la detección de MREJ de tipo vii

112, 113, 114, 119, 120, 121, 122

123, 150, 151, 153

64, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 70, 103,

130, 132, 158, 159

20 59, 62

126, 127

128, 129, 131, 200, 201

60, 61, 63

32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164

25 85, 86, 87, 88, 89

para la detección de MREJ de tipo viii

115, 116, 187, 188, 207, 208

64, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 70,

103, 130, 132, 158, 159

30 59, 62

126, 127

128, 129, 131, 200, 201

60, 61, 63

32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164

35 85, 86, 87, 88, 89

para la detección de MREJ de tipo ix

109, 148, 149, 205, 206

64, 71, 72, 73, 74, 75, 76

70, 103, 130, 132, 158, 159

59, 62

126, 127

5 128, 129, 131, 200, 201

60, 61, 63

32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164

85, 86, 87, 88, 89

Entre ellas, se utilizan las siguientes parejas de cebadores que tienen las secuencias siguientes:

10 para la detección de MREJ de tipo i

64/66, 64/100, 64/101; 59/52,

59/53, 59/54, 59/55, 59/56, 59/57,

60/52, 60/53, 60/54, 60/55, 60/56

60/57, 61/52, 61/53, 61/54, 61/55

15 61/56, 61/57, 62/52, 62/53, 62/54

62/55, 62/56, 62/57, 63/52, 63/53

63/54, 63/55, 63/56, 63/57

para la detección de MREJ de tipo ii

64/66, 64/97, 64/99, 64/100, 64/101

20 59/52, 59/53, 59/54, 59/55, 59/56,

59/57, 60/52, 60/53, 60/54, 60/55,

60/56, 60/57, 61/52, 61/53, 61/54,

61/55, 61/56, 61/57, 62/52, 62/53,

62/54, 62/55, 62/56, 62/57, 63/52

25 63/53, 63/54, 63/55, 63/56, 63/57

para la detección de MREJ de tipo iii

64/67, 64/98, 64/102; 59/58,

60/58, 61/58, 62/58, 63/58

64/79 para la detección de MREJ de tipo iv

30 64/80 para la detección de MREJ de tipo v

64/204 para la detección de MREJ de tipo vi

64/112, 64/113 para la detección de MREJ de tipo vii

64/115, 64/116 para la detección de MREJ de tipo viii

64/109 para la detección de MREJ de tipo ix

35 De igual modo, entre ellas, se utilizan las siguientes sondas que tienen las secuencias siguientes:

SEQ ID n.º 32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164 para la detección de MREJ de tipos i a ix.

En el método realizado más preferido, se usan juntos los siguientes cebadores y/o sondas que tienen las secuencias

nucleotídicas que vienen a continuación. Las combinaciones preferentes utilizan:

- i) SEQ ID n.º 64, 66, 84, 163, 164 para la detección de MREJ de tipo i
- ii) SEQ ID n.º 64, 66, 84, 163, 164 para la detección de MREJ de tipo ii
- iii) SEQ ID n.º 64, 67, 84, 163, 164 para la detección de MREJ de tipo iii
- 5 iv) SEQ ID n.º 64, 79, 84, 163, 164 para la detección de MREJ de tipo iv
- v) SEQ ID n.º 64, 80, 84, 163, 164 para la detección de MREJ de tipo v
- vi) SEQ ID n.º 64, 112, 84, 163, 164 para la detección de MREJ de tipo vii.

Todas estas sondas y cebadores pueden incluso utilizarse juntos en el mismo confinamiento físico.

- 10 Se da a conocer un método para tipar una MREJ de una cepa de SARM, que comprende las etapas de: reproducir el método anterior con cebadores y/o sondas específicos para un tipo de MREJ determinada, y detectar una sonda o cebador hibridado como una indicación de la presencia de una MREJ de tipo determinado.

Se da a conocer un ácido nucleico seleccionado de las SEQ ID n.º:

- i) SEQ ID n.º 42, 43, 44, 45, 46, 51 para la secuencia de MREJ de tipo iv;
- ii) SEQ ID n.º 47, 48, 49, 50 para la secuencia de MREJ de tipo v;
- 15 iii) SEQ ID n.º 171 para la secuencia de MREJ de tipo vi;
- iv) SEQ ID n.º 165, 166 para la secuencia de MREJ de tipo vii;
- v) SEQ ID n.º 167 para la secuencia de MREJ de tipo viii;
- vi) SEQ ID n.º 168 para la secuencia de MREJ de tipo ix.

- 20 También son objeto de esta invención los oligonucleótidos de al menos 10 nucleótidos de longitud que se hibridan con cualquiera de estos ácidos nucleicos y que se hibridan con una o varias MREJ de los tipos seleccionados entre iv a ix. Entre ellos, las parejas de cebadores (o sondas) que tienen las siguientes SEQ ID n.º:

para la detección de MREJ de tipo i

64/66, 64/100, 64/101; 59/52,

59/53, 59/54, 59/55, 59/56, 59/57,

- 25 60/52, 60/53, 60/54, 60/55, 60/56

60/57, 61/52, 61/53, 61/54, 61/55

61/56, 61/57, 62/52, 62/53, 62/54

62/55, 62/56, 62/57, 63/52, 63/53

63/54, 63/55, 63/56, 63/57

- 30 para la detección de MREJ de tipo ii

64/66, 64/97, 64/99, 64/100, 64/101

59/52, 59/53, 59/54, 59/55, 59/56,

59/57, 60/52, 60/53, 60/54, 60/55,

60/56, 60/57, 61/52, 61/53, 61/54,

- 35 61/55, 61/56, 61/57, 62/52, 62/53,

62/54, 62/55, 62/56, 62/57, 63/52

63/53, 63/54, 63/55, 63/56, 63/57

para la detección de MREJ de tipo iii

64/67, 64/98, 64/102; 59/58,

60/58, 61/58, 62/58, 63/58

64/79 para la detección de MREJ de tipo iv

64/80 para la detección de MREJ de tipo v

5 64/204 para la detección de MREJ de tipo vi

64/112, 64/113 para la detección de MREJ de tipo vii

64/115, 64/116 para la detección de MREJ de tipo viii

64/109 para la detección de MREJ de tipo ix,

10 Además, también se encuentran dentro del alcance de esta invención las sondas internas que tienen las secuencias nucleotídicas definidas en cualquiera de las SEQ ID n.º 32, 83, 84, 160, 161, 163, 164. También son otros objetos de esta invención las composiciones de interés que comprenden los cebadores y/o sondas que se renaturalizan o se hibridan con una o varias MREJ de los tipos seleccionados de iv a ix, así como con los ácidos nucleicos de más arriba, que comprenden o no cebadores y/o sondas, que se hibridan con una o varias MREJ de los tipos seleccionados de i a iii. Las composiciones preferidas comprenderían los cebadores que tienen las secuencias

15 nucleotídicas definidas en las SEQ ID n.º:

para la detección de MREJ de tipo i

64/66, 64/100, 64/101; 59/52,

59/53, 59/54, 59/55, 59/56, 59/57,

60/52, 60/53, 60/54, 60/55, 60/56

20 60/57, 61/52, 61/53, 61/54, 61/55

61/56, 61/57, 62/52, 62/53, 62/54

62/55, 62/56, 62/57, 63/52, 63/53

63/54, 63/55, 63/56, 63/57

para la detección de MREJ de tipo ii

25 64/66, 64/97, 64/99, 64/100, 64/101

59/52, 59/53, 59/54, 59/55, 59/56,

59/57, 60/52, 60/53, 60/54, 60/55,

60/56, 60/57, 61/52, 61/53, 61/54,

61/55, 61/56, 61/57, 62/52, 62/53,

30 62/54, 62/55, 62/56, 62/57, 63/52

63/53, 63/54, 63/55, 63/56, 63/57

para la detección de MREJ de tipo iii

64/67, 64/98, 64/102; 59/58,

60/58, 61/58, 62/58, 63/58

35 64/79 para la detección de MREJ de tipo iv

64/80 para la detección de MREJ de tipo v

64/204 para la detección de MREJ de tipo vi

64/112, 64/113 para la detección de MREJ de tipo vii

64/115, 64/116 para la detección de MREJ de tipo viii

64/109

para la detección de MREJ de tipo ix,

o sondas, cuyas SEQ ID n.º son: 32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164 o ambas.

Descripción detallada de la invención

En esta memoria se da a conocer en particular un método en donde cada uno de los ácidos nucleicos de SARM o una variante o parte de los mismos comprenden una región diana específica que se puede hibridar con dichos cebadores o sondas desarrollados para que sean ubicuos;

en donde cada uno de dichos ácidos nucleicos o una variante o parte de los mismos comprende una región diana específica que se puede hibridar con dichos cebadores o sondas;

en donde dicho método comprende las etapas de poner en contacto dicha muestra con dichas sondas o cebadores y detectar la presencia y/o cantidad de las sondas hibridadas o de los productos amplificados como una indicación de la presencia y/o cantidad de SARM.

En el método, las secuencias de fragmentos de ADN de la unión del extremo derecho de *SCCmec*-cromosoma, en adelante denominada MREJ que significa «unión en el extremo derecho de *mec*» que incluye secuencias procedentes del extremo derecho de *SCCmec* y del ADN cromosómico a la derecha del sitio de integración de *SCCmec*, se utilizan como secuencias originales a partir de las cuales se obtienen los cebadores y/o las sondas. Las secuencias de MREJ incluyen nuestras secuencias en propiedad así como las secuencias obtenidas de las bases de datos públicas y de la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507, y se seleccionaron por su capacidad para detectar de manera sensible, específica, ubicua y rápida los ácidos nucleicos diana de los SARM.

Nuestros fragmentos de ADN y oligonucleótidos (cebadores y sondas) en propiedad también son otro objeto de esta invención, tal y como se define en las reivindicaciones.

La composición de las sustancias tales como los kits de diagnóstico que comprenden los cebadores para amplificación o las sondas para detección de los SARM también son objetos de la presente invención, tal y como se define en las reivindicaciones.

En los métodos y los kits de más arriba, las sondas y los cebadores no se limitan a ácidos nucleicos y pueden incluir, pero sin limitarse a ellos, análogos de nucleótidos. Los reactantes para diagnóstico formados por las sondas y los cebadores pueden estar presentes en cualquier forma adecuada (unidos a un soporte sólido, líquido, liofilizado, etc).

En los métodos y kits de más arriba, las reacciones de amplificación pueden incluir, pero sin limitarse a ellas: a) reacción en cadena de la polimerasa (PCR), b) reacción en cadena de la ligasa (LCR), c) amplificación de ácidos nucleicos basada en la secuencia (NASBA, por su nombre en inglés), d) amplificación de secuencias automantenida (3SR, por su nombre en inglés), e) amplificación por desplazamiento de cadena (SDA, por su nombre en inglés), f) amplificación de señal de ADN ramificado (bDNA, por su nombre en inglés), g) amplificación mediada por la transcripción (TMA, por su nombre en inglés), h) tecnología de ciclación de sondas (CPT, por su nombre en inglés), i) PCR anidada, j) PCR múltiplex, k) amplificación en fase sólida, l) amplificación de señal dependiente de nucleasa (NDSA, por su nombre en inglés), m) tecnología de amplificación con círculo rodante (RCA, por su nombre en inglés), n) amplificación por desplazamiento de hebras ancladas, o) amplificación con círculo rodante (inmovilizado) en fase sólida.

En los métodos y los kits de más arriba, la detección de los ácidos nucleicos de los genes diana puede incluir tecnologías en tiempo real o postamplificación. Estas tecnologías de detección pueden incluir, pero sin limitarse a ellos, métodos basados en la transferencia de la energía de resonancia mediante fluorescencia (FRET, por su nombre en inglés) tales como la hibridación adyacente de sondas (entre ellos, métodos sonda-sonda y sonda-cebador), sonda *TaqMan*, sonda fluorescible, sonda *Scorpion*, sonda de nanopartículas y sonda *Amplifluor*. Otros métodos de detección incluyen la detección de los ácidos nucleicos del gen diana mediante métodos inmunológicos, métodos de hibridación en fase sólida sobre filtros, chips o cualquier otro soporte sólido. En estos sistemas, la hibridación se puede seguir mediante fluorescencia, quimioluminiscencia, potenciometría, espectrometría de masas, resonancia de plasmones, polarimetría, colorimetría, citometría de flujo o escanometría. La secuenciación de nucleótidos, que incluye la secuenciación mediante la terminación con didesoxinucleótidos o la secuenciación por hibridación (p. ej., secuenciación con un chip de ADN) representa otro método para detectar y caracterizar los ácidos nucleicos de los genes diana.

En una realización preferente se utiliza un protocolo de PCR para la amplificación del ácido nucleico.

Un método para detectar una gran variedad de posibles cepas de SARM que tienen diferentes tipos de MREJ se puede llevar a cabo en reacciones y confinamientos físicos independientes, un tipo cada vez. Otra alternativa es que se podría llevar a cabo simultáneamente para diferentes tipos en confinamientos físicos independientes, o en los mismos confinamientos físicos. En la última situación posible se podría llevar a cabo una reacción de PCR múltiplex que requeriría que los oligonucleótidos sean capaces de hibridarse con una región diana en las condiciones habituales. Dado que muchas sondas o cebadores son específicas para un determinado tipo de MREJ, la tipificación

de una cepa de SARM es una realización posible. Cuando se utiliza una mezcla de oligonucleótidos que se hibriden al mismo tiempo con más de un tipo en un único confinamiento físico o contenedor, se utilizarán diferentes marcaciones para diferenciar un tipo de otro.

Perseguimos desarrollar una prueba o kit que use ADN para detectar e identificar los SARM. Aunque las secuencias de los genes *orfX* y algunos fragmentos del ADN de SCCmec están disponibles en las bases de datos públicas y se han utilizado para desarrollar pruebas de ADN para detectar los SARM, los nuevos datos de secuencias que permiten mejorar la detección e identificación de los SARM que son objeto de la presente invención nunca se habían caracterizado anteriormente, o se conocían pero no se había demostrado que estuvieran localizadas en el extremo derecho del SCCmec adyacente al sitio de integración (tabla 4). Estas nuevas secuencias no se podrían haber predicho ni detectado mediante el ensayo de PCR específico de SARM desarrollado por Hiramatsu et al. (patente de los EE.UU. n.º 6 156 507). Estas secuencias permitirán mejorar las pruebas actuales que usan ADN para el diagnóstico de los SARM porque permiten diseñar cebadores y sondas ubicuos para detectar e identificar más cepas de SARM, entre ellas, todos los principales clones epidémicos del planeta.

Los kits, cebadores y sondas de diagnóstico mencionados más arriba se pueden utilizar para detectar y/o identificar los SARM, incluso si dichos kits, cebadores y sondas de diagnóstico se utilizan para aplicaciones *in vitro* o *in situ*. Dichas muestras pueden incluir, pero sin limitarse a ellas: una muestra clínica, una muestra ambiental, un cultivo microbiano, una colonia microbiana, un tejido y una línea celular.

Dichos kits, cebadores y sondas de diagnóstico se puedan utilizar solos o en combinación con cualquier otra prueba adecuada para detectar y/o identificar microorganismos, entre ellas, pero sin limitarse a ellas: un ensayo basado en la detección de ácidos nucleicos, un inmunoensayo, un ensayo enzimático, un ensayo bioquímico, un ensayo lisotípico, un ensayo serológico, un medio de cultivo diferencial, un medio de cultivo de enriquecimiento, un medio de cultivo selectivo, un medio de ensayo específico, un medio de cultivo de identificación, un medio de cultivo de recuento, una tinción celular, un cultivo en líneas celulares específicas y un ensayo de infectividad con animales.

En los métodos y los kits que se describen más adelante en la presente memoria, las sondas oligonucleotídicas y los cebadores para amplificación se han deducido de secuencias más largas (a saber, fragmentos de ADN de al menos 100 pares de bases). Todas las secuencias de ADN se han obtenido bien de nuestras secuencias en propiedad o de bases de datos públicas (tablas 5, 6, 7, 8, y 9).

Para el experto en la técnica está claro que también se pueden deducir secuencias oligonucleotídicas diferentes a las descritas, y que son apropiadas para detectar y/o identificar los SARM a partir de los fragmentos de las secuencias en propiedad o de determinadas secuencias de las bases de datos públicas. Por ejemplo, los cebadores o sondas oligonucleotídicas pueden ser más cortos, pero de una longitud de al menos 10 nucleótidos o más que los elegidos; también se pueden seleccionar de cualquier parte de los fragmentos de ADN en propiedad o de las secuencias seleccionadas de las bases de datos públicas; también pueden ser variantes del mismo oligonucleótido. Si el ADN diana o una variante del mismo se hibrida a un oligonucleótido determinado, o si el ADN diana o una variante del mismo se puede amplificar mediante una pareja de cebadores oligonucleotídicos para PCR, lo contrario también es cierto; un ADN diana determinado puede hibridarse con una sonda oligonucleotídica variante o ser amplificado por una variante de cebador oligonucleotídico para PCR. Otra alternativa es que los oligonucleótidos se pueden diseñar a partir de dichas secuencias de fragmentos de ADN para utilizarlos en métodos de amplificación diferentes a la PCR. Por consiguiente, el núcleo de esta invención es la detección y/o identificación de los SARM dirigida selectivamente a las secuencias de ADN genómico que se utilizan como fuente de cebadores para amplificación y/o sondas oligonucleotídicas, específicos y ubicuos. Aunque la selección y la evaluación de los oligonucleótidos adecuados para los propósitos diagnósticos requieren mucho esfuerzo, es realmente posible que el experto en la técnica deduzca, a partir de los fragmentos de ADN seleccionados, oligonucleótidos diferentes a los recogidos en las tablas 5, 6, 7, 8 y 9 que sean adecuados para los propósitos diagnósticos. Cuando un fragmento en propiedad o una secuencia de las bases de datos públicas se selecciona por su especificidad y ubicuidad, incrementa la probabilidad de que los subconjuntos de los mismos sean también específicos y ubicuos.

Los fragmentos de ADN en propiedad se han obtenido como un repertorio de secuencias creadas por la amplificación de los ácidos nucleicos de SARM con nuevos cebadores. Estos cebadores y el repertorio de ácidos nucleicos, así como el repertorio de secuencias nucleotídicas, son otros objetos de esta invención (tablas 4, 5, 6, 7, 8 y 9).

Por lo tanto, las reivindicaciones están de acuerdo con la presente invención.

SECUENCIAS PARA DETECTAR E IDENTIFICAR LOS SARM

En la descripción de esta invención, la terminología «ácidos nucleicos» y «secuencias» podrían utilizarse indistintamente. Sin embargo, los «ácidos nucleicos» son entidades químicas, mientras que las «secuencias» son los trozos de información codificados por estos «ácidos nucleicos». Los ácidos nucleicos y las secuencias son fuentes de información igual de valiosas en el ámbito de esta invención.

Diseño y síntesis de cebadores y sondas oligonucleotídicos

Como parte de las reglas de diseño, a todos los oligonucleótidos (sondas para la hibridación y cebadores para la amplificación del ADN por PCR) se les evaluó su idoneidad para la hibridación o amplificación por PCR mediante análisis informático con programas estándares (a saber, los programas del paquete GCG de Wisconsin, el programa de análisis de cebadores OligoTM 6 y MFOLD 3.0). También se evaluó la posible idoneidad de las parejas de cebadores para PCR antes de sintetizarlos con la verificación de la ausencia de rasgos indeseados tales como tramos largos de un nucleótido y una proporción elevada de restos G o C en el extremo 3' (Persing et al., 1993, *Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications*, American Society for Microbiology, Washington, D.C.). Se sintetizaron cebadores oligonucleotídicos para amplificación con un sintetizador automático de ADN (Applied Biosystems). Se evaluaron los diseños de las sondas fluorescentes mediante los criterios establecidos por Kramer et al. (<http://www.molecular-beacons.org>).

La secuencia oligonucleotídica de los cebadores o de las sondas puede proceder de cualquier hebra del ADN bicatenario. Los cebadores o las sondas pueden consistir en las bases A, G, C o T o análogos, y pueden estar degenerados en una o más posiciones de nucleótidos escogidas (Nichols et al., 1994, *Nature*, 369: 492-493). Los cebadores y las sondas también pueden consistir en análogos de nucleótidos tal como los ácidos nucleicos bloqueados (LNA, por su nombre en inglés) (Koskin et al., 1998, *Tetrahedron* 54: 3607-3630), y los ácidos peptidonucleicos (PNA, por su nombre en inglés) (Egholm et al., 1993, *Nature*, 365: 566-568). Los cebadores o las sondas pueden tener cualquier longitud adecuada y se pueden seleccionar en cualquier parte dentro de las secuencias de ADN de los fragmentos en propiedad, o de las secuencias seleccionadas de las bases de datos que son adecuadas para la detección de los SARM.

Las variantes de un determinado gen microbiano de diana se producen de forma natural y se atribuyen a la variación de la secuencia de ese gen durante la evolución (Watson et al., 1987, *Molecular Biology of the Gene*, 4.^a ed., The Benjamin/Cummings Publishing Company, Menlo Park, CA; Lewin, 1989, *Genes IV*, John Wiley & Sons, Nueva York, NY). Por ejemplo, diferentes cepas de las mismas especies microbianas pueden tener una o mas variaciones de uno sólo o varios nucleótidos en el sitio de hibridación del oligonucleótido. La persona experta en la técnica es muy consciente de la existencia de ácidos nucleicos y/o secuencias variantes para un gen específico, y que la frecuencia de las variaciones de la secuencia depende de la presión selectiva sobre un producto génico determinado durante la evolución. La detección de una secuencia variante para una región entre dos cebadores para PCR se puede demostrar mediante la secuenciación del producto de amplificación. Para demostrar la presencia de variaciones de secuencia en el sitio de hibridación del cebador, se tiene que amplificar una diana de ADN más larga con cebadores para PCR localizados fuera de ese sitio de hibridación. La secuenciación de este fragmento más largo permitirá detectar la variación de la secuencia en este sitio de hibridación del cebador. Se puede aplicar una estrategia parecida para mostrar las variaciones en el sitio de hibridación de la sonda. En la medida en que la divergencia de los ácidos nucleicos y/o las secuencias de diana, o una parte de los mismos, no afecte significativamente a la sensibilidad y/o especificidad y/o ubicuidad de los cebadores o de las sondas para amplificación, el ADN microbiano variante está dentro del alcance de esta invención. También se pueden utilizar variantes de los cebadores o sondas seleccionados para amplificar o hibridarse a un ADN diana variante.

Amplificación del ADN

Para la amplificación del ADN mediante el método de PCR ampliamente utilizado, se obtuvieron parejas de cebadores de nuestros fragmentos de ADN en propiedad o de las secuencias de las bases de datos públicas.

Durante la amplificación del ADN por PCR se utilizan dos cebadores oligonucleotídicos que se fijan cada uno a una hebra del ADN diana del genoma microbiano desnaturalizado con calor para amplificar exponencialmente *in vitro* el ADN diana mediante ciclos térmicos sucesivos que permiten la desnaturalización del ADN, la hibridación de los cebadores y la síntesis de nuevas dianas en cada ciclo (Persing et al., 1993, *Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications*, American Society for Microbiology, Washington, D.C.).

Brevemente, los protocolos de la PCR en un termociclador estándar (PTC-200 de MJ Research Inc., Watertown, MA) fueron los siguientes: en 20 µl de mezcla de reacción de PCR se amplificaron suspensiones bacterianas estandarizadas y tratadas o ADN genómico preparado de cultivos bacterianos o especímenes clínicos. Cada reacción de PCR contenía KCl a 50 mM, Tris-HCl a 10 mM (pH 9,0), MgCl₂ a 2,5 mM, 0,4 µM de cada cebador, 200 µM de cada uno de los cuatro dNTP (Pharmacia Biotech), seroalbúmina bovina (SAB) a 3,3 µg/µl (Sigma-Aldrich Canada Ltd, Oakville, Ontario, Canada) y 0,5 unidades de la ADN polimerasa *Taq* (Promega Corp., Madison, WI) combinada con el anticuerpo *TaqStart*TM (BD Biosciences, Palo Alto, CA). El anticuerpo *TaqStart*TM, que es un anticuerpo monoclonal neutralizante de la ADN polimerasa *Taq*, se añadió a todas las reacciones de PCR para realzar la especificidad y la sensibilidad de las amplificaciones (Kellogg et al., *BioTechniques* 16: 1134-1137). El tratamiento de los cultivos bacterianos o de los especímenes clínicos consiste en un protocolo rápido para lisar las células microbianas y eliminar o neutralizar los inhibidores de la PCR (descrito en la solicitud de los EE.UU. en tramitación con la presente n.º 60/306 163). Para la amplificación del ADN genómico purificado, las muestras se añadieron directamente a la mezcla de amplificación para PCR. Se utilizó un control interno, obtenido de secuencias que no se encuentran en las secuencias de MREJ diana ni en el genoma humano, para verificar la eficacia de la PCR y no había ninguna inhibición significativa de la PCR.

El número de ciclos realizados para los ensayos de PCR varía de acuerdo con el nivel de sensibilidad requerido. Por ejemplo, el nivel de sensibilidad requerido para la detección microbiana directa en un espécimen clínico es más alto que para la detección en un cultivo microbiano. Por consiguiente, para la detección directa en especímenes clínicos se requerirán probablemente ensayos de PCR más sensibles que tengan más ciclos térmicos.

- 5 El experto en la técnica de amplificación de ácidos nucleicos conoce la existencia de otros procedimientos de amplificación rápidos tal como la reacción de la cadena de la ligasa (LCR), PCR tras la transcriptasa inversa (RT-PCR), la amplificación mediada por la transcripción (TMA), la replicación de secuencias automantenida (3SR), la amplificación basada en la secuencia de ácido nucleico (NASBA), la amplificación por desplazamiento de cadena (SDA), ADN ramificado (bdDNA), la tecnología de ciclación de sondas (CPT), la amplificación en fase sólida (SPA), la
- 10 tecnología de amplificación con círculo rodante (RCA), la RCA en fase sólida, la SDA anclada y la amplificación de la señal dependiente de nucleasa (NDSA) (Lee et al., 1997, *Nucleic Acid Amplification Technologies: Application to Disease Diagnosis*, Eaton Publishing, Boston, MA; Persing et al., 1993, *Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications*, American Society for Microbiology, Washington, D.C.; Westin et al., 2000, *Nat. Biotechnol.* 18: 199-204). El alcance de esta invención no se limita al uso de la amplificación por PCR, sino que más bien incluye el uso
- 15 de cualquier método de amplificación de ácidos nucleicos o cualquier otro procedimiento que se puede utilizar para incrementar la sensibilidad y/o la rapidez de los ensayos diagnósticos que usan ácidos nucleicos. El alcance de la presente invención también cubre el uso de cualquier amplificación de ácidos nucleicos y la tecnología de detección, que incluye las tecnologías de detección en tiempo real o postamplificación, una tecnología de amplificación combinada con la detección, una tecnología de matrices o chips de ácidos nucleicos para hibridación, un chip para amplificación, o combinación de tecnologías de amplificación e hibridación de chips. La detección y la identificación mediante cualquier método de secuenciación de nucleótidos también está bajo el alcance de la presente invención.
- 20

También está bajo el alcance de esta invención cualquier oligonucleótido procedente de las secuencias de ADN de MREJ de *S. aureus* y utilizable en cualquier tecnología de hibridación y/o amplificación de ácidos nucleicos.

Evaluación del método de detección de SARM desarrollado por Hiramatsu et al.

- 25 De acuerdo con Hiramatsu et al., (Ito et al., 1999, *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 1449-1458; Katayama et al., 2000, *Antimicrob. Agents Chemother.* 44: 1549-1555; Ito et al., 2001, *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 1323-1336; Ma et al., 2002, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 1147-1152), entre las cepas de SARM se encuentran cuatro tipos de ADN de SCCmec. Hallaron que los ADN de SCCmec están integrados en un sitio específico del cromosoma de los SARM (denominado *orfX*). Desarrollaron un ensayo de PCR múltiplex específico para SARM que incluye
- 30 cebadores que pueden hibridarse en el extremo derecho de los SCCmec de tipos I, II y III (SEQ ID n.º 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 que corresponden a las SEQ ID n.º 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, respectivamente, en la presente invención) así como cebadores específicos del cromosoma de *S. aureus* a la derecha del sitio de integración de SCCmec (SEQ ID n.º 25, 28, 27, 26, 29 en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 que corresponden a las SEQ ID n.º 59, 60, 61, 62, 63, respectivamente, en la presente invención) (tabla 1 y figura 1).
- 35 El conjunto de cebadores que Hiramatsu et al. han descrito como la combinación de cebadores óptima (SEQ ID n.º 22, 24 y 28 de la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 corresponden a las SEQ ID n.º 56, 58 y 60 en la presente invención) se utilizó en la presente invención para analizar por PCR una serie de cepas de SARM, SARM, SCN resistente a la meticilina (SCNRM) y SCN sensible a la meticilina (SCNSM) (tabla 2). Para comprobar la ubicuidad, la especificidad y la sensibilidad de estos cebadores se utilizó un ensayo de PCR que se llevó a cabo en un
- 40 termociclador estándar (PTC-200 de MJ Research Inc.) mediante el protocolo siguiente: 1 µl de una suspensión bacteriana estandarizada tratada o de una preparación de ADN genómico purificada de bacterias se amplificaron en una mezcla de reacción de PCR de 20 µl. Cada reacción de PCR contenía KCl a 50 mM, Tris-HCl a 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%, MgCl₂ a 2,5 mM, 0,4 µM de cada uno de los cebadores específicos del cromosoma de *S. aureus* y del SCCmec (SEQ ID n.º 22, 24 y 28 de la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 que corresponden a las
- 45 SEQ ID n.º 56, 58 y 60 de la presente invención), 200 µM de cada uno de los cuatro dNTP (Pharmacia Biotech), SAB a 3,3 µg/µl (Sigma) y 0,5 U de polimerasa *Taq* (Promega) unida al anticuerpo *TaqStart*TM (BD Biosciences).

- A continuación, las reacciones de PCR se sometieron a un termociclado de 3 min a 94 °C seguido de 40 ciclos de 60 s a 95 °C para la etapa de desnaturalización, 60 s a 55 °C para la etapa de hibridación y 60 s a 72 °C para la etapa de extensión, y después viene una extensión final de 7 minutos a 72 °C en un termociclador estándar (PTC-200 de
- 50 MJ Research Inc.). La detección de los productos de PCR se realizó mediante electroforesis en geles de agarosa (2%) que contenía 0,25 µg/ml de bromuro de etidio. De las 39 cepas de SARM analizadas, 20 no se amplificaron con el ensayo de PCR desarrollado por Hiramatsu et al. (ejemplo 1, tablas 2 y 3).

- Con vistas a establecer un ensayo diagnóstico rápido para los SARM, los presentes inventores desarrollaron nuevos conjuntos de cebadores específicos del extremo derecho de SCCmec de los tipos I y II (SEQ ID n.º 66, 100 y 101)
- 55 (Anexo 1), SCCmec de tipo II (SEQ ID n.º 97 y 99), SCCmec de tipo III (SEQ ID n.º 67, 98 y 102) y en el cromosoma de *S. aureus* a la derecha del sitio de integración de SCCmec (SEQ ID n.º 64, 70, 71, 72, 73, 74, 75 y 76) (tabla 5). Estos cebadores, que amplifican amplicones cortos (de 171 a 278 pb), son compatibles para el uso en ensayos de PCR rápidos (tabla 7). El diseño de estos cebadores se basó en el análisis de varios alineamientos de secuencias de las secuencias de *orfX* y SCCmec descrito por Hiramatsu et al. (patente de los EE.UU. n.º 6 156 507) o
- 60 disponibles en GenBank (tabla 10, anexo 1). Estos diferentes conjuntos de cebadores se utilizaron para analizar por PCR una serie de cepas de SARM, SARM, SCNRM y SCNSM. Se desarrollaron varios cebadores de amplificación

para detectar los tres tipos de *SCCmec* (SEQ ID n.º 97 y 99 para el *SCCmec* de tipo II, SEQ ID n.º 66, 100 y 101 para el *SCCmec* de los tipos I y II y SEQ ID n.º 67, 98 y 102 para el *SCCmec* de tipo III). Los cebadores se eligieron de acuerdo con su especificidad por las cepas de SARM, su sensibilidad analítica en la PCR y la longitud del producto de la PCR. Se eligió un conjunto de dos cebadores para la región del extremo derecho de *SCCmec* (SEQ ID n.º 66 específica de *SCCmec* de los tipos I y II; SEQ ID n.º 67 específica de *SCCmec* de tipo III). De los 8 cebadores diferentes diseñados para que se hibriden sobre el cromosoma de *S. aureus* a la derecha del sitio de integración de *SCCmec* (que se hibridarán selectivamente al gen *orfX*) (SEQ ID n.º 64, 70, 71, 72, 73, 74, 75 y 76), se encontró que sólo una (SEQ ID n.º 64) era específica de los SARM basándose en el análisis de diferentes cepas de SARM, SASM, SCNRM y SCNSM (tabla 12). Por consiguiente, se desarrolló un ensayo de PCR que utilizaba el conjunto óptimo de cebadores (SEQ ID n.º 64, 66 y 67) que podría amplificar específicamente las cepas de SARM que contenían *SCCmec* de los tipos I, II y III (figura 2, anexo 1). Aunque el ensayo de PCR desarrollado con este nuevo conjunto de cebadores era muy sensible (a saber, permitió la detección de 2 a 5 copias del genoma para los tres tipos de *SCCmec*) (tabla 11), presentó las mismas limitaciones (a saber, falta de ubicuidad) que el ensayo desarrollado por Hiramatsu et al. Las 20 cepas de SARM que no se amplificaron con los cebadores de Hiramatsu et al. tampoco se detectaron mediante el conjunto de cebadores que comprenden las SEQ ID n.º 64, 66 y 67 (tablas 3 y 12). Claramente, se necesitan herramientas de diagnóstico para conseguir una ubicuidad de al menos el 50% entre las cepas analizadas.

Con vistas a establecer un método de identificación y detección de los SARM más ubicuo (a saber, capacidad para detectar todas o la mayoría de las cepas de SARM), determinamos la secuencia de la MREJ presente en estas 20 cepas de SARM que no se amplificaron. Esta investigación ha conducido al descubrimiento e identificación de siete secuencias diana de MREJ nuevas y diferentes que se pueden utilizar para los propósitos diagnósticos. Estas siete nuevas secuencias de MREJ no se pudieron predecir ni detectar con el sistema descrito en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 por Hiramatsu et al. A saber, la presente invención representa un método mejorado para detectar e identificar los SARM porque proporciona un método de diagnóstico más ubicuo que permite detectar los principales clones de SARM epidémicos en el mundo.

Secuenciación de secuencias nucleotídicas de MREJ a partir de cepas de SARM no amplificables con los cebadores específicos de *SCCmec* de los tipos I, II y III

Dado que el ADN de 20 cepas de SARM no se amplificó con el conjunto de cebadores desarrollado por Hiramatsu et al. (SEQ ID n.º 22, 24 y 28 de la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 que corresponden a las SEQ ID n.º 56, 58 y 60 de la presente invención) (tablas 2 y 3) ni con el conjunto de cebadores desarrollado en la presente invención basándose en las secuencias de los mismos tres tipos de *SCCmec* (I, II y III) (SEQ ID n.º 64, 66 y 67) (tabla 12), se determinó la secuencia nucleotídica de la MREJ para 16 de estas 20 cepas de SARM.

La transposasa de IS431 se relaciona a menudo con la inserción de los genes de resistencia dentro del locus *mec*. El gen que codifica esta transposasa se ha descrito que con frecuencia está en una o varias copias dentro del segmento derecho de *SCCmec* (Oliveira et al., 2000, *Antimicrob. Agents Chemother.* 44: 1906-1910; Ito et al., 2001, *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 1323-36). Por lo tanto, en un primer intento de secuenciar las nuevas MREJ de 16 de las 20 cepas de SARM descritas en la tabla 3, se diseñó un cebador en la secuencia del gen que codifica la transposasa de IS431 (SEQ ID n.º 68) y se combinó con un cebador específico de *orfX* a la derecha del sitio de integración de *SCCmec* (SEQ ID n.º 70) (tablas 5 y 8). La estrategia utilizada para seleccionar estos cebadores se ilustra en la figura 3.

Los fragmentos de MREJ a secuenciar se amplificaron con el protocolo de amplificación siguiente: 1 µl de la suspensión celular tratada (o de una preparación de ADN genómico purificado) se transfirió directamente a 4 tubos que contenían 39 µl de una mezcla de reacción de PCR. Cada reacción de PCR contenía KCl a 50 mM, Tris-HCl a 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%, MgCl₂ a 2,5 mM, 1 µM de cada uno de los 2 cebadores (SEQ ID n.º 68 y 70), 200 µM de cada uno de los cuatro dNTP, 3,3 µg/µl de SAB (Sigma-Aldrich Canada Ltd) y 0,5 U de la ADN polimerasa *Taq* (Promega) unida al anticuerpo *TaqStart*TM (BD Biosciences). Las reacciones de PCR se ciclaron en un termociclador estándar (PTC-200 de MJ Research Inc.) como sigue: 3 min a 94 °C seguido de 40 ciclos de 5 s a 95 °C para la etapa de desnaturalización, 30 s a 55 °C para la etapa de hibridación y 2 min a 72 °C para la etapa de extensión.

Posteriormente se agruparon las cuatro mezclas amplificadas por PCR y se resolvieron 10 µl de la mezcla por electroforesis en un gel de agarosa al 1,2% que contenía 0,25 µg/ml de bromuro de etidio. A continuación se visualizaron los amplicones con un Alpha-Imager (Alpha Innotech Corporation, San Leandro, CA) al exponerlo a la luz UV a 254 nm. Se estimó el tamaño de los amplicones por comparación con una escalera de masas moleculares de 1 kb (Life Technologies, Burlington, Ontario, Canadá). Lo que quedó de mezcla amplificada por PCR (150 µl en total) también se resolvió mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1,2%. Luego se visualizaron los amplicones por tinción con azul de metileno (Flores et al., 1992, *Biotechniques*, 13: 203-205). De nuevo se estimó el tamaño de los amplicones por comparación con una escalera de masas moleculares de 1 kb. De las 16 cepas seleccionadas entre las 20 descritas en la tabla 3, seis se amplificaron con las SEQ ID n.º 68 y 70 como cebadores (CCRI-178, CCRI-8895, CCRI-8903, CCRI-1324, CCRI-1331 y CCRI-9504). Para estas seis cepas de SARM se obtuvo un producto de amplificación de 1,2 kb. La banda que corresponde a este producto de amplificación específico se cortó del gel de agarosa y se purificó con el kit de extracción de gel QIAquickTM (QUIAGEN Inc.,

Chassworth, CA). Después se aplicó directamente el protocolo de secuenciación al fragmento de ADN purificado del gel. Ambas hebras de los productos de amplificación de la MREJ se secuenciaron mediante el método de secuenciación de terminación de cadenas con didesoxinucleótidos en un secuenciador automático de ADN de Applied Biosystems (modelo 377) con su kit de reacción Big Dye™ Terminator Cycle Sequencing Ready (Applied Biosystems, Foster City, CA). Las reacciones de secuenciación se realizaron con los mismos cebadores (SEQ ID n.º 68 y 70) y 10 ng/100 pb por reacción de los amplicones purificados en gel. La secuenciación de MREJ de las seis cepas de SARM (CCRI-178, CCRI-8895, CCRI-8903, CCRI-1324, CCRI-1331 y CCRI-9504) descritas en la tabla 3 produjo las SEQ ID n.º 42, 43, 44, 45, 46 y 51, respectivamente (tabla 4).

Para estar seguros de que la secuencia determinada no contenía errores atribuibles a la secuenciación de los artefactos de la PCR, hemos secuenciado dos preparaciones de los productos de amplificación de MREJ purificados de gel que se originaron de dos amplificaciones de PCR independientes. Para la mayor parte de los fragmentos diana, las secuencias determinadas para ambas preparaciones de amplicones eran idénticas. Además, las secuencias de ambas hebras eran complementarias al 100%, lo que confirma la alta precisión de la secuencia determinada. Las secuencias de MREJ determinadas con la estrategia anterior se describen en la lista de secuencias y en la tabla 4.

Para secuenciar la MREJ en las cepas para las que no se había obtenido ningún amplicón con la estrategia que incluye cebadores específicos del gen de la transposasa de IS431 y del gen *orfX*, se utilizó otra estrategia que utiliza cebadores que están dirigidos selectivamente a las secuencias de *mecA* y *orfX* para amplificar fragmentos genómicos más largos. Se utilizó un nuevo cebador para PCR que está dirigido selectivamente a *mecA* (SEQ ID n.º 69) (tabla 8) en combinación con el mismo cebador en la secuencia de *orfX* (SEQ ID n.º 70). La estrategia utilizada para seleccionar estos cebadores se ilustra en la figura 3.

Se utilizó el protocolo de amplificación siguiente: se transfirió el ADN genómico purificado (300 ng) a un volumen final de 50 µl de una mezcla de reacción de PCR. Cada reacción de PCR contenía el tampón Herculase a 1X (Stratagene, La Jolla, CA), 0,8 µM de cada uno de los 2 cebadores (SEQ ID n.º 69 y 70), 0,56 mM de cada uno de los cuatro dNTP y 5 U de *Herculase* (Stratagene). Las reacciones de PCR se ciclaron en un termociclador estándar (PTC-200 de MJ Research Inc.) como sigue: 2 min a 92 °C seguidos de 35 o 40 ciclos de 10 s a 92 °C para la etapa de desnaturalización, 30 s a 55 °C para la etapa de hibridación y 30 min a 68 °C para la etapa de extensión.

Posteriormente, 10 µl de la mezcla amplificada por PCR se resolvieron mediante electroforesis en un gel de agarosa al 0,7% que contenía 0,25 µg/ml de bromuro de etidio. A continuación se visualizaron los amplicones como se describe más arriba. Se estimó el tamaño de los amplicones por comparación con una escalera de masas moleculares de 1 kb (Life Technologies). Después se llevó a cabo una reacción de reamplificación en 2 a 5 tubos con el mismo protocolo con 3 µl de la primera reacción de PCR utilizada como muestra problema para la segunda amplificación. Las mezclas reamplificadas por PCR se agruparon y también se resolvieron por electroforesis en un gel de agarosa al 0,7%. Entonces se visualizaron los amplicones mediante tinción con azul de metileno como se describe más arriba. Se obtuvo un producto de amplificación de unas 12 kb con esta estrategia de amplificación con todas las cepas analizadas. La banda que corresponde al producto de amplificación específico se cortó de gel de agarosa y se purificó como se describe más arriba. El fragmento de ADN purificado de gel se utilizó directamente luego en el protocolo de secuenciación tal y como se describe más arriba. Las reacciones de secuenciación se llevaron a cabo con los mismos cebadores para amplificación (SEQ ID n.º 69 y 70) y 425-495 ng de los amplicones purificados en gel en cada reacción. Posteriormente, los cebadores de secuenciación internos (SEQ ID n.º 65, 77 y 96) (tabla 8) se utilizaron para obtener los datos de las secuencias en ambas hebras procedentes de un trozo más grande del amplicón. De las 20 cepas de SARM descritas en la tabla 3, 5 (CCRI-1331, CCRI-1263, CCRI-1377, CCRI-1311 y CCRI-2025) se secuenciaron con esta estrategia, lo que produjo las SEQ ID n.º 46, 47, 48, 49 y 50, respectivamente (tabla 4). La secuencia dentro del gen *mecA* también se obtuvo a partir de los amplicones generados que produjeron las SEQ ID n.º 27, 28, 29, 30 y 31 a partir de las cepas CCRI-2025, CCRI-1263, CCRI-1311, CCRI-1331 y CCRI-1377, respectivamente (tabla 4). También se obtuvieron secuencias más largas dentro del gen *mecA* y de las regiones cadena abajo para las cepas CCRI-2025, CCRI-1331 y CCRI-1377, tal y como se describe más adelante.

Para obtener secuencias más largas del gen *orfX*, se utilizaron otras dos estrategias que utilizan cebadores que están dirigidos selectivamente a las secuencias de *mecA* y de *orfX* (en el codón de inicio) para amplificar fragmentos cromosómicos más largos. Se diseñó un nuevo cebador para PCR en *orfX* (SEQ ID n.º 132) a utilizar en combinación con el mismo cebador en el gen *mecA* (SEQ ID n.º 69). La estrategia utilizada para seleccionar estos cebadores se ilustra en la figura 3. Con los cebadores SEQ ID n.º 69 y 132 se amplificaron ocho cepas de *S. aureus* (CCRI-9860, CCRI-9208, CCRI-9504, CCRI-1331, CCRI-9583, CCRI-9681, CCRI-2025 y CCRI-1377). La estrategia utilizada para seleccionar estos cebadores se ilustra en la figura 3.

Se utilizó el protocolo de amplificación siguiente: se transfirió ADN genómico purificado (350 a 500 ng) a una mezcla de reacción de PCR de 50 µl. Cada reacción de PCR contenía el tampón Herculase a 1X (Stratagene), 0,8 µM de cada uno de los cebadores de la pareja (SEQ ID n.º 69 y 132), 0,56 mM de cada uno de los cuatro dNTP y 7,5 U de *Herculase* (Stratagene) con MgCl₂ a 1 mM. Las reacciones de PCR se sometieron al termociclado que se describe más arriba.

- Posteriormente, 5 µl de la mezcla amplificada por PCR se resolvieron mediante electroforesis en gel de agarosa al 0,8% con 0,25 µg/ml de bromuro de etidio. Luego se visualizaron los amplicones tal y como se describe más arriba. Para una cepa de *S. aureus* (CCRI-9583), se tuvo que volver a amplificar con los cebadores SEQ ID n.º 96 y 158 (figura 3) en 4 tubos, mediante el mismo protocolo de PCR, con 2 µl de la primera reacción de PCR como muestra problema para la segunda amplificación. Las mezclas reamplificadas mediante PCR se agruparon y también se resolvieron mediante electroforesis en un gel de agarosa al 0,8%. Después se visualizaron los amplicones mediante tinción con azul de metileno tal y como se describe más arriba. Se obtuvo una banda de aproximadamente 12 a 20 kb con esta estrategia de amplificación según las cepas analizadas. La banda que corresponde al producto de amplificación específico se cortó del gel de agarosa y se purificó con el kit de extracción de gel QIAquick™ o el kit de extracción de gel QIAEX II (QIAGEN Inc.). Dos cepas, CCRI-9583 y CCRI-9589, también se amplificaron con los cebadores SEQ ID n.º 132 y 150, lo que generó un producto de amplificación de 1,5 kb. Los amplicones largos (12-20 kb) se secuenciaron utilizando de 0,6 a 1 µg por reacción, mientras que los amplicones cortos (1,5 kb) se secuenciaron con 150 ng por reacción. Las reacciones de secuenciación se realizaron con diferentes conjuntos de cebadores para cada cepa de *S. aureus*: 1) SEQ ID n.º 68, 70, 132, 145, 146, 147, 156, 157 y 158 para la cepa CCRI-9504; 2) SEQ ID n.º 70, 132, 154 y 155 para la cepa CCRI-2025; 3) SEQ ID n.º 70, 132, 148, 149, 158 y 159 para la cepa CCRI-9681; 4) SEQ ID n.º 70, 132, 187 y 188 para la cepa CCRI-9860; 5) SEQ ID n.º 70, 132, 150 y 159 para la cepa CCRI-9589; 6) SEQ ID n.º 114, 123, 132, 150 y 158 para la cepa CCRI-9583; 7) SEQ ID n.º 70, 132, 154 y 155 para la cepa CCRI-1377; 8) SEQ ID n.º 70, 132, 158 y 159 para la cepa CCRI-9208; 9) SEQ ID n.º 68, 70, 132, 145, 146, 147 y 158 para la cepa CCRI-1331; y 10) SEQ ID n.º 126 y 127 para la cepa CCRI-9770.
- 20 En una cepa (CCRI-9770), los genes *orfX* y *orfSA0022* resultaron estar total o parcialmente deletados basándose en la amplificación con cebadores específicos para estos genes (SEQ ID n.º 132 y 159 y SEQ ID n.º 128 y 129, respectivamente) (tabla 8). Posteriormente se diseñó un nuevo cebador para PCR en *orfSA0021* (SEQ ID n.º 126) para utilizarlo en combinación con el mismo cebador en el gen *mecA* (SEQ ID n.º 69). Se obtuvo un producto de amplificación de 4,5 kb con este conjunto de cebadores. La amplificación, purificación y secuenciación de los amplicones se llevó a cabo tal y como se describe más arriba.

- Para obtener la secuencia de la región de SSC*mec* que contiene *mecA* para 10 de las 20 cepas de SARM descritas en la tabla 3 (CCRI-9504, CCRI-2025, CCRI-9208, CCRI-1331, CCRI-9681, CCRI-9860, CCRI-9770, CCRI-9589, CCRI-9583 y CCRI-1377), el cebador descrito más arriba diseñado en *mecA* (SEQ ID n.º 69) se utilizó en combinación con un cebador diseñado en la región cadena abajo de *mecA* (SEQ ID n.º 118) (tabla 8). Se obtuvo un producto de amplificación de 2 kb para todas las cepas analizadas. Una cepa, la CCRI-9583, se volvió a amplificar con los cebadores SEQ ID n.º 96 y 118 a partir del amplicón generado con cebadores SEQ ID n.º 69 y 132 descritos más arriba. La amplificación, reamplificación y purificación de amplicones, y las reacciones de secuenciación, se realizaron tal y como se describe más arriba. Las reacciones de secuenciación se realizaron con los amplicones generados con las SEQ ID n.º 69 y 132 descritas más arriba o las SEQ ID n.º 69 y 118. Se utilizaron diferentes conjuntos de cebadores para secuenciación para cada cepa de *S. aureus*: 1) SEQ ID n.º 69, 96, 117, 118, 120, 151, 152 para las cepas CCRI-9504, CCRI-2025, CCRI-1331, CCRI-9770 y CCRI-1377; 2) SEQ ID n.º 69, 96, 118 y 120 para las cepas CCRI-9208, CCRI-9681 y CCRI-9589; 3) SEQ ID n.º 69, 96, 117, 118, 120 y 152 para la cepa CCRI-9860; y 4) SEQ ID n.º 96, 117, 118, 119, 120, 151 y 152 para la cepa CCRI-9583.

- A continuación, las secuencias obtenidas para 16 de las 20 cepas no amplificables por el ensayo de Hiramatsu (tabla 4) se compararon con las secuencias disponibles de las bases de datos públicas. En todos los casos, los trozos de la secuencia tenían una identidad cercana al 100% con las secuencias públicamente disponibles para *orfX* (SEQ ID n.º 42-51, 165-168 y 171) o *mecA* y la región secuencia abajo (SEQ ID n.º 27-31, 189-193, 195, 197-199 y 225). Sin embargo, mientras que el trozo de *orfX* de los fragmentos (SEQ ID n.º 42-51, 165-168 y 171) compartía una identidad de casi el 100% con el gen *orfX* de la cepa de SASM NCTC 8325 descrita por Hiramatsu et al. (SEQ ID n.º 3), se demostró que la secuencia del ADN dentro del extremo derecho del propio SSC*mec* era muy diferente de la de los tipos I, II, III y IV descritas por Hiramatsu et al. (tabla 13, figura 4). Se obtuvieron seis nuevos tipos de secuencias diferentes.

- Se debe advertir que Hiramatsu et al. demostraron que el SSC*mec* de tipo I se podía asociar al MREP de tipo i, los SSC*mec* de tipos II y IV se asocian al MREP de tipo ii, y el SSC*mec* de tipo III se asocia al MREP de tipo iii.
- 50 Nuestros datos de secuenciación de MREJ de las diferentes cepas de SARM condujeron a descubrir 6 nuevos tipos de MREP denominados tipos iv, v, vi, vii, viii y ix. Las MREJ que comprenden diferentes tipos de MREP se denominaron según el esquema de numeración de MREP. Por lo tanto, el MREP de tipo i está comprendido dentro de la MREJ de tipo i, el MREP de tipo ii está comprendido dentro de la MREJ de tipo ii, etc., hasta llegar al MREP de tipo ix.
- 55 Las secuencias que están en el extremo derecho de SSC*mec* obtenidas de las cepas CCRI-178, CCRI-8895, CCRI-8903, CCRI-1324, CCRI-1331 y CCRI-9504 (SEQ ID n.º 42, 43, 44, 45, 46 y 51) eran casi idénticas unas a otras y mostraban una identidad de casi el 100% con IS431 (n.º de acceso de GenBank AF422691, ABO37671, AF411934). Sin embargo, nuestros datos de secuencias revelaron por primera vez la localización de esta secuencia de IS431 en el extremo derecho de SSC*mec* adyacente al sitio de integración. Por lo tanto, como las secuencias del extremo derecho de SSC*mec* de estas 6 cepas de SARM eran diferentes de las de SSC*mec* de tipo I de la cepa NCTC 10442, SSC*mec* de tipo II de la cepa N315, SSC*mec* de tipo III de la cepa 85/2082 y SSC*mec* de tipo IV de las cepas CA05 y 8/6-3P descritas por Hiramatsu et al. (Ito et al., 2001, *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 1323-1336;

Ma et al., 2002, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 1147-1152), estas nuevas secuencias se denominaron MREP de tipo iv (SEQ ID n.º 42-46 y 51). Una búsqueda con BLAST con el trozo de SCCmec de las secuencias de MREP de tipo iv produjo alineamientos significativos con secuencias que codifican trozos de muy diversas transposasas conocidas. Por ejemplo, cuando se compara con el n.º de acceso de Genbank AB037671, el MREP de tipo iv de la

5 SEQ ID n.º 51 compartió una identidad del 98% con la posible transposasa de IS431 y su región cadena abajo; también estaban presentes en el alineamiento dos huecos de 7 nucleótidos cada uno.

Las secuencias obtenidas de las cepas CCRI-1263, CCRI-1377, CCRI-1311 y CCRI-2025 (SEQ ID n.º 47-50) eran casi idénticas entre sí y diferentes de los tres tipos de SCCmec y del MREP de tipo iv y, por consiguiente, se denominaron MREP de tipo v. Cuando se compara con las secuencias de GenBank mediante BLAST, las

10 secuencias de MREP de tipo v no compartían ninguna homología significativa con ninguna secuencia publicada, excepto en los primeros 28 nucleótidos. Este tramo corto correspondía a los últimos 11 nucleótidos codificantes de *orfX*, seguido de 17 nucleótidos cadena abajo que incluyen la repetición inversa derecha (IR-R, por su nombre en inglés) de SCCmec.

La secuencia obtenida de la cepa CCRI-9208 también era diferente de los tres tipos de SCCmec y de los MREP de los tipos iv y v y, por consiguiente, se denominó MREP de tipo vi (SEQ ID n.º 171). Tras una búsqueda con BLAST, se demostró que el MREP de tipo vi era único, y que no mostraba ninguna homología significativa con ninguna secuencia publicada.

Las secuencias obtenidas de las cepas CCRI-9583 y CCRI-9589 también eran diferentes de los tres tipos de SCCmec y de los MREP de tipos iv a vi y, por lo tanto, se denominaron MREP de tipo vii (SEQ ID n.º 165 y 166).

20 Tras una búsqueda con BLAST, también se demostró que el tipo vii de MREP era único, y que no mostraba ninguna homología significativa con ninguna secuencia publicada.

La secuencia obtenida de la cepa CCRI-9860 también era diferente de los tres tipos de SCCmec y de los MREP de tipos iv a vii y, por lo tanto, se denominó MREP de tipo viii (SEQ ID n.º 167). La secuencia obtenida de la cepa CCRI-9681 también era diferente de los tres tipos de SCCmec y de los MREP de tipos iv a viii y, por lo tanto, se denominó

25 MREP de tipo ix (SEQ ID n.º 168). Las búsquedas con BLAST con el trozo de SCCmec de las secuencias de los MREP de tipos viii y ix devolvió alineamientos significativos, pero sólo para los primeros ~150 nucleótidos de cada tipo de MREP. Por ejemplo, el comienzo de la secuencia del MREP de tipo viii tenía una identidad del 88% con un trozo del n.º de acceso a GenBank AB063173, pero no se encontró ninguna homología significativa con ninguna secuencia publicada para el resto de la secuencia. De la misma manera, los primeros ~150 nucleótidos del MREP de

30 tipo ix tenían una identidad del 97% con la misma porción de AB063173, y el resto de la secuencia era única. El pequeño trozo homólogo de los MREP de tipos viii y ix corresponde en la AB063173 a los últimos 14 nucleótidos codificantes de *orfX*, la IR-R de SCCmec y un trozo de *orfCM009*. Aunque compartan cierto parecido, los MREP de tipos viii y ix son muy diferentes entre sí; tal y como se muestra en la tabla 13, sólo hay una identidad del 55,2% entre ambos tipos para los primeros 500 nucleótidos del trozo de SCCmec.

35 Finalmente, no obtuvimos ninguna secuencia dentro de SCCmec de la cepa CCRI-9770. Sin embargo, tal y como se describe en el apartado «Secuenciación de las secuencias nucleotídicas de MREJ a partir de cepas de SARM no amplificables con los cebadores específicos de los SCCmec de tipos I, II y III», esta cepa tiene aparentemente una delección total o parcial de los genes *orfX* y *orfSA0022* en el ADN cromosómico a la derecha del sitio de integración de SCCmec, y esto representaría una nueva unión en el extremo derecho. Por lo tanto, esta nueva secuencia la

40 denominamos MREP de tipo x (SEQ ID n.º 172). La secuenciación futura debería revelar si esta denominada MREJ de tipo x contiene un nuevo MREP de tipo x o si la ausencia de amplificación está ocasionada realmente por variaciones en la parte cromosómica de la MREJ.

Las secuencias del primer trozo de 500 nucleótidos del extremo derecho de todos los SCCmec obtenidos en la presente invención se compararon con las de los SCCmec de los tipos I, II y III con los programas de GCG Pileup y

45 Gap. La tabla 13 describe la identidad a nivel de nucleótido entre el extremo derecho de los SCCmec de las seis secuencias nuevas y las de los SCCmec de tipos I, II y III con el programa Gap de GCG. Mientras que los SCCmec de tipos I y II mostraron una identidad de casi el 79,2% (al diferir sólo por una inserción de 102 pb presente en el SCCmec de tipo II) (figuras 1, 2 y 4), todos los demás tipos de MREP mostraron identidades que variaban del 40,9% al 57,1%. Esto explica porqué el extremo derecho de los nuevos MREP de tipos iv a ix descritos en la presente

50 invención no se pudieron predecir ni detectar con el sistema descrito por Hiramatsu et al.

No se secuenciaron cuatro cepas (CCRI-1312, CCRI-1325, CCRI-9773 y CCRI-9774) descritas en la tabla 3, sino que en su lugar se caracterizaron con los cebadores para PCR. Con cebadores para amplificación específicos descritos en los ejemplos 4, 5 y 6 se demostró que las cepas CCRI-1312 y CCRI-1325 contenían MREP de tipo v, mientras que con los cebadores para amplificación específicos descritos en el ejemplo 7 se demostró que las cepas

55 CCRI-9773 y CCRI-9774 contenían MREP de tipo vii.

Para obtener la secuencia completa del SCCmec presente en las cepas de SARM descritas en la presente invención se desarrollaron cebadores específicos para el cromosoma de *S. aureus* a la izquierda (cadena arriba del gen *mecA*) del sitio de integración de SCCmec. Basándose en las secuencias de las bases de datos públicas disponibles, se diseñaron 5 cebadores diferentes (SEQ ID n.º 85-89) (tabla 9). Estos cebadores se pueden utilizar en combinación

con cebadores específicos del cromosoma de *S. aureus* para secuenciar todo el SCCmec o, alternativamente, utilizarlos en combinación con un cebador específico de *mecA* (SEQ ID n.º 81) para secuenciar la unión en el extremo izquierdo del SCCmec. También desarrollamos varios cebadores específicos para que las secuencias de SCCmec conocidas que hay a lo largo del locus para obtener la secuencia completa de SCCmec (tabla 9). Estos
5 cebadores permitirán asignar un tipo de SCCmec a las cepas de SARM descritas en la presente invención.

Selección de los cebadores para amplificación a partir de las secuencias de SCCmec/orfX

Las secuencias de MREJ determinadas por los inventores o seleccionadas de las bases de datos públicas se utilizaron para seleccionar los cebadores para PCR para detectar e identificar los SARM. La estrategia utilizada para seleccionar estos cebadores para PCR se basó en el análisis de alineamientos múltiples de secuencias de
10 diferentes secuencias de MREJ.

Tras el análisis de los datos de las seis secuencias nuevas de MREP de los tipos iv a ix descritas más arriba, se diseñaron los cebadores específicos para cada secuencia de los nuevos tipos de MREP (SEQ ID n.º 79, 80, 109, 112, 113, 115, 116 y 204) (figura 2, tabla 5, ejemplos 3, 4, 5, 6, 7 y 8). Los cebadores específicos para los MREP de los tipos iv, v y vii (SEQ ID n.º 79, 80 y 112) se utilizaron en múltiplex con los tres cebadores para detectar los
15 SCCmec de los tipos I, II y III (SEQ ID n.º 64, 66 y 67) y el cebador específico de *orfX* de *S. aureus* (SEQ ID n.º 64) (ejemplos 3, 4, 5, 6, y 7). Los cebadores específicos de los MREP de tipos vi, viii y ix (SEQ ID n.º 204, 115, 116 y 109) también se diseñaron y se comprobaron con su diana específica (ejemplo 8).

Detección de los productos de amplificación

Clásicamente, la detección de los productos de amplificación por PCR se realiza por electroforesis estándar en gel
20 de agarosa teñido con bromuro de etidio, tal y como se describe más arriba. Sin embargo, está claro que se pueden utilizar otros métodos para detectar los productos de amplificación específicos, que pueden ser más rápidos y más prácticos para el diagnóstico convencional. Los ejemplos de tales métodos se describen en la solicitud de patente internacional en tramitación con la presente WO 01/23604 A2.

La detección de los amplicones también se puede realizar mediante hibridación líquida o en soporte sólido con
25 sondas de ADN internas específicas de especie que se hibridan a un producto de amplificación. Tales sondas se pueden generar a partir de cualquier secuencia de nuestro repertorio y diseñar para que se hibriden específicamente a productos de amplificación de ADN que son objeto de la presente invención. Otra posibilidad es que los amplicones se pueden caracterizar por secuenciación. Véase la solicitud de patente internacional en tramitación con la presente WO 01/23604 A2 para los ejemplos de los métodos de detección y de secuenciación.

Para mejorar la eficacia de la amplificación de ácidos nucleicos, se puede modificar la composición de la mezcla de
30 reacción (Chakrabarti y Schutt, 2002, *Biotechniques*, 32: 866-874; Al-Soud y Radstrom, 2002, *J. Clin. Microbiol.*, 38: 4463-4470; Al-Soud y Radstrom, 1998, *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3748-3753; Wilson, 1997, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63: 3741-3751). Tales modificaciones de la mezcla de reacción de amplificación incluyen el uso de diferentes polimerasas o la adición de facilitadores de la amplificación de ácidos nucleicos, tales como asbetaina,
35 SAB, sulfóxidos, proteína gp32, detergentes, cationes, cloruro de tetrametilamonio y otros.

En una realización preferente, la detección en tiempo real de la amplificación por PCR se monitorizó con sondas
fluorescibles en un aparato Smart Cycler® (Cepheid, Sunnyvale, CA). Se desarrolló un ensayo de PCR múltiplex que contenía cebadores específicos para los MREP de tipos i a v y para el *orfX* de *S. aureus* (SEQ ID n.º 64, 66, 67, 79 y 80), una sonda fluorescente específica de la secuencia de *orfX* (SEQ ID n.º 84, véase anexo II y figura 2) y un control
40 interno para monitorizar la inhibición de la PCR. El control interno contiene secuencias complementarias a los cebadores específicos de *orfX* y de los MREP de tipo iv (SEQ ID n.º 79 y 64). El ensayo también contiene una sonda fluorescente, marcada con tetracloro-6-carboxifluoresceína (TET), específica de una secuencia interna del fragmento de ADN generado durante la amplificación del control interno. Cada reacción de PCR contenía KCl a 50 mM, Tris-HCl a 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%, MgCl₂ a 3,45 mM, 0,8 µM de cada uno de los cebadores específicos del
45 MREP (SEQ ID n.º 66 y 67) y del cebador específico de *orfX* (SEQ ID n.º 64), 0,4 µM de cada uno de los cebadores específicos de MREP (SEQ ID n.º 79 y 80), 80 copias del control interno, 0,2 µM de la sonda fluorescente marcada con TET específica del control interno, 0,2 µM de la sonda fluorescente (SEQ ID n.º 84) marcada con 6-carboxifluoresceína (FAM), 330 µM de cada uno de los cuatro dNTP (Pharmacia Biotech), 3,45 µg/µl de SAB (Sigma), y 0,875 U de la polimerasa *Taq* (Promega) unida al anticuerpo *TaqStart*™ (BD Biosciences). La
50 amplificación por PCR en el Smart Cycler® se realizó como sigue: 3 min a 95 °C para la desnaturalización inicial, luego 48 ciclos de tres etapas que consisten en 5 s a 95 °C para la etapa de desnaturalización, 15 s a 60 °C para la etapa de hibridación y 15 s a 72 °C para la etapa de extensión. Las pruebas de sensibilidad realizadas con ADN genómico purificado a partir de una cepa de SARM de cada tipo de MREP (i a v) mostraron un límite de detección de 2 a 10 copias de genoma (ejemplo 5). Ninguna de las 26 SCNRM ni de las 10 SCNSM analizadas dieron positivo
55 con este ensayo múltiplex. Las ocho cepas de SARM (CCRI-9208, CCRI-9770, CCRI-9681, CCRI-9860, CCRI-9583, CCRI-9773, CCRI-9774, CCRI-9589) que albergan las secuencias nuevas de MREP de los tipos vi, viii, ix y x descritas en la presente invención permanecieron indetectables (ejemplo 5).

En una realización preferente, se evaluó la detección de SARM con el ensayo de PCR múltiplex en tiempo real en el

aparato Smart Cycler® (Cepheid, Sunnyvale, CA) directamente de los especímenes clínicos. Se recogieron 142 muestras nasales con torunda durante un programa de seguimiento hospitalario de SARM en el Hospital General de Montreal (Montreal, Quebec, Canadá). Las muestras de las torundas se analizaron en el Centre de Recherche en Infectiologie de la Universidad Laval antes de que pasaran 24 horas desde su recogida. Una vez recibidas, las torundas se sembraron en placas de agar con manitol y, luego, el material nasal de la misma torunda se preparó con un protocolo de preparación de especímenes simple y rápido descrito en la solicitud de patente de los EE.UU. en tramitación con la presente n.º US 60/306 163. La identificación clásica de SARM se realizó mediante los métodos de cultivo estándares.

- De las 34 muestras, el ensayo de PCR detectó 33 positivos para SARM basándose en el método de cultivo. En comparación con el cultivo, el ensayo de PCR detectó 8 especímenes más que dieron positivo para el SARM con una sensibilidad del 97,1% y una especificidad del 92,6% (ejemplo 6). Este ensayo de PCR múltiplex representa un método rápido y poderoso de detección específica de vehículos de SARM directamente de especímenes nasales, y se puede utilizar con cualquier tipo de especímenes clínicos tales como heridas, sangre o cultivo de sangre, LCR, etc.
- En una realización preferente, se desarrolló un ensayo de PCR múltiplex que contenía cebadores específicos de los MREP de tipos i, ii, iii, iv, v y vi, y del *orfX* de *S. aureus* (SEQ ID n.º 66, 67, 79, 80 y 112) y tres sondas fluorescentes específicas para la secuencia de *orfX* que permitieron detectar los dos polimorfismos de secuencia identificados en esta región de la secuencia de *orfX*. Cuatro de las cepas que no se detectaron con el ensayo múltiplex para detección de los MREP de tipos i a v se detectaron ahora con este ensayo múltiplex, mientras que las cuatro cepas de SARM (CCRI-9208, CCRI-9770, CCRI-9681, CCRI-9860) que albergan los MREP de tipos vi, viii, ix y x descritos en la presente invención permanecieron indetectables (ejemplo 7). También se diseñaron cebadores específicos para los MREP de tipos vi, viii y ix (SEQ ID n.º 204, 115, 116 y 109) y se demostró que detectaban sus cepas diana específicas (ejemplo 8). Mientras que los cebadores y las sondas procedentes de las enseñanzas de Hiramatsu et al. permitieron detectar sólo el 48,7% (19 cepas de 39) de las cepas de SARM de la tabla 2, los cebadores y las sondas diseñados en la presente invención permiten detectar el 97,4% de las cepas (38 cepas de 39) (véanse los ejemplos 7 y 8). Por lo tanto, se puede decir que nuestro ensayo tiene una ubicuidad superior al 50% para las cepas de SARM recogidas en la tabla 2.

Pruebas de especificidad, ubicuidad y sensibilidad para las sondas y cebadores oligonucleotídicos

- Se analizó la especificidad de las sondas y cebadores oligonucleotídicos mediante la amplificación del ADN o mediante la hibridación con especies de estafilococos. Todas las especies estafilocócicas analizadas probablemente eran patógenos relacionados con infecciones o posibles contaminantes que se pueden aislar de especímenes clínicos. Cada ADN diana se puede liberar desde las células microbianas mediante tratamientos químicos y/o físicos estándares para lisar las células (Sambrook et al., 1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2.ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY) o, alternativamente, se utilizó ADN genómico purificado con el kit de ADN GNOME™ (Qbiogene, Carlsbad, CA). Posteriormente, el ADN se amplificó con el conjunto de cebadores. Las sondas o cebadores específicos se hibridaron sólo con el ADN diana.

- A los cebadores oligonucleotídicos que se encontró que amplificaban específicamente el ADN del SARM diana se les analizó posteriormente su ubicuidad por amplificación (a saber, los cebadores ubicuos que amplificaron con eficacia la mayor parte o todos los aislados de SARM). Finalmente, se determinó la sensibilidad analítica de los ensayos de PCR mediante diluciones de 10 veces o de 2 veces del ADN genómico purificado de los microorganismos diana. Para la mayoría de los ensayos se obtuvieron unos niveles de sensibilidad en el margen de 2 a 10 copias de genoma. La especificidad, la ubicuidad y la sensibilidad analítica de los ensayos por PCR se analizó bien directamente con cultivos bacterianos o bien con ADN genómico bacteriano purificado.

- Las sondas fluorescentes se analizaron con la plataforma Smart Cycler® tal y como se describe más arriba. Se consideró que una sonda fluorescente era específica sólo cuando se hibridaba únicamente al ADN amplificado de la MREJ de *S. aureus*. A las sondas fluorescentes que se halló que eran específicas se les analizó posteriormente su ubicuidad (a saber, las sondas ubicuas que detectaban con eficacia la mayoría o todos los aislados de SARM) por hibridación a los ADN bacterianos de diferentes cepas de SARM.

Cepas bacterianas

- Las cepas de referencia utilizadas para construir subrepertorios de datos de secuencias de unión del extremo derecho del SCCmec-cromosoma en propiedad, así como para comprobar los ensayos de hibridación y de amplificación, se obtuvieron de (i) la American Type Culture Collection (ATCC), (ii) el Laboratorio de Salud Pública de Québec (LSPQ) (Ste-Anne de Bellevue, Québec, Canadá), (iii) los centros para la prevención y el control de enfermedades (CDC, por su nombre en inglés) (Atlanta, GA), (iv) el Instituto Pasteur (París, Francia) y (v) la colección Harmony (Londres, Reino Unido) (tabla 14). En esta invención también se utilizaron aislados clínicos de SARM, SASM, SCNRM y SCNSM de diferentes regiones geográficas (tabla 15). Se confirmó la identidad de nuestras cepas de SARM mediante pruebas fenotípicas y se volvió a confirmar mediante análisis por PCR con cebadores específicos de *S. aureus* y cebadores específicos para *mecA* (SEQ ID n.º 69 y 81) (Martineau et al., 2000, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 44: 231-238).

En aras de la claridad, a continuación se encuentra una lista con los ejemplos, tablas, figuras y anexos de esta invención.

DESCRIPCIÓN DE LOS EJEMPLOS

- Ejemplo 1:** los cebadores desarrollados por Hiramatsu et al. sólo pueden detectar las cepas de SARM que pertenecen a los MREP de tipos i, ii y iii, mientras que no detectan los tipos de MREP nuevos prevalentes.
- Ejemplo 2:** detección e identificación de SARM con cebadores específicos de las secuencias de MREP de tipos i, ii y iii desarrolladas en la presente invención.
- Ejemplo 3:** desarrollo de un ensayo de PCR múltiplex en un termociclador estándar para detectar e identificar SARM basándose en las secuencias de los MREP de tipos i, ii, iii, iv y v.
- Ejemplo 4:** desarrollo de un ensayo de PCR múltiplex en tiempo real en el Smart Cycler® para detectar e identificar SARM basándose en las secuencias de los MREP de tipos i, ii, iii, iv y v.
- Ejemplo 5:** desarrollo de un ensayo de PCR múltiplex en tiempo real en el Smart Cycler® para detectar e identificar SARM basándose en las secuencias de los MREP de tipos i, ii, iii, iv y v, y que incluye un control interno.
- Ejemplo 6:** detección de SARM mediante el ensayo múltiplex en tiempo real en el Smart Cycler® basándose en las secuencias de los MREP de tipos i, ii, iii, iv y v para detectar SARM directamente en los especímenes clínicos.
- Ejemplo 7:** desarrollo de un ensayo de PCR múltiplex en tiempo real en el Smart Cycler® para detectar e identificar SARM basándose en las secuencias de los MREP de tipos i, ii, iii, iv, v, vi y vii.
- Ejemplo 8:** desarrollo de ensayos de PCR en tiempo real en el Smart Cycler® para detectar e identificar SARM basándose en los MREP de tipos vi, viii y ix.

DESCRIPCIÓN DE LAS TABLAS

- La tabla 1 da a conocer información sobre todos los cebadores para PCR desarrollados por Hiramatsu et al. en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507.
- La tabla 2 es una recopilación de los resultados (ubicuidad y especificidad) para la detección de la unión en el extremo derecho de *SCCmec-orfX* con los cebadores descritos por Hiramatsu et al. en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 en un termociclador estándar.
- La tabla 3 es una lista de cepas de SARM no amplificables con los cebadores que están dirigidos selectivamente a los tipos I, II y III de las secuencias de la unión del extremo derecho del *SCCmec-orfX*.
- La tabla 4 es una lista de las secuencias nucleotídicas de las MREJ de *Staphylococcus aureus*.
- La tabla 5 da a conocer información sobre todos los cebadores desarrollados.
- La tabla 6 es una lista de las sondas fluorescibles desarrolladas.
- La tabla 7 muestra el tamaño de los amplicones de las diferentes parejas de cebadores descritas por Hiramatsu et al. en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 o descritas en la presente memoria.
- La tabla 8 da a conocer información sobre los cebadores desarrollados para secuenciar la unión en el extremo derecho de *SCCmec*-cromosoma.
- La tabla 9 da a conocer información sobre los cebadores desarrollados para obtener la secuencia completa de *SCCmec*.
- La tabla 10 es una lista de las secuencias disponibles en las bases de datos públicas (GenBank, proyectos genómicos o patente de los EE.UU. n.º 6 156 507) utilizadas para diseñar cebadores y sondas.
- La tabla 11 ofrece la sensibilidad analítica del ensayo de PCR desarrollado en la presente invención con los cebadores que están dirigidos selectivamente a los tipos I, II y III de las secuencias de la unión en el extremo derecho de *SCCmec-orfX* y realizado en un termociclador estándar.
- La tabla 12 es una recopilación de los resultados (ubicuidad y especificidad) para la detección de SARM con los cebadores desarrollados en la presente invención que están dirigidos selectivamente a los tipos I, II y III de las secuencias de unión en el extremo derecho de *SCCmec-orfX* y realizados en un termociclador estándar.
- La tabla 13 muestra una comparación de la identidad de las secuencias entre los primeros 500 nucleótidos del extremo derecho de los *SCCmec* entre 9 tipos de MREP.

La tabla 14 da a conocer información sobre las cepas de referencia de SARM, SASM, SCNRM y SCNSM utilizadas para validar los ensayos de PCR desarrollados en la presente invención.

La tabla 15 da a conocer información sobre el origen de las cepas clínicas de SARM, SASM, SCNRM y SCNSM utilizadas para validar los ensayos de PCR descritos en la presente invención.

- 5 La tabla 16 describe la sensibilidad analítica del ensayo de PCR desarrollado en la presente invención que utiliza cebadores que están dirigidos selectivamente a 5 tipos de secuencias de MREP y realizado en un termociclador estándar.

- La tabla 17 es una recopilación de los resultados (ubicuidad y especificidad) para el ensayo de PCR desarrollado en la presente invención que usa los cebadores que están dirigidos selectivamente a 5 tipos de secuencias de MREP y
10 realizado en un termociclador estándar.

La tabla 18 describe la sensibilidad analítica del ensayo de PCR desarrollado en la presente invención que usa la plataforma Smart Cyc[®] para la detección de 5 tipos de MREP.

- La tabla 19 es una recopilación de los resultados (ubicuidad y especificidad) para el ensayo de PCR desarrollado en la presente invención que utiliza cebadores y una sonda fluorescible que está dirigida selectivamente a 5 tipos de
15 secuencias de MREP y realizado en la plataforma Smart Cyc[®].

La tabla 20 describe la sensibilidad analítica del ensayo de PCR desarrollado en la presente invención que usa la plataforma Smart Cyc[®] para la detección de 6 tipos de MREP.

- La tabla 21 es una recopilación de los resultados (ubicuidad y especificidad) para el ensayo de PCR desarrollado en la presente invención que usa cebadores y una sonda fluorescible que está dirigida selectivamente a 6 tipos de
20 secuencias de MPREP y realizado en la plataforma Smart Cyc[®].

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La figura 1 es un diagrama que ilustra la posición de los cebadores desarrollados por Hiramatsu et al. (patente de los EE.UU. n.º 6 156 507) en la unión del extremo derecho de SCC*mec*-cromosoma para detectar e identificar SARM.

- La figura 2 es un diagrama que ilustra la posición de los cebadores seleccionados en la presente invención en la
25 unión del extremo derecho de SCC*mec-orfX* para detectar e identificar SARM.

La figura 3 es un diagrama que ilustra la posición de los cebadores seleccionados en la presente invención para secuenciar los nuevos tipos de MREP.

La figura 4 ilustra un alineamiento de secuencias de nueve tipos de MREP.

LEYENDAS DE LAS FIGURAS

- 30 Figura 1. Organización esquemática de los tipos I, II y III de las uniones en el extremo derecho de SCC*mec-orfX*, y localización de los cebadores (SEQ ID n.º 52-63) descritos por Hiramatsu et al. para detectar e identificar SARM. El tamaño de los amplicones se describe en la tabla 7.

- Figura 2. Organización esquemática de los MREP de tipos i, ii, iii, iv, v, vi, vii, viii y ix, y localización de los cebadores y la sonda fluorescible que están dirigidos selectivamente a todos los tipos de MREP (SEQ ID n.º 20, 64, 66, 67, 79,
35 80, 84, 112, 115, 116, 84, 163 y 164) que se desarrollaron en la presente invención. El tamaño de los amplicones se describe en la tabla 7.

Figura 3. Organización esquemática de las uniones en el extremo derecho de SCC*mec*-cromosoma, y localización de los cebadores (SEQ ID n.º 65, 68, 69, 70, 77, 96, 118, 126, 132, 150 y 158) desarrollados en la presente invención para secuenciar los MREP de tipos iv, v, vi, vii, viii, ix y x.

- 40 Figura 4. Alineamiento múltiple de secuencias de representantes de nueve tipos de MREP (representados por trozos de las SEQ ID n.º 1, 2, 104, 51, 50, 171, 165, 167 y 168 para los tipos i, ii, iii, iv, v, vi, vii, viii y ix, respectivamente).

DESCRIPCIÓN DE LOS ANEXOS

Los anexos muestran las estrategias utilizadas para seleccionar cebadores y sondas internos:

- El anexo I ilustra la estrategia para seleccionar los cebadores a partir de las secuencias de SCC*mec* y de *orfX*
45 específicas de los SCC*mec* de los tipos I y II.

El anexo II ilustra la estrategia para seleccionar las sondas fluorescibles específicas para detectar en tiempo real las uniones en el extremo derecho de SCC*mec-orfX*.

Tal y como se muestra en estos anexos, los cebadores para amplificación seleccionados pueden contener inosinas

y/o bases ambiguas. La inosina es un análogo de nucleótido capaz de unirse específicamente a cualquiera de los cuatro nucleótidos A, C, G o T. Otra posibilidad es que se utilicen oligonucleótidos degenerados que consisten en una mezcla de oligonucleótidos que tienen dos o más de los cuatro nucleótidos A, C, G o T en el sitio de las discordancias. La inclusión de la inosina y/o de degeneraciones en los cebadores para amplificación proporciona

5 cierta tolerancia a los apareamientos erróneos, con lo que se permite la amplificación de un abanico más amplio de secuencias nucleotídicas diana (Dieffenbach y Dveksler, 1995, *PCR Primer: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, Nueva York).

Ejemplos

EJEMPLO 1:

- 10 **Los cebadores desarrollados por Hiramatsu et al. sólo pueden detectar las cepas de SARM que pertenecen a los MREP de tipos i, ii y iii, mientras que no detectan nuevos tipos de MREP prevalentes.**

Tal y como se muestra en la figura 1, Hiramatsu et al. han desarrollado varios cebadores que pueden hibridarse específicamente al extremo derecho de los ADN de SCCmec de tipos I, II y III. Combinaron estos cebadores con cebadores específicos de la región del cromosoma de *S. aureus* localizada a la derecha del sitio de integración de

15 SCCmec para detectar los SARM. Hiramatsu et al. demostraron que el conjunto de cebadores (SEQ ID n.º 22, 24 y 28 en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 que corresponde a las SEQ ID n.º 56, 58 y 60 en la presente invención) eran los más específicos y ubicuos para detectar SARM. Este conjunto de cebadores ofrece productos de amplificación de 1,5 kb para el SCCmec del tipo I, de 1,6 kb para el SCCmec del tipo II y de 1,0 kb para el SCCmec de tipo III (tabla 7). Se ensayó la ubicuidad y la especificidad de este ensayo de PCR múltiplex con 39 cepas de

20 SARM, 41 cepas de SASM, 9 cepas de SCNRM y 11 cepas de SCNSM (tabla 2). En una mezcla de reacción de PCR de 20 µl se amplificó 1 µl de una suspensión bacteriana estandarizada tratada o de una preparación de ADN genómico bacteriano purificado de bacterias. Cada reacción de PCR contenía KCl a 50 mM, Tris-HCl a 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%, MgCl₂ a 2,5 mM, 0,4 µM de cada uno de los cebadores específicos de SCCmec y de *orfX* (SEQ ID n.º 56, 58 y 60), 200 µM de cada uno de los cuatro dNTP (Pharmacia Biotech), 3,3 µg/µl de SAB (Sigma) y

25 0,5 U de la polimerasa *Taq* (Promega) unida al anticuerpo *TaqStart*TM (BD Biosciences).

Las reacciones de la PCR se sometieron a continuación al termociclado: 3 min a 94 °C seguidos de 40 ciclos de 60 s a 95 °C para la etapa de desnaturalización, 60 s a 55 °C para la etapa de hibridación y 60 s a 72 °C para la etapa de extensión, y luego se realizó la última extensión de 7 minutos a 72 °C en un termociclador estándar (PTC-200 de MJ Research Inc.). La detección de los productos de PCR se realizó mediante electroforesis en geles de agarosa (2%)

30 que contienen 0,25 µg/ml de bromuro de etidio.

Ninguna de las cepas de SCNRM o SCNSM analizadas fue detectada con el conjunto de cebadores que detectan los SCCmec de tipos I, II y III. De las 39 cepas de SARM analizadas, 20 no se detectaron con este ensayo de PCR múltiplex (tablas 2 y 3). Una de estas cepas de SARM sin detectar corresponde al clon portugués de SARM muy epidémico (cepa CCRI-9504; De Lencastre et al., 1994, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 13: 64-73) y otra

35 corresponde al clon canadiense de SARM muy epidémico CMRSA1 (cepa CCRI-9589; Simor et al., *CCDR* 1999, 25-12, 15 de junio). Estos datos demuestran que el conjunto de cebadores desarrollado por Hiramatsu et al. (SEQ ID n.º 22, 24 y 28 en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 que corresponden a las SEQ ID n.º 56, 58 y 60 en la presente invención) no es ubicuo para detectar los SARM y sugiere que algunas cepas de SARM tienen secuencias en la unión del extremo derecho de SCCmec que son diferentes de las identificadas por Hiramatsu et al. En los SARM se

40 encuentran secuencias de SCCmec de otros tipos u otras secuencias en el extremo derecho del SCCmec (tipo de MREP). Una limitación de este ensayo es la detección inespecífica de 13 cepas de SASM (tabla 2).

EJEMPLO 2:

Detección e identificación de SARM con cebadores específicos de las secuencias de los MREP de tipos i, ii y iii desarrolladas en la presente invención. Según el análisis de los alineamientos múltiples de secuencias de las

45 secuencias de *orfX* y de SCCmec descritas por Hiramatsu et al. o disponibles en GenBank, se diseñó un conjunto de cebadores (SEQ ID n.º 64, 66, 67) capaces de amplificar segmentos cortos de las uniones en el extremo derecho de SCCmec-*orfX* de los tipos I, II y III a partir de cepas de SARM y de discriminarlas de los SCNSM (anexo I y figura 2). El conjunto de cebadores elegido ofrece productos de amplificación de 176 pb para el SCCmec de tipo I, de 278 pb para el SCCmec de tipo II y de 223 pb para el SCCmec de tipo III, y permite la amplificación rápida por PCR. Estos

50 cebadores se utilizaron en PCR múltiplex para comprobar su ubicuidad y especificidad con 208 cepas de SARM, 252 cepas de SASM, 41 cepas de SCNRM y 21 cepas de SCNSM (tabla 12). La amplificación y la detección por PCR se realizó tal y como se describe en el ejemplo 1. Las reacciones de PCR se sometieron a continuación a un termociclado (3 minutos a 94 °C seguidos de 30 o 40 ciclos de 1 s a 95 °C para la etapa de desnaturalización y de

55 30 s a 60 °C para la etapa de hibridación-extensión y luego va seguida por una última extensión de 2 minutos a 72 °C) en un termociclador estándar (PTC-200 de MJ Research Inc.). La detección de los productos de PCR se realizó como se describe en el ejemplo 1.

Con este conjunto de cebadores (tabla 12) no se detectó ninguna de las cepas analizadas de SCNRM ni de SCNSM. Sin embargo, las 20 cepas de SARM que no se detectaron con el conjunto de cebadores desarrollado por Hiramatsu

et al. (SEQ ID n.º 56, 58 y 60) tampoco se detectaron con los cebadores desarrollados en la presente invención (tablas 3 y 12). Estos datos también demuestran que algunas cepas de SARM tienen secuencias en la unión del extremo derecho del SCCmec-cromosoma que son diferentes a las identificadas por Hiramatsu et al. De nuevo, como se observó con los cebadores de Hiramatsu, también se detectaron inespecíficamente 13 cepas de SARM (tabla 12). Queda por establecer la importancia clínica de este hallazgo porque estas cepas que parecen SARM podrían ser el resultado de una delección reciente del locus *mec* (Deplano et al., 2000, *J. Antimicrob. Chemotherapy*, 46: 617-619; Inglis et al., 1990, *J. Gen. Microbiol.* 136: 2231-2239; Inglis et al., 1993, *J. Infect. Dis.* 167: 323-328; Lawrence et al., 1996, *J. Hosp. Infect.*, 33: 49-53; Wada et al., 1991, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 176: 1319-1326).

10 EJEMPLO 3:

Desarrollo de un ensayo de PCR múltiplex en un termociclador estándar para detectar e identificar SARM basándose en las secuencias de los MREP de tipos i, ii, iii, iv y v. Tras el análisis de dos de los datos de secuencias de los nuevos MREP de tipos iv y v descritos en la presente invención, se diseñaron y usaron dos nuevos cebadores (SEQ ID n.º 79 y 80) en las múltiplex con los tres cebadores SEQ ID n.º 64, 66 y 67 descritos en el ejemplo 2. La amplificación por PCR y detección de los productos de PCR se realizó tal y como se describe en el ejemplo 2. Los análisis de sensibilidad realizados con diluciones decimales o a la mitad del ADN genómico purificado de diferentes cepas de SARM de cada tipo de MREP mostraron un límite de detección de 5 a 10 copias del genoma (tabla 16). Se realizaron pruebas de especificidad con 0,1 ng de ADN genómico purificado o 1 µl de una suspensión bacteriana estandarizada. Todas las cepas de SCNRM o de SCNSM analizadas dieron negativo con este ensayo múltiplex (tabla 17). De las 20 cepas de SARM que no se detectaron con la PCR múltiplex descritas en los ejemplos 1 y 2, ahora se detectaron 12 con este ensayo múltiplex. De nuevo, tal y como se observó con los cebadores de Hiramatsu, también se detectaron inespecíficamente las 13 cepas de SARM (tabla 12). Las ocho cepas de SARM (CCRI-9208, CCRI-9583, CCRI-9773, CCRI-9774, CCRI-9589, CCRI-9860, CCRI-9681, CCRI-9770) y que albergan las secuencias de MREP de los nuevos tipos vi, vii, viii, ix y x descritas en la presente invención permanecieron indetectables.

EJEMPLO 4:

Desarrollo de un ensayo de PCR múltiplex en tiempo real en el Smart Cycler® para detectar e identificar SARM basándose en las secuencias de los MREP de tipos i, ii, iii, iv y v. El ensayo de PCR múltiplex descrito en el ejemplo 3 que contiene los cebadores (SEQ ID n.º 64, 66, 67, 79 y 80) se adaptó a la plataforma Smart Cycler® (Cepheid). Se desarrolló una sonda fluorescente específica de la secuencia de *orfX* (SEQ ID n.º 84, véase el anexo II). Cada reacción de PCR contenía KCl a 50 mM, Tris-HCl a 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%, MgCl₂ a 3,5 mM, 0,4 µM de cada uno de los cebadores específicos de SCCmec y de *orfX* (SEQ ID n.º 64, 66, 67, 79 y 80), 0,2 µM de la sonda fluorescente marcada con FAM (SEQ ID n.º 84), 200 µM de cada uno de los cuatro dNTP, 3,3 µg/µl de SAB y 0,5 U de la polimerasa *Taq* unida al anticuerpo *TaqStart*™. La amplificación por PCR en el Smart Cycler® se realizó como sigue: 3 min a 94 °C para la desnaturalización inicial, luego 45 ciclos de tres etapas que consisten en 5 s a 95 °C para la etapa de desnaturalización, 15 s a 59 °C para la etapa de hibridación y 10 s a 72 °C para la etapa de extensión. La detección de la fluorescencia se realizó al final de cada etapa de hibridación. Los análisis de sensibilidad realizados con ADN genómico purificado de varias cepas de SARM de cada tipo de MREP mostraron un límite de detección de 2 a 10 copias del genoma (tabla 18). Ninguna de las SCNRM ni SCNSM dieron positivo con este ensayo múltiplex (tabla 19). De nuevo, como se observó con los cebadores de Hiramatsu, también se detectaron inespecíficamente 13 cepas de SARM. De las 20 cepas de SARM que no se detectaron con la PCR múltiplex descritas en los ejemplos 1 y 2, 12 sí se detectaron con este ensayo múltiplex. Tal y como se describe en el ejemplo 3, las ocho cepas de SARM que albergan las secuencias de MREP de los nuevos tipos vi, vii, viii, ix y x descritas en la presente invención permanecieron indetectables.

45 EJEMPLO 5:

Desarrollo de un ensayo de PCR múltiplex en tiempo real en el Smart Cycler® para detectar e identificar SARM basándose en las secuencias de los MREP de tipos i, ii, iii, iv y v que incluye un control interno. El ensayo de PCR múltiplex descrito en el ejemplo 4 que contiene los cebadores específicos para los MREP de tipos i a v y para el *orfX* de *S. aureus* (SEQ ID n.º 64, 66, 67, 79 y 80) y una sonda fluorescente específica de la secuencia de *orfX* (SEQ ID n.º 84, véase el anexo II) se optimizó para incluir un control interno que monitorice la inhibición de la PCR. Este control interno contiene secuencias complementarias a los cebadores específicos de *orfX* y del MREP de tipo iv (SEQ ID n.º 79 y 64). El ensayo también contiene una sonda fluorescente marcada con TET específica de una secuencia interna del amplicón generado por amplificación del control interno. Cada reacción de PCR contenía KCl a 50 mM, Tris-HCl a 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%, MgCl₂ a 3,45 mM, 0,8 µM de cada uno de los cebadores específicos de MREP (SEQ ID n.º 66 y 67) y del cebador específico de *orfX* (SEQ ID n.º 64), 0,4 µM de cada uno de los cebadores específicos de MREP (SEQ ID n.º 79 y 80), 80 copias del control interno, 0,2 µM de la sonda fluorescente marcada con TET específica del control interno, 0,2 µM de la sonda fluorescente marcada con FAM (SEQ ID n.º 84), 330 µM de cada uno de los cuatro dNTP (Pharmacia Biotech), 3,45 µg/µl de SAB (Sigma) y 0,875 U de la polimerasa *Taq* (Promega) unida al anticuerpo *TaqStart*™ (BD Biosciences). La amplificación por PCR en el Smart Cycler® se realizó como sigue: 3 min a 95 °C para la desnaturalización inicial, luego 48 ciclos de tres etapas que consisten en 5 s a 95 °C para la etapa de desnaturalización, 15 s a 60 °C para la etapa de hibridación y 15 s a 72 °C

para la etapa de extensión. Los análisis de sensibilidad realizados con ADN genómico purificado de una cepa de SARM para cada tipo de MREP (i a v) mostraron un límite de detección de 2 a 10 copias del genoma. Ninguna de las 26 SCNRM ni de las 10 SCNSM dieron positivo con este ensayo múltiplex. De nuevo, como se observó con los cebadores de Hiramatsu, también se detectaron inespecíficamente 13 cepas de SASM. Como se describe en los ejemplos 3 y 4, las ocho cepas de SARM que albergan las secuencias de MREP de los nuevos tipos vi a x descritas en la presente invención permanecieron indetectables.

EJEMPLO 6:

Detección de SARM mediante el ensayo múltiplex en tiempo real en el Smart Cycler® basándose en las secuencias de los MREP de tipos i, ii, iii, iv y v, directamente en los especímenes clínicos. El ensayo descrito en el ejemplo 5 se adaptó para la detección directa en los especímenes clínicos. Se analizaron en total 142 muestras nasales recogidas con torunda durante un programa de seguimiento hospitalario de SARM en el Hospital General de Montreal (Montreal, Quebec, Canadá). Las muestras de las torundas se analizaron en el Centre de Recherche en Infectiologie de la Universidad Laval en menos de 24 horas desde su recogida. Tras su recepción, las torundas se sembraron en placas de agar con manitol, y luego se preparó el material nasal de la misma torunda con un protocolo de preparación de especímenes simple y rápido descrito en la solicitud de patente de los EE.UU en tramitación con la presente n.º US 60/306 163. La identificación clásica de los SARM se realizó mediante métodos de cultivo estándares.

El ensayo de PCR descrito en el ejemplo 5 detectó 33 de las 34 muestras positivas para SARM basándose en el método de cultivo. En comparación con el cultivo, el ensayo de PCR detectó 8 especímenes positivos más de SARM para una sensibilidad de 97,1% y una especificidad del 92,6%. Este ensayo de PCR múltiplex representa un método rápido y poderoso para la detección específica de portadores de SARM directamente de especímenes nasales y se puede utilizar con cualquier tipo de especímenes clínicos tales como heridas, sangre o cultivo de sangre, LCR, etc.

EJEMPLO 7:

Desarrollo de un ensayo de PCR múltiplex en tiempo real en el Smart Cycler® para detectar e identificar SARM basándose en las secuencias de los MREP de tipos i, ii, iii, iv, v y vii. Tras el análisis de los datos de la secuencia del nuevo MREP de tipo vii descrito en la presente invención (SEQ ID n.º 165 y 166), se diseñaron dos nuevos cebadores (SEQ ID n.º 112 y 113) y se ensayaron en múltiplex con los tres cebadores SEQ ID n.º 64, 66, y 67 descritos en el ejemplo 2. Se seleccionó el cebador SEQ ID n.º 112 para uso en el múltiplex sobre la base de su sensibilidad. También se utilizaron en el múltiplex tres sondas fluorescentes (SEQ ID n.º 84, 163 y 164) específicas de la secuencia de *orfX* que permitieron detectar dos polimorfismos de secuencia identificados en esta región de la secuencia de *orfX*, basándose en el análisis de las SEQ ID n.º 173-186. Cada reacción de PCR contenía KCl a 50 mM, Tris-HCl a 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%, MgCl₂ a 3,45 mM, 0,8 µM de cada uno de los cebadores específicos de *SCCmec* (SEQ ID n.º 66 y 67) y del cebador específico de *orfX* (SEQ ID n.º 64), 0,4 µM de cada uno de los cebadores específicos de *SCCmec* (SEQ ID n.º 79 y 80), 0,2 µM de la sonda fluorescente marcada con FAM (SEQ ID n.º 84), 330 µM de cada uno de los cuatro dNTP (Pharmacia Biotech), 3,45 µg/µl de SAB (Sigma) y 0,875 U de la polimerasa *Taq* (Promega) unida al anticuerpo *TaqStart*TM (BD Biosciences). La amplificación por PCR en el Smart Cycler® se realizó como sigue: 3 min a 95 °C para la desnaturalización inicial, luego 48 ciclos de tres etapas que consisten en 5 s a 95 °C para la etapa de desnaturalización, 15 s a 60 °C para la etapa de hibridación y 15 s a 72 °C para la etapa de extensión. La detección de la fluorescencia se realizó al final de cada etapa de hibridación. Las pruebas de sensibilidad realizadas con ADN genómico purificado de varias cepas de SARM de cada tipo de MREP mostraron un límite de detección de 2 copias del genoma (tabla 20). Ninguna de las 26 SCNRM ni de las 8 SCNSM dieron positivo con este ensayo múltiplex. De nuevo, como se observó con los cebadores de Hiramatsu, también se detectaron 13 cepas de SASM inespecíficamente (tabla 21). Cuatro de las cepas que no se detectaron con el ensayo múltiplex para la detección de MREP de los tipos i a v se detectaron ahora con este ensayo múltiplex, mientras que permanecieron indetectables las cuatro cepas de SARM (CCRI-9208, CCRI-9770, CCRI-9681, CCRI-9860) que albergan MREP de los tipos vi, viii, ix y x descritos en la presente invención.

EJEMPLO 8:

Desarrollo de los ensayos de PCR en tiempo real en el Smart Cycler® para detectar e identificar SARM basándose en los MREP de tipos vi, viii, ix. Tras el análisis de los datos de secuencia de los nuevos MREP de tipos vi, viii y ix descritos en la presente invención, se diseñaron dos nuevos cebadores específicos del MREP de tipo vi (SEQ ID n.º 202 y 204), un cebador específico del MREP de tipo viii (SEQ ID n.º 116), un cebador específico del MREP de tipo ix (SEQ ID n.º 109) y un cebador específico de los MREP de tipos viii y ix (SEQ ID n.º 115). Cada cebador para PCR se utilizó en combinación con el cebador específico de *orfX* (SEQ ID n.º 64) y se analizó frente a su cepa diana específica. Cada reacción de PCR contenía KCl a 50 mM, Tris-HCl a 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%, MgCl₂ a 3,45 mM, 0,4 µM de cada uno de los cebadores específicos de *SCCmec* y de *orfX*, 200 µM de cada uno de los cuatro dNTP, 3,4 µg/µl de SAB, y 0,875 U de la polimerasa *Taq* unida al anticuerpo *TaqStart*TM. La amplificación por PCR se realizó como se describe en el ejemplo 7. Los análisis de sensibilidad realizados con ADN genómico purificado de sus respectivas cepas diana de SARM demostraron que la mejor combinación de parejas de cebadores eran SEQ ID n.º 64 y 115 para la detección de los MREP de tipos viii y ix simultáneamente. Estos nuevos cebadores específicos de *SCCmec* se pueden utilizar en múltiplex con cebadores específicos de MREP de los tipos

i, ii, iii, iv, v y vii (SEQ ID n.º 64, 66, 67, 79 y 80) descritos en los ejemplos anteriores para proporcionar un ensayo de SARM más ubicuo.

En conclusión, hemos mejorado la ubicuidad de la detección de las cepas de SARM. Se han identificado nuevos MREJ de tipos iv a x. Entre las cepas representativas de estos nuevos tipos, los cebadores y/o sondas de Hiramitsu conseguían detectar menos del 50% de los mismos. Por consiguiente, hemos pasado ampliamente la barra de una ubicuidad de al menos el 50%, porque nuestros cebadores y sondas se diseñaron para detectar el 100% de las cepas analizadas como representantes de los MREJ de tipos iv a ix. Por consiguiente, aunque la ubicuidad depende del grupo de cepas y representantes que están analizándose, ahora sabemos que acercarse a una ubicuidad del 100% es un objetivo alcanzable, cuando se utilizan las secuencias de las uniones en el extremo derecho (MREJ) para diseñar sondas y cebadores que se ocupen del polimorfismo en esta región. Según cuántos tipos desconocidos de MREJ existan, tenemos un margen de maniobra que va del 50% (más alto que para los cebadores de Hiramitsu con las cepas analizadas) al 100% si secuenciamos todas las MREJ existentes para diseñar de manera adecuada las herramientas y métodos diagnósticos presentes, siguiendo las enseñanzas anteriores.

Tabla 1. Cebadores para amplificación por PCR descritos por Hiramitsu et al. en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 encontrados en el listado de secuencias.

SEQ ID n.º (presente invención)	Diana	Posición ^{a,b}	SEQ ID n.º (patente de los EE.UU. n.º 6 156 507)
52	MREP de los tipos i y ii	480	18
53	MREP de los tipos i y ii	758	19
54	MREP de los tipos i y ii	927	20
55	MREP de los tipos i y ii	1154	21
56	MREP de los tipos i y ii	1755	22
57	MREP de los tipos i y ii	2302	23
58	MREP del tipo iii	295 ^c	24
59	<i>orfX</i>	1664	25
60	<i>orfSA0022</i> ^d	3267	28
61	<i>orfSA0022</i> ^d	3585	27
62	<i>orfX</i>	1389	26
63	<i>orfSA0022</i> ^d	2957	29

^a Posición hace referencia a la posición del nucleótido del extremo 5' del cebador.

^b La numeración para las SEQ ID n.º 52-57 usa de referencia la SEQ ID n.º 2; la numeración para la SEQ ID n.º 58 usa de referencia la SEQ ID n.º 4; la numeración para las SEQ ID n.º 59-63 usa de referencia la SEQ ID n.º 3.

^c El cebador es el complemento inverso de la secuencia diana.

^d *orfSA0022* hace referencia a la designación del marco abierto de lectura del número de acceso de GenBank AP003129 (SEQ ID n.º 231).

Tabla 2. Análisis de especificidad y ubicuidad realizados en un termociclador estándar con el conjunto óptimo de cebadores descritos por Hiramitsu et al. (SEQ ID n.º 22, 24 y 28 en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 que corresponden a las SEQ ID n.º 56, 58 y 60, respectivamente, en la presente invención) para la detección de SARM.

Cepas	Resultados de la PCR para la unión en el extremo derecho de <i>SCCmec-orfX</i>	
	Positivas (%)	Negativas (%)
SARM – 39 cepas	19 (48,7)	20 (51,2)
SASM – 41 cepas	13 (31,7)	28 (68,3)
SCNRM – 9 cepas*	0 (0%)	9 (100%)
SCNSM – 11 cepas*	0 (0%)	11 (100%)

* Detalles referentes a las cepas de SCN:

SCNRM: *S. caprae* (1)

S. cohnii cohnii (1)

	<i>S. epidermidis</i> (1)
	<i>S. haemolyticus</i> (2)
	<i>S. hominis</i> (1)
	<i>S. sciuri</i> (1)
5	<i>S. simulans</i> (1)
	<i>S. warneri</i> (1)
SCNSM:	<i>S. cohnii cohnii</i> (1)
	<i>S. epidermidis</i> (1)
	<i>S. equorum</i> (1)
10	<i>S. gallinarum</i> (1)
	<i>S. haemolyticus</i> (1)
	<i>S. lentus</i> (1)
	<i>S. lugdunensis</i> (1)
	<i>S. sachharolyticus</i> (1)
15	<i>S. saprophyticus</i> (2)
	<i>S. xylosus</i> (1)

Tabla 3. Origen de cepas de SARM que no se amplifican con los cebadores desarrollados por Hiramatsu et al. (SEQ ID n.º 22, 24 y 28 en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507 que corresponden a las SEQ ID n.º 56, 58 y 60, respectivamente, en la presente invención) así como con los cebadores desarrollados en la presente invención que están dirigidos selectivamente a los MREP de tipos i, ii y iii (SEQ ID n.º 64, 66 y 67).

Denominación de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> :		Origen
Original	CCRI ^a	
ATCC BAA-40 ^b	CCRI-9504	Portugal
ATCC 33592	CCRI-178	EE.UU.
R991282	CCRI-2025	Quebec, Canadá
4508	CCRI-9208	Quebec, Canadá
19121	CCRI-8895	Dinamarca
Z109	CCRI-8903	Dinamarca
45302	CCRI-1263	Ontario, Canadá
R655	CCRI-1324	Quebec, Canadá
MA 50428	CCRI-1311	Quebec, Canadá
MA 50609	CCRI-1312	Quebec, Canadá
MA 51363	CCRI-1331	Quebec, Canadá
MA 51561	CCRI-1325	Quebec, Canadá
14A0116	CCRI-9681	Polonia
23 (CCUG 41787)	CCRI-9860	Suecia
SE26-1	CCRI-9770	Ontario, Canadá
SE1-1	CCRI-9583	Ontario, Canadá
ID-61880 ^c	CCRI-9589	Ontario, Canadá
SE47-1	CCRI-9773	Ontario, Canadá
SE49-1	CCRI-9774	Ontario, Canadá

39795-2

CCRI-1377

Quebec, Canadá

^a CCRI significa «Collection of the Centre de Recherche en Infectiologie».^b Clon portugués.^c Clon canadiense EMRSA1.**Tabla 4. Secuencias nucleotídicas de MREJ de *Staphylococcus aureus*.**

SEQ ID n.º	Denominación de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> :		Diana genética
	Original	CCRI ^a	
27	R991282	CCRI-2025	<i>mecA</i>
28	45302	CCRI-1263	<i>mecA</i>
29	MA 50428	CCRI-1311	<i>mecA</i>
30	MA 51363	CCRI-1331	<i>mecA</i>
31	39795-2	CCRI-1377	<i>mecA</i> y 1,5 kb de la región secuencia abajo
42	ATCC 33592	CCRI-178	MREP de tipo iv
43	19121	CCRI-8895	MREP de tipo iv
44	Z109	CCRI-8903	MREP de tipo iv
45	R655	CCRI-1324	MREP de tipo iv
46	MA 51363	CCRI-1331	MREP de tipo iv
47	45302	CCRI-1263	MREP de tipo v
48	39795-2	CCRI-1377	MREP de tipo v
49	MA 50428	CCRI-1311	MREP de tipo v
50	R991282	CCRI-2025	MREP de tipo v
51	ATCC BAA-40	CCRI-9504	MREP de tipo iv
165	SE1-1	CCRI-9583	MREP de tipo vii
166	ID-61880	CCRI-9589	MREP de tipo vii
167	23 (CCUG 41787)	CCRI-9860	MREP de tipo viii
168	14A016	CCRI-9681	MREP de tipo ix
171	4508	CCRI-9208	MREP de tipo vi
172	SE26-1	CCRI-9770	<i>orfSA0021</i> ^b y 75 pb de <i>orfSA0022</i> ^b
173	26 (98/10618)	CCRI-9864	MREP de tipo ii
174	27 (98/26821)	CCRI-9865	MREP de tipo ii
175	28 (24344)	CCRI-9866	MREP de tipo ii
176	12 (62305)	CCRI-9867	MREP de tipo ii
177	22 (90/14719)	CCRI-9868	MREP de tipo ii
178	23 (98/14719)	CCRI-9869	MREP de tipo ii
179	32 (97S99)	CCRI-9871	MREP de tipo ii
180	33 (97S100)	CCRI-9872	MREP de tipo ii
181	38 (825/96)	CCRI-9873	MREP de tipo ii
182	39 (842/96)	CCRI-9874	MREP de tipo ii
183	43 (N8-892/99)	CCRI-9875	MREP de tipo ii
184	46 (9805-0137)	CCRI-9876	MREP de tipo iii
185	1	CCRI-9882	MREP de tipo ii

186	29	CCRI-9885	MREP de tipo ii
189	SE1-1	CCRI-9583	<i>mecA</i> y 2,2 kb de la región cadena abajo, que incluye IS431 <i>mec</i>
190	ATCC BAA-40	CCRI-9504	<i>mecA</i> y 1,5 kb de la región cadena abajo
191	4508	CCRI-9208	<i>mecA</i> y 0,9 kb de la región cadena abajo
192	ID-61880	CCRI-9589	<i>mecA</i> y 0,9 kb de la región cadena abajo
193	14A016	CCRI-9681	<i>mecA</i> y 0,9 kb de la región cadena abajo
195	SE26-1	CCRI-9770	<i>mecA</i> y 1,5 kb de la región cadena abajo, que incluye IS431 <i>mec</i>
197	ATCC 43300	CCRI-175	MREP de tipo ii
198	R522	CCRI-1262	MREP de tipo iii
199	13370	CCRI-8894	MREP de tipo i
219	ATCC BAA-40	CCRI-9504	<i>tetK</i>
220	MA 51363	CCRI-1331	<i>mecA</i> y 1,5 kb de la región cadena abajo
221	39795-2	CCRI-1377	IS431 <i>mec</i> y 0,6 kb de la región cadena arriba
222	R991282	CCRI-2025	<i>mecA</i> y 1,5 kb de la región cadena abajo
223	R991282	CCRI-2025	IS431 <i>mec</i> y 0,6 kb de la región cadena arriba
224	23 (CCUG 41787)	CCRI-9860	<i>mecA</i> y 1,5 kb de la región cadena abajo
225	23 (CCUG 41787)	CCRI-9860	IS431 <i>mec</i> y 0,6 kb de región cadena arriba
233	14A016	CCRI-9681	MREP de tipo ix

^a CCRI significa «Collection of the Centre de Recherche en Infectiologie».

^b *orfS0021* y *orfSA0022* hacen referencia a la designación del marco abierto de lectura del número de acceso de GenBank AP003129 (SEQ ID n.º 231).

Tabla 5. Cebadores para PCR desarrollados

SEQ ID n.º	Diana	ADN de origen	
		Posición ^a	SEQ ID n.º
64	<i>orfX</i>	1720	3
70	<i>orfX</i>	1796	3
71	<i>orfX</i>	1712	3
72	<i>orfX</i>	1749	3
73	<i>orfX</i>	1758	3
74	<i>orfX</i>	1794	3
75	<i>orfX</i>	1797	3
76	<i>orfX</i>	1798	3
66	MREP de tipos i y ii	2327	2
100	MREP de tipos i y ii	2323	2
101	MREP de tipos i y ii	2314	2

97	MREP de tipo ii	2434	2
99	MREP de tipo ii	2434	2
67	MREP de tipo iii	207 ^b	4
98	MREP de tipo iii	147 ^b	4
102	MREP de tipo iii	251 ^b	4
79	MREP de tipo iv	74 ^b	43
80	MREP de tipo v	50 ^b	47
109	MREP de tipo ix	652 ^b	168
204	MREP de tipo vi	642 ^b	171
112	MREP de tipo vii	503 ^b	165
113	MREP de tipo vii	551 ^b	165
115	MREP de tipo viii y ix	514 ^b	167
116	MREP de tipo viii	601 ^b	167

^a Posición usa de referencia la posición del nucleótido del extremo 5' del cebador.

^b El cebador es el complemento inverso de la secuencia diana.

Tabla 6. Sondas fluorescentes desarrolladas

SEQ ID n.º	Diana	Posición
32	<i>orfX</i>	86 ^a
83	<i>orfX</i>	86 ^a
84	<i>orfX</i>	34 ^{a,b}
160	<i>orfX</i>	55 ^{a,b}
161	<i>orfX</i>	34 ^{a,b}
162	<i>orfX</i>	114 ^a
163	<i>orfX</i>	34 ^{a,b}
164	<i>orfX</i>	34 ^{a,b}

^a Posición usa de referencia la posición del nucleótido del extremo 5' del bucle de la sonda fluorescente en la SEQ ID n.º 3.

^b La secuencia del bucle de la sonda fluorescente es el complemento inverso de la SEQ ID n.º 3.

Tabla 7. Longitud de los amplicones obtenidos con las diferentes parejas de cebadores.

SEQ ID n.º	Diana ^a	Longitud del amplicón ^a
59/52 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	2079 (tipo i); 2181 (tipo ii)
59/53 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	1801 (tipo i); 1903 (tipo ii)
59/54 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	1632 (tipo i); 1734 (tipo ii)
59/55 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	1405 (tipo i); 1507 (tipo ii)
59/56 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	804 (tipo i); 906 (tipo ii)
59/57 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	257 (tipo i); 359 (tipo ii)
60/52 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2794 (tipo i); 2896 (tipo ii)
60/53 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2516 (tipo i); 2618 (tipo ii)
60/54 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2347 (tipo i); 2449 (tipo ii)
60/55 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2120 (tipo i); 2222 (tipo ii)
60/56 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	1519 (tipo i); 1621 (tipo ii)
60/57 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	972 (tipo i); 1074 (tipo ii)

61/52 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2476 (tipo i); 2578 (tipo ii)
61/53 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2198 (tipo i); 2300 (tipo ii)
61/54 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2029 (tipo i); 2131 (tipo ii)
61/55 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	1802 (tipo i); 1904 (tipo ii)
61/56 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	1201 (tipo i); 1302 (tipo ii)
61/57 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	654 (tipo i); 756 (tipo ii)
62/52 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	2354 (tipo i); 2456 (tipo ii)
62/53 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	2076 (tipo i); 2178 (tipo ii)
62/54 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	1907 (tipo i); 2009 (tipo ii)
62/55 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	1680 (tipo i); 1782 (tipo ii)
62/56 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	1079 (tipo i); 1181 (tipo ii)
62/57 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	532 (tipo i); 634 (tipo ii)
63/52 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	3104 (tipo i); 3206 (tipo ii)
63/53 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2826 (de tipo i); 2928 (tipo ii)
63/54 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2657 (tipo i); 2759 (tipo ii)
63/55 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2430 (tipo i); 2532 (tipo ii)
63/56 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	1829 (tipo i); 1931 (tipo ii)
63/57 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	1282 (tipo i); 1384 (tipo ii)
59/58 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipo iii	361
60/58 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipo iii	1076
61/58 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipo iii	758
62/58 ^b	<i>orfX</i> /MREP de tipo iii	656
63/58 ^b	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipo iii	1386
70/66	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	100 (tipo i); 202 (tipo ii)
70/67	<i>orfX</i> /MREP de tipo iii	147 (tipo iii)
64/66 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	176 (tipo i), 278 (tipo ii)
64/67 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo iii	223
64/79 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo iv	215
64/80 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo v	196
64/97 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo ii	171
64/98 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo iii	163
64/99 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo ii	171
64/100 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	180 (tipo i); 282 (tipo ii)
64/101 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	189 (tipo i); 291 (tipo ii)
64/102 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo iii	263
64/109 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo ix	369
64/204 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo vi	348
64/112 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo vii	214
64/113 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo vii	263
64/115 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo viii	227
64/116 ^c	<i>orfX</i> /MREP de tipo viii	318

^a La longitud del amplicón se da en pares de bases para los tipos de MREP amplificados por el conjunto de cebadores.

^b Conjunto de cebadores descritos por Hiramatsu et al. en la patente de los EE.UU. n.º 6 156 507.

^c Conjunto de cebadores desarrollados en la presente memoria.

^d *orfSA0022* hace referencia a la designación del marco abierto de lectura del número de acceso de GenBank AP003129 (SEQ ID n.º 231).

5 **Tabla 8. Otros cebadores desarrollados**

SEQ ID n.º	Diana	ADN de origen	
		Posición ^a	SEQ ID n.º
77	MREP de tipo iv	993	43
65	MREP de tipo v	636	47
70	<i>orfX</i>	1796	3
68	<i>IS431</i>	626	92
69	<i>mecA</i>	1059	78
96	<i>mecA</i>	1949	78
81	<i>mecA</i>	1206	78
114	MREP de tipo vii	629 ^b	165
117	MREP de tipo ii	856	194
118	MREP de tipo ii	974 ^b	194
119	MREP de tipo vii	404	189
120	MREP de tipo vii	477 ^b	189
123	MREP de tipo vii	551	165
124	MREP de tipo ii	584	170
125	MREP de tipo ii	689 ^b	170
126	<i>orfSA0021</i>	336	231
127	<i>orfSA0021</i>	563	231
128	<i>orfSA0022</i> ^d	2993	231
129	<i>orfSA0022</i> ^d	3467 ^b	231
132	<i>orfX</i>	3700	231
145	MREP de tipo iv	988	51
146	MREP de tipo v	1386	51
147	MREP de tipo iv	891 ^b	51
148	MREP de tipo ix	664	168
149	MREP de tipo ix	849 ^b	168
150	MREP de tipo vii	1117 ^b	165
151	MREP de tipo vii	1473	189
152	<i>IS431mec</i>	1592 ^b	189
154	MREP de tipo v	996 ^b	50
155	MREP de tipo v	935	50
156	<i>tetK</i> del plásmido pT181	1169 ^b	228
157	<i>tetK</i> del plásmido pT181	136	228
158	<i>orfX</i>	2714 ^b	2
159	<i>orfX</i>	2539	2
187	MREP de tipo viii	967 ^b	167

188

MREP de tipo viii

851

167

^a Posición usa de referencia la posición del nucleótido del extremo 5' del cebador.

^b El cebador es el complemento inverso de la secuencia diana.

Tabla 9. Cebadores para amplificación y/o secuenciación desarrollados

		ADN de origen	
SEQ ID n.º	Diana	Posición ^a	SEQ ID n.º
85	Cromosoma de <i>S. aureus</i>	197 ^b	35
86	Cromosoma de <i>S. aureus</i>	198 ^b	37
87	Cromosoma de <i>S. aureus</i>	197 ^b	38
88	Cromosoma de <i>S. aureus</i>	1265 ^b	39
89	Cromosoma de <i>S. aureus</i>	1892	3
103	<i>orfX</i>	1386	3
105	MREP de tipo i	2335	2
106	MREP de tipo ii	2437	2
107	MREP de tipo iii	153 ^b	4
108	MREP de tipo iii	153 ^b	4
121	MREP de tipo vii	1150	165
122	MREP de tipo vii	1241 ^b	165
130	<i>orfX</i>	4029 ^b	231
131	Región entre <i>orfSA0022</i> y <i>orfSA0023</i> ^d	3588	231
133	<i>merB</i> del plásmido pI258	262	226
134	<i>merB</i> del plásmido pI258	539 ^b	226
135	<i>merR</i> del plásmido pI258	564	226
136	<i>merR</i> del plásmido pI258	444	227
137	<i>merR</i> del plásmido pI258	529	227
138	<i>merR</i> del plásmido pI258	530 ^b	227
139	<i>rep</i> del plásmido pUB110	796	230
140	<i>rep</i> del plásmido pUB110	761 ^b	230
141	<i>rep</i> del plásmido pUB110	600	230
142	<i>aaaD</i> del plásmido pUB110	1320 ^b	229
143	<i>aaaD</i> del plásmido pUB110	759	229
144	<i>aaaD</i> del plásmido pUB110	646	229
153	MREP de tipo vii	1030	165
200	<i>orfSA0022</i> ^d	871 ^c	231
201	<i>orfSA0022</i> ^d	1006	231
202	MREP de tipo vi	648	171
203	MREP de tipo vi	883 ^b	171
205	MREP de tipo ix	1180	168
206	MREP de tipo ix	1311 ^b	233
207	MREP de tipo viii	1337	167
208	MREP de tipo viii	1441 ^b	167
209	<i>ccrA</i>	184	232

210	<i>ccrA</i>	385	232
211	<i>ccrA</i>	643 ^b	232
212	<i>ccrA</i>	1282 ^b	232
213	<i>ccrB</i>	1388	232
214	<i>ccrB</i>	1601	232
215	<i>ccrB</i>	2139 ^b	232
216	<i>ccrB</i>	2199 ^b	232
217	<i>ccrB</i>	2847 ^b	232
218	<i>ccrB</i>	2946 ^b	232

^a Posición usa de referencia la posición del nucleótido del extremo 5' de cebador.

^b El cebador es el complemento inverso de la secuencia diana.

^c El cebador contiene dos discordancias.

^d *orfSA0022* y *orfSA0023* hacen referencia a la designación del marco abierto de lectura del número de acceso de GenBank AP003219 (SEQ ID n.º 231).

Tabla 10. Origen de los ácidos nucleicos y/o las secuencias disponibles en las bases de datos públicas que se encuentran en el listado de secuencias

SEQ ID n.º	Cepa de <i>Staphylococcus</i>	Fuente	Número de acceso	Diana genética ^{a,b}
1	NCTC 10442	Base de datos	AB033763	MREJ de tipo I de <i>SCCmec</i>
2	N315	Base de datos	D86934	MREJ de tipo II de <i>SCCmec</i>
3	NCTC 8325	Base de datos	AB014440	Cromosoma de SASM
4	86/560	Base de datos	AB013471	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
5	86/961	Base de datos	AB013472	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
6	85/3907	Base de datos	AB013473	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
7	86/2652	Base de datos	AB013474	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
8	86/1340	Base de datos	AB013475	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
9	86/1762	Base de datos	AB013476	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
10	86/2082	Base de datos	AB013477	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
11	85/2111	Base de datos	AB013478	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
12	85/5495	Base de datos	AB013479	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
13	85/1836	Base de datos	AB013480	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
14	85/2147	Base de datos	AB013481	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
15	85/3619	Base de datos	AB013482	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
16	85/3566	Base de datos	AB013483	MREJ de tipo III de <i>SCCmec</i>
17	85/2232	Base de datos	AB014402	MREJ de tipo II de <i>SCCmec</i>
18	85/2235	Base de datos	AB014403	MREJ de tipo II de <i>SCCmec</i>
19	MR108	Base de datos	AB014404	MREJ de tipo II de <i>SCCmec</i>
20	85/9302	Base de datos	AB014430	MREJ de tipo I de <i>SCCmec</i>
21	85/9580	Base de datos	AB014431	MREJ de tipo I de <i>SCCmec</i>
22	85/1940	Base de datos	AB014432	MREJ de tipo I de <i>SCCmec</i>
23	85/6219	Base de datos	AB014433	MREJ de tipo I de <i>SCCmec</i>
24	64/4176	Base de datos	AB014434	MREJ de tipo I de <i>SCCmec</i>
25	64/3846	Base de datos	AB014435	MREJ de tipo I de <i>SCCmec</i>

26	HUC19	Base de datos	AF181950	MREJ de tipo II de SCCmec
33	G3	Patente de los EE.UU. SEQ ID n.º 15 n.º 6 156 507		MREJ de tipo II de SCCmec de <i>S. epidermidis</i>
34	SH 518	Patente de los EE.UU. SEQ ID n.º 16 n.º 6 156 507		MREJ de tipo II de SCCmec de <i>S. haemolyticus</i>
35	ATCC 25923	Patente de los EE.UU. SEQ ID n.º 9 n.º 6 156 507		Cromosoma de <i>S. aureus</i>
36	STP23	Patente de los EE.UU. SEQ ID n.º 10 n.º 6 156 507		Cromosoma de <i>S. aureus</i>
37	STP43	Patente de los EE.UU. SEQ ID n.º 12 n.º 6 156 507		Cromosoma de <i>S. aureus</i>
38	STP53	Patente de los EE.UU. SEQ ID n.º 13 n.º 6 156 507		Cromosoma de <i>S. aureus</i>
39	476	Proyecto Genoma ^c		Cromosoma de <i>S. aureus</i>
40	252	Proyecto Genoma ^c		MREJ de tipo II de SCCmec
41	COL	Proyecto Genoma ^d		MREJ de tipo I de SCCmec
78	NCTC 8325	Base de datos	X52593	<i>mecA</i>
82	NCTC 10442	Base de datos	AB033763	<i>mecA</i>
90	N315	Base de datos	D86934	<i>mecA</i>
91	85/2082	Base de datos	AB037671	<i>mecA</i>
92	NCTC 10442	Base de datos	AB033763	IS431
93	N315	Base de datos	D86934	IS431
94	HUC19	Base de datos	AF181950	IS431
95	NCTC 8325	Base de datos	X53818	IS431
104	85/2082	Base de datos	AB037671	MREJ de tipo III de SCCmec
226	Desconocido	Base de datos	L29436	<i>merB</i> en el plásmido pI258
227	Desconocido	Base de datos	L29436	<i>merR</i> en el plásmido pI258
228	Desconocido	Base de datos	S67449	<i>tetK</i> en el plásmido pT181
229	HUC19	Base de datos	AF181950	<i>aadD</i> en el plásmido pUB110
230	HUC19	Base de datos	AF181950	<i>rep</i> en el plásmido pUB110
231	N315	Base de datos	AP003129	<i>orfSA0021</i> , <i>orfSA0022</i> , <i>orfSA0023</i>
232	85/2082	Base de datos	AB037671	<i>ccrA/ccrB</i>

^a MREJ se refiere a la unión en el extremo derecho de *mec* e incluye secuencias del extremo derecho de SSCmec y del ADN cromosómico a la derecha del sitio de integración de SCCmec.

^b A menos que se especifique de otra manera, todas las secuencias se obtuvieron de cepas de *S. aureus*.

^c Proyecto Genoma del Instituto Sanger (<http://www.sanger.ac.uk>).

5 ^d Proyecto Genoma del TIGR (<http://www.tigr.org>).

Tabla 11. Sensibilidad analítica del ensayo de PCR específico de SARM que está dirigido selectivamente a los MREP de tipos i, ii y iii en un termociclador estándar con el conjunto de cebadores desarrollado en la presente invención (SEQ ID n.º 64, 66 y 67).

Denominación de la cepa:		Límite de detección (número de copias del genoma)
Original	CCRI ^a (tipo de MREP)	
13370	CCRI-8894 (I)	5
ATCC 43300	CCRI-175 (II)	2
35290	CCRI-1262 (III)	2

^a CCRI hace referencia a «Collection of the Centre de Recherche en Infectiologie».

Tabla 12. Pruebas de especificidad y ubicuidad realizadas en un termociclador estándar con el conjunto de cebadores que están dirigidos selectivamente a los MREP de tipos i, ii y iii desarrollados en la presente invención (SEQ ID n.º 64, 66 y 67) para la detección de SARM

Cepas	Resultados de la PCR para MREJ	
	Positivo (%)	Negativo (%)
SARM – 208 cepas	188 (90,4)	20 (9,6)
SASM – 252 cepas	13 (5,2)	239 (94,8)
SCNRM – 41 cepas*	0	42 (100)
SCNSM – 21 cepas*	0	21 (100)

5 *Detalles referentes a las cepas de SCN:

10	SCNRM:	<i>S. caprae</i> (2)
		<i>S. cohnii cohnii</i> (3)
		<i>S. cohnii urealyticum</i> (4)
		<i>S. epidermidis</i> (8)
		<i>S. haemolyticus</i> (9)
		<i>S. hominis</i> (4)
		<i>S. sciuri</i> (4)
		<i>S. sciuri sciuri</i> (1)
		<i>S. simulans</i> (3)
		<i>S. warneri</i> (3)
20	SCNSM:	<i>S. cohnii cohnii</i> (1)
		<i>S. epidermidis</i> (3)
		<i>S. equorum</i> (2)
		<i>S. felis</i> (1)
		<i>S. gallinarum</i> (1)
		<i>S. haemolyticus</i> (1)
		<i>S. hominis</i> (1)
		<i>S. lentus</i> (1)
		<i>S. lugdunensis</i> (1)
		<i>S. sachharolyticus</i> (1)
25		<i>S. saprophyticus</i> (5)
		<i>S. simulans</i> (1)
		<i>S. warneri</i> (1)
		<i>S. xylosus</i> (1)

30

Tabla 13. Porcentaje de la identidad de secuencia para los primeros 500 nucleótidos del extremo derecho de los SCCmec entre los 9 tipos de MREP^{a,b}

Tipo de MREP	i	ii	iii	iv	v	vi	vii	viii	ix
i	–	79,2	42,8	42,8	41,2	44,4	44,6	42,3	42,1
ii			43,9	47,5	44,7	41,7	45,0	52,0	57,1
iii				46,8	44,5	42,9	45,0	42,8	45,2
iv					45,8	41,4	44,3	48,0	41,3
v						45,4	43,7	47,5	44,3
vi							45,1	41,1	47,2
vii								42,8	40,9
viii									55,2
ix									–

^a «Primeros 500 nucleótidos» hace referencia a los 500 nucleótidos dentro del extremo derecho de SCCmec, y que comienzan en el sitio de integración de SCCmec en el cromosoma de *Staphylococcus aureus* tal y como se muestra en la figura 4.

^b Las secuencias se extrajeron de las SEQ ID n.º 1, 2, 104, 51, 50, 171, 165, 167 y 168 para los tipos i a ix, respectivamente.

Tabla 14. Cepas de referencia utilizadas para analizar la sensibilidad y/o especificidad y/o ubicuidad de los ensayos de PCR específicos de SARM que están dirigidos selectivamente a secuencias de MREJ

Especie de <i>Staphylococcus</i>	Cepas	Fuente ^a
SASM (n = 45)	33591	ATCC
	33592	ATCC
	33593	ATCC
	BAA-38	ATCC
	BAA-39	ATCC
	BAA-40	ATCC
	BAA-41	ATCC
	BAA-42	ATCC
	BAA-43	ATCC
	BAA-44	ATCC
	F182	CDC
	23 (CCUG 41787)	Colección HARMONY
	ID-61880 (EMRSA1)	LSPQ
	MA 8628	LSPQ
	MA 50558	LSPQ
	MA 50428	LSPQ
	MA 50609	LSPQ
	MA 50884	LSPQ
	MA 50892	LSPQ
	MA 50934	LSPQ
	MA 51015	LSPQ
	MA 51056	LSPQ
	MA 51085	LSPQ

	MA 51172	LSPQ
	MA 51222	LSPQ
	MA 51363	LSPQ
	MA 51561	LSPQ
	MA 52034	LSPQ
	MA 52306	LSPQ
	MA 51520	LSPQ
	MA 51363	LSPQ
	98/10618	Colección HARMONY
	98/26821	Colección HARMONY
	24344	Colección HARMONY
	62305	Colección HARMONY
	90/10685	Colección HARMONY
	98/14719	Colección HARMONY
	97S99	Colección HARMONY
	97S100	Colección HARMONY
	825/96	Colección HARMONY
	842/96	Colección HARMONY
	N8-890/99	Colección HARMONY
	9805-01937	Colección HARMONY
	1	Kreiswirth-1
	29	Kreiswirth-1
SCNRM (n = 4)	29060	ATCC
	35983	ATCC
	35984	ATCC
	2514	LSPQ
SASM (n = 28)	MA 52263	LSPQ
	6538	ATCC
	13301	ATCC
	25923	ATCC
	27660	ATCC
	29213	ATCC
	29247	ATCC
	29737	ATCC
	RN 11	CDC
	RN 3944	CDC
	RN 2442	CDC
	7605060113	CDC
	BM 4611	Instituto Pasteur
	BM 3093	Instituto Pasteur
	3511	LSPQ
	MA 5091	LSPQ
	MA 8849	LSPQ

SCNSM (n = 17)	MA 8871	LSPQ
	MA 50607	LSPQ
	MA 50612	LSPQ
	MA 50848	LSPQ
	MA 51237	LSPQ
	MA 51351	LSPQ
	MA 52303	LSPQ
	MA 51828	LSPQ
	MA 51891	LSPQ
	MA 51504	LSPQ
	MA 52535	LSPQ
	MA 52783	LSPQ
	12228	ATCC
	14953	ATCC
	14990	ATCC
	15305	ATCC
	27836	ATCC
	27848	ATCC
	29070	ATCC
	29970	ATCC
	29974	ATCC
	35539	ATCC
	35552	ATCC
	35844	ATCC
	35982	ATCC
	43809	ATCC
	43867	ATCC
	43958	ATCC
	49168	ATCC

^a ATCC hace referencia a «American Type Culture Collection».

LSPQ hace referencia a «Laboratorio de Salud Pública de Quebec».

CDC hace referencia a «Centros para la Prevención y el Control de Enfermedades» (por su nombre en inglés).

5 Tabla 15. Aislados clínicos utilizados para analizar la sensibilidad y/o especificidad y/o ubicuidad de los ensayos de PCR específicos de SARM que están dirigidos selectivamente a las secuencias de MREJ.

Especie de <i>Staphylococcus</i>	Número de cepas	Fuente
SARM (n = 177)	150	Canadá
	10	China
	10	Dinamarca
	9	Argentina
	1	Egipto
	1	Suecia
	1	Polonia

	3	Japón
	1	Francia
	208	Canadá
	10	China
SASM (n = 224)	4	Japón
	1	EE.UU.
	1	Argentina
	32	Canadá
	3	China
SCNRM (n = 38)	1	Francia
	1	Argentina
	1	EE.UU.
SCNSM (n = 17)	14	Reino Unido
	3	Canadá

Tabla 16. Sensibilidad analítica de las pruebas realizadas en un termociclador estándar con el conjunto de cebadores que están dirigidos selectivamente a los MREP de tipos i, ii, iii, iv y v (SEQ ID n.º 64, 66, 67, 79 y 80) desarrollados en la presente invención para la detección y la identificación de SARM.

Denominación de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> :		Límite de detección (número de copias del genoma)
Original	CCRI ^a (tipo de MREP)	
13370	CCRI-8894 (i)	10
ATCC 43300	CCRI-175 (ii)	5
9191	CCRI-2086 (ii)	10
35290	CCRI-1262 (iii)	5
352	CCRI-1266 (iii)	10
19121	CCRI-8895 (iv)	5
ATCC 33592	CCRI-178 (iv)	5
MA 50428	CCRI-1311 (v)	5
R991282	CCRI-2025 (v)	5

5 ^a CCRI hace referencia a «Collection of the Centre de Recherche en Infectiologie».

Tabla 17. Pruebas de especificidad y ubicuidad realizadas en un termociclador estándar con el conjunto de cebadores que se dirigen selectivamente a los MREP de tipos i, ii, iii, iv y v (SEQ ID n.º 64, 66, 67, 79 y 80) desarrollados en la presente invención para la detección e identificación de SARM.

Cepas	Resultados de la PCR para la unión en el extremo derecho de <i>SCCmec-orfX</i>	
	Positivo (%)	Negativo (%)
SARM – 35 cepas ^a	27 (77,1)	8 (22,9)
SASM – 44 cepas	13 (29,5)	31 (70,5)
SCNRM – 9 cepas*	0	9 (100)
SCNSM – 10 cepas*	0	10 (100)

^a Las cepas de SARM incluyen las 20 cepas recogidas en la tabla 3.

10 *Detalles referentes a las cepas de SCN:

SCNRM: *S. caprae* (1)
S. cohnii cohnii (1)
S. epidermidis (1)

	<i>S. haemolyticus</i> (2)
	<i>S. hominis</i> (1)
	<i>S. sciuri</i> (1)
	<i>S. simulans</i> (1)
5	<i>S. warneri</i> (1)
SCNSM:	<i>S. cohnii</i> (1)
	<i>S. epidermidis</i> (1)
	<i>S. equorum</i> (1)
	<i>S. haemolyticus</i> (1)
10	<i>S. lentus</i> (1)
	<i>S. lugdunensis</i> (1)
	<i>S. sachharolyticus</i> (1)
	<i>S. saprophyticus</i> (2)
	<i>S. xylosus</i> (1)

- 15 **Tabla 18. Sensibilidad analítica de los análisis realizados en el termociclador Smart Cycler® con el conjunto de cebadores que están dirigidos selectivamente a los MREP de tipos i, ii, iii, iv y v (SEQ ID n.º 64, 66, 67, 79 y 80) y la sonda fluorescente (SEQ ID n.º 84) desarrollados en la presente invención para la detección e identificación de SARM.**

Denominación de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> :		Límite de detección (número de copias del genoma)
Original	CCRI ^a (tipo de MREP)	
13370	CCRI-8894 (i)	2
ATCC 43300	CCRI-175 (ii)	2
9191	CCRI-2086 (ii)	10
35290	CCRI-1262 (iii)	2
352	CCRI-1266 (iii)	10
ATCC 33592	CCRI-178 (iv)	2
MA 51363	CCRI-1331 (iv)	5
19121	CCRI-8895 (iv)	10
Z109	CCRI-8903 (iv)	5
45302	CCRI-1263 (v)	10
MA 50428	CCRI-1311 (v)	5
MA 50609	CCRI-1312 (v)	5
MA 51651	CCRI-1325 (v)	10
39795-2	CCRI-1377 (v)	10
R991282	CCRI-2025 (v)	2

^a CCRI hace referencia a «Collection of the Centre de Recherche en Infectiologie».

Tabla 19. Pruebas de especificidad y ubicuidad realizadas en el termociclador Smart Cycler® con el conjunto de cebadores que están dirigidos selectivamente a los MREP de tipos i, ii, iii, iv y v (SEQ ID n.º 64, 66, 67, 79 y 80) y sonda fluorescente (SEQ ID n.º 84) desarrollados en la presente invención para la detección de SARM.

Cepas	Resultados de PCR para MREJ	
	Positivos (%)	Negativos (%)
SARM – 29 cepas ^a	21 (72,4)	8 (27,6)
SASM – 35 cepas	13 (37,1)	22 (62,9)
SCNRM – 14 cepas	0	14 (100)
SCNSM – 10 cepas	0	10 (100)

^a Las cepas de SARM incluyen las 20 cepas recogidas en la tabla 3.

5 Detalles referentes a las cepas de SCN:

SCNRM: *S. epidermidis* (1)
S. haemolyticus (5)
S. simulans (5)
S. warneri (3)

10 SCNSM: *S. cohnii cohnii* (1)
S. epidermidis (1)
S. gallinarum (1)
S. haemolyticus (1)
S. lentus (1)

15 *S. lugdunensis* (1)
S. saccharolyticus (1)
S. saprophyticus (2)
S. xylosus (1)

20 **Tabla 20. Sensibilidad analítica de las pruebas realizadas en el termociclador Smart Cycler® con el conjunto de cebadores que se dirigen selectivamente a los MREP de tipos i, ii, iii, iv, v y vii (SEQ ID n.º 64, 66, 67, 79 y 80) y la sonda fluorescente (SEQ ID n.º 84) desarrollados en la presente invención para detectar e identificar SARM.**

Denominación de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> :		Límite de detección (número de copias del genoma)
Original	CCRI ^a (tipo de MREP)	
13370	CCRI-8894 (i)	2
ATCC 43300	CCRI-175 (ii)	2
35290	CCRI-1262 (iii)	2
ATCC 33592	CCRI-178 (iv)	2
R991282	CCRI-2025 (v)	2
SE-41-1	CCRI-9771 (vii)	2

^a CCRI hace referencia a «Collection of the Centre de Recherche en Infectiologie».

Tabla 21. Pruebas de especificidad y ubicuidad realizadas en el termociclador Smart Cycler® con el conjunto de cebadores que se dirigen selectivamente a los MREP de tipos i, ii, iii, iv, vi y vii (SEQ ID n.º 64, 66, 67, 79 y 80) y la sonda fluorescente (SEQ ID n.º 84) desarrollados en la presente invención para la detección e identificación de SARM.

Cepas	Resultados de PCR para MREJ	
	Positivos (%)	Negativos (%)
SARM – 23 cepas ^a	19 (82,6)	4 (17,4)
SASM – 25 cepas	13 (52)	12 (48)
SCNRM – 26 cepas	0	26 (100)
SCNSM – 8 cepas	0	8 (100)

5 ^a Las cepas de SARM incluyen las 20 cepas recogidas en la tabla 3.

Detalles referentes a las cepas de SCN:

SCNRM: *S. capitis* (2)

S. caprae (1)

S. cohnii (1)

10 *S. epidermidis* (9)

S. haemolyticus (5)

S. hominis (2)

S. saprophyticus (1)

S. sciuri (2)

15 *S. simulans* (1)

S. warneri (2)

SCNSM: *S. cohnii cohnii* (1)

S. epidermidis (1)

S. haemolyticus (1)

20 *S. lugdunensis* (1)

S. saccharolyticus (1)

S. saprophyticus (2)

S. xylosus (1)

Anexo I: Estrategia para la selección de cebadores para amplificación específicos para los MREP de tipos i y

25 ii.

MREP de tipos i y ii

orfX

SEQ ID NO.:	2324	2358	2583	2607
2	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
1	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
17 ^a	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
18 ^a	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
19 ^a	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
20 ^a	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
21 ^a	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
22 ^a	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
23 ^a	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
24 ^a	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
25 ^a	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
26	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
33 ^c		CtT gGTGtAaaCC aTTgCagCCa CC		
34 ^c		CCT caTGCAaTCC aTTTGATC		

Secuencia seleccionada para el cebador de los MREP de tipos i y ii

(SEQ ID n.º 66) **GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTA**CTTATG

Secuencia seleccionada
para el cebador de *orfX*^a

5 (SEQ ID n.º 64) **TGTGCAGGCC GTT**GATCC

Las posiciones de las secuencias usan la referencia de la SEQ ID n.º 2.

Los nucleótidos en mayúscula son idénticos a los de las secuencias seleccionadas o coinciden con tales secuencias.

Las discordancias están indicadas por letras minúsculas. Los puntos indican huecos en las secuencias mostradas.

^a Estas secuencias son los complementos inversos de las SEQ ID n.º 17-25.

10 ^b Esta secuencia es el complemento inverso del cebador seleccionado.

^c Las SEQ ID n.º 33 y 34 se obtuvieron de especies de SCN.

Anexo II: estrategia para seleccionar una sonda fluorescente específica para la detección de MREJ en tiempo real

SEQ ID NO. :	327	<u><i>orfX</i></u>	371
165	ACAAG GACGT CTTACAACGC AGTAACTAtG	CACTA	
180	ACAAG GACGT CTTACAACGC AGTAACTAtG	CACTA	
181	ACAAG GACGT CTTACAACGC AGTAACTAtG	CACTA	
182	ACAAG GACGT CTTACAACGC AGTAACTAtG	CACTA	
183	ACAAG GACGT CTTACAACGC AGTAACTAtG	CACTA	
184	ACAAG GACGT CTTACAACGC AGTAACTAtG	CACTA	
186	ACAAG GACGT CTTACAACGC AGTAACTAtG	CACTA	
174	ACAAG GACGT CTTACAACGt AGTAACTACG	CACTA	
175	ACAAG GACGT CTTACAACGt AGTAACTACG	CACTA	
178	ACAAG GACGT CTTACAACGt AGTAACTACG	CACTA	
176	ACAAG GACGT CTTACAACGt AGTAACTACG	CACTA	
173	ACAAG GACGT CTTACAACGt AGTAACTACG	CACTA	
177	ACAAG GACGT CTTACAACGt AGTAACTACG	CACTA	
169	ACAAG GACGT CTTACAACGC AGTAACTACG	CACTA	
199	ACAAG GACGT CTTACAACGC AGTAACTACG	CACTA	
33 ^{a, b}	ACcAa GACGT CTTACAACGC AGcAACTAtG	CttTA	
34 ^{a, b}	AtgAG GACGT CTTACAACGC AGcAACTACG	CACTt	

15 Secuencia seleccionada para las sondas fluorescentes de *orfX*

(SEQ ID n.º 163)^c **GACGT CTTACAACGC AGTAACTAtG**

(SEQ ID n.º 164)^c **GACGT CTTACAACGt AGTAACTACG**

(SEQ ID n.º 84)^c **GACGT CTTACAACGC AGTAACTACG**

20 Los nucleótidos discrepantes entre las secuencias de *orfX* y la SEQ ID n.º 84 se muestran en minúscula. Otras entradas en la lista de secuencias también presentan variaciones similares. El tallo de las sondas fluorescentes no se muestra en aras de la claridad. Las posiciones de secuencia usan la referencia de la SEQ ID n.º 165.

^a Estas secuencias son los complementos inversos de las SEQ ID n.º 33 y 34.

^b Las SEQ ID n.º 33 y 34 se obtuvieron de especies de SCN.

^c Las secuencias presentadas son el complemento inverso de las sondas fluorescentes seleccionadas.

Listado de secuencias

<110> GENE OHM SCIENCES CANADA INC.

5 <120> SECUENCIAS PARA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA

<130> GOH11811PCTEPD4

10 <140> Solicitud divisional de EP 09 174 581.0
<141> 2002-06-04

<150> CA 2,348,042

<151> 2001-06-04

15 <160> 233

<170> PatentIn version 3.5

20 <210> 1

<211> 3050

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

25 <400> 1

tcgtgccatt gatgcagagg gacatacatt agatatttgg ttgcgtaagc aacgagataa	60
tcattcagca tatgcgttta tcaaacgtct cattaaacaa tttggtaaag ctcaaaaggt	120
aattacagat caggcacctt caacgaaggt agcaatggct aaagtaatta aagcttttaa	180
acttaaacct gactgtcatt gtacatcgaa atatctgaat aacctcattg agcaagatca	240
ccgtcatatt aaagtaagaa agacaaggt tcaaagtatc aatacagcaa agaatacttt	300
aaaaggtatt gaatgtattt acgctctata taaaagaac cgcaggtctc ttcagatcta	360
cggattttcg ccatgccacg aaattagcat catgctagca agttaagcga aactgacat	420
gataaattag tggttagcta tatTTTTTTT ctttgcaaca gaaccgaaaa taatctcttc	480
aatttatttt tatatgaatc ctgtgactca atgattgtaa tatctaaaga tttcagttca	540
tcatagacaa tgttcttttc aacatttttt atagcaaatt gattaaataa attctctaata	600
ttctcccgtt tgatttcaat accatagatt atattatcat tgatatagtc aatgaataat	660
gacaaattat cactcataac agtcccaacc cttttatttt gatagactaa ttatcttcat	720
cattgtaaaa caaattacac cttttaaatt taactcaact taaatatcga caaattaaaa	780
aacaataaaa ttacttgaat attattcata atatattaac aactttatta tactgctctt	840
tatatataaa atcattaata attaaacaag ctttaaaata tttaactttt ttgtgattat	900
tacacattat cttatctgct ctttatcacc ataaaaatag aaaaaacaag attcctaaag	960

ES 2 526 518 T3

aatataggaa tcttgtttca gactgtggac aaactgattt tttatcagtt agcttattta	1020
gaaagtttta tttaaattac agtttctatt tttattagat cacaatttta ttttagctct	1080
tgttcaagta atcatttttc gccaaaaact ttatactgaa tagcttctac attaaatact	1140
ttgtcaatga gatcatctac atctttaaat tcagaataat ttgcatatgg atctataaaa	1200
taaaattgtg gttctttacc ggaaacatta aatattctta atattaaata tttctgctta	1260
tattctttca tagcaaacat ttcatttagc gacataaaaa atggttcctc aatactagaa	1320
gatgtagatg ttttaatttc aataaatttt tctacagctt tatctgtatt tgttgatca	1380
aaagctacta aatcatagcc atgaccgtgt tgagagcctg gattatcatt taaaatattc	1440
ctaaactggt ctttcttatac ttctgtctatt ttattatcaa ttagctcatt aaagtaattt	1500
agcgctaatt tttctccaac tttaccggtt aatttattct ctttatttga tttttcaatt	1560
tctgaatcat ttttagtagt ctttgataca ccttttttat attttggaat tattccttta	1620
ggtgcttcca cttccttgag tgtcttatct ttttgtgctg ttctaatttc ttcaatttcg	1680
ctgtcttctt gtatttcgtc tatgtctattg accaagctat cataggatgt ttttgtaact	1740
tttgaagcta attcattaaa tagttctaaa aatttcttta aatcctctag catatcttct	1800
tctgtgaatc cttcattcaa atcataatat ttgaatctta ttgatccatg agaatatcct	1860
gatggataat cattttttta atcataagat gaatctttat tttctgctga ataaaatctt	1920
ccagtattaa attcatttga tgtaatatat ttattgagtt cggaagataa agttaatgct	1980
ctttgttttg cagcattttt atcccgcgga aacatatcac ttatctttga ccaccttga	2040
ttcaaagata agtatatgcc ttctccttcc ggatgaaaaa gatataccaa ataatatcca	2100
tcctttgttt cttttgttat attctcatca tatattgaaa tccaaggaac tttactatag	2160
ttcccagtag caaccttccc tacaactgaa tatttatctt cttttatatg cacttttaac	2220
tgcttgaggta acttatcatg gactaaagtt ttatatagat cacctttatc ccaatcagat	2280
tttttaacta cattattggt acgtttctct ttaattaatt taaggacctg cataaagttg	2340
tctatcattt gaaattccct cctattataa aatatattat gtctcatttt cttcaatatg	2400
tacttattta tattttaccg taatttacta tatttagttg cagaaagaat tttctcaaag	2460
ctagaacttt gcttcactat aagtattcag tataaagaat atttcgctat tatttacttg	2520
aatgaaaga ctgcgaggc taactatgtc aaaaatcatg aacctcatta cttatgataa	2580
gcttctcctc gcataatctt aatgctctg tacacttggt caattaacac aaccgcctc	2640
atttgatgtg ggaatgtcat tttgctgaat gatagtgcgt agttactgcg ttgtaagacg	2700
tccttggtga ggccgtttga tccgccaatg acgaaaacaa agtcgctttg cccttggtc	2760
atgcgttggg tcaattcttg ggccaatcct tcggaagata gcacttttcc ttgtatttct	2820
aatgtaatga ctgtggattg tggtttgatt ttggtagta ttcgttggcc ttctttttct	2880
tttacttgct caatttcttt gtcactcata ttttctggtg ctttttcgtc tggaacttct	2940
atgatgtcta tcttggtgta tgggcctaaa cgtttttcat attctgctat ggcttgcttc	3000
caatatattct cttttagttt ccctacagct aaaatggtga ttttcatgtc	3050

ES 2 526 518 T3

<210> 2
 <211> 3050
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

5

<400> 2

acctcattga gcaagatcac cgtcatatta aagtaagaaa gacaaggat	caaagtatca	60
atacagcaaa gaatacttta aaaggtattg aatgtattta cgctctatat	aaaaagaacc	120
gcagggtctct tcagatctac ggatttttcgc catgccacga aattagcatc	atgctagcaa	180
gttaagcgaa cactgacatg ataaattagt ggtagctat atttttttac	tttgcaacag	240
aaccgaaaat aatctcttca atttattttt atatgaatcc tgtgactcaa	tgattgtaat	300
atctaaagat ttcagttcat catagacaat gttcttttca acatttttta	tagcaaattg	360
attaaataaa ttctctaatt tctcccgttt gatttcaacta ccatagatta	tattatcatt	420
gatatagtca atgaataatg acaaattatc actcataaca gtcccaaccc	ctttcttttg	480
atagactaat tatcttcatc attgtaaaac aaattacacc ctttaaattt	aactcaactt	540
aaatatcgac aaattaaaaa acaataaaat tacttgaata ttattcataa	tatattaaca	600
actttattat actgctcttt atatataaaa tcattaataa ttaaacaagc	cttaaaatat	660
ttaacttttt tgtgattatt acacattatc ttatctgctc tttatcacca	taaaaataga	720
aaaaacaaga ttcttaaaga atataggaat cttgtttcag actgtggaca	aactgatttt	780
ttatcagtta gcttatttag aaagttttat ttaaattaca gtttctattt	ttattagatc	840
acaattttat tttagctctt gttcaagtaa tcatttttcg ccaaaaactt	tatactgaat	900
agcttctaca ttaaataactt tgtcaatgag atcatctaca tctttaaatt	cagaataatt	960
tgcatatgga tctataaaat aaaattgtgg ttctttaccg gaaacattaa	atattcttaa	1020
tattaaatat ttctgcttat attctttcat agcaaacatt tcatttagcg	acataaaaaa	1080
tggttctctca atactagaag atgtagatgt tttaatttca ataaattttt	ctacagcttt	1140

ES 2 526 518 T3

```

atctgtatatt gttggatcaa aagctactaa atcatagcca tgaccgtgtt gagagcctgg 1200
attatcattt aaaatattcc taaactgttc tttcttatct tcgtctatatt tattatcaat 1260
tagctcatta aagtaattta gcgctaattt ttctccaact ttaccgggta atttattctc 1320
tttatttgat ttttcaattt ctgaatcatt tttagtagtc tttgatacac cttttttata 1380
ttttggaatt attccttttag gtgcttcac ttccttgagt gtcttatctt tttgtgctgt 1440
tctaatttct tcaatttcgc tgtcttctcg tatttcgtct atgctattga ccaagctatc 1500
ataggatggt tttgtaactt ttgaagctaa ttcattaaat agttctaaaa atttctttaa 1560
atcctctagc atatcttctt ctgtgaatcc ttcattcaaa tcataatatt tgaatcttat 1620
tgatccatga gaatatcctg atggataatc attttttaaa tcataagatg aatctttatt 1680
ttctgcgtaa taaaatcttc cagtattaaa ttcatttgat gtaatatatt tattgagttc 1740
ggaagataaa gttaatgctc tttgttttgc agcattttta tcccgcgga acatatcact 1800
tatctttgac catccttgat tcaaagataa gtatatgcct tctccttccg gatgaaaaag 1860
atataccaaa taatatccat cctttgtttc ttttgttata ttctcatcat atattgaaat 1920
ccaaggaact ttactatagt tcccagtagc aaccttcctt acaactgaat atttatcttc 1980
ttttatatgc acttttaact gcttgggtaa cttatcatgg actaaagttt tatatagatc 2040
acctttatcc caatcagatt ttttaactac attattggta cgtttctctt taattaattt 2100
aaggacctgc ataaagtgt ctatcatttg aaattccctc ctattataaa atatattatg 2160
tctcattttc ttcaatatgt acttatttat attttaccgt aatttactat atttagttgc 2220
agaaagaatt ttctcaaagc tagaactttg cttcactata agtattcagt ataaagaata 2280
tttcgctatt atttacttga aatgaaagac tgcggaggct aactatgtca aaaatcatga 2340
acctcattac ttatgataag cttcttaaaa acataacagc aattcacata aacctcatat 2400
gttctgatac attcaaaatc cttttatgaa gcggtgaaa aaaccgcatc atttatgata 2460
tgcttctcca cgcataatct taaatgctct atacacttgc tcaattaaca caaccgcat 2520
catttgatgt gggaatgtca ttttgctgaa tgatagtgcg tagttactgc gttgtaagac 2580
gtccttgctc aggcctgttg atccgccaat gacgaataca aagtcgcttt gcccttgggt 2640
catgcgttgg ttcaattctt gggccaatcc ttcggaagat agcatcttcc cttgtatttc 2700
taatgtaatg actgtggatt gtggtttaat tttggctagt attcgttggc cttctttttc 2760
ttttacttgc tcaatttctt tgogetcat attttctggt gcttttctgt ctggaacttc 2820
tatgatgtct atcttgggtg atgggcctaa acgtttttca tattctgcta tggcttgctt 2880
ccaatatttc tcttttagtt tccctacagc taaaatgggt attttcatgt cgtttgggtc 2940
tccaaattgt tatcaacttt ccagttatcc acaagttatt aacttgttca cactgttccc 3000
tcttattata ccaatatttt ttgcagtttt tgatattttc ctgacattta 3050

```

5 <210> 3
<211> 3183
<212> DNA
<213> Staphylococcus aureus

10 <400> 3

ES 2 526 518 T3

ctgcagaggt aattattcca aacaatacca ttgattttcaa aggagaaaga gatgacgtta	60
gaacgcgtga aacaaattta ggaaacgcga ttgcagatgc tatggaagcg tatggcgtta	120
agaattttctc taaaaagact gactttgccg tgacaaatgg tggaggtatt cgtgcctcta	180
tcgcaaaagg taaggtgaca cgctatgatt taatctcagt attaccattt ggaaatacga	240
ttgcgcaaatt tgatgtaaaa ggttcagacg tctggacggc tttcgaacat agtttaggcg	300
caccaacaac acaaaaggac ggtaagacag tgттаacagc gaatggcggт ttactacata	360
tctctgattc aatccgtgtt tactatgata taaataaacc gtctggcaaa cgaattaatg	420
ctattcaaat tttaaataaa gagacaggtta agtttgaaaa tattgattta aaacgtgtat	480
atcacgtaac gatgaatgac ttcacagcat caggtggcga cggatatagt atgttcggtg	540
gtcctagaga agaaggtatt tcattagatc aagtactagc aagttattta aaaacagcta	600
acttagctaa gtatgatacg acagaaccac aacgtatgтt attaggtaaa ccagcagtaa	660
gtgaacaacc agctaaagga caacaaggta gcaaaggtag taagtctggt aaagatacac	720
aaccaattgg tgacgacaaa gtgatggatc cagcgaaaaa accagctcca ggtaaagttg	780
ttttgttgct agcgcataga ggaactgtta gtagcggtag agaaggttct ggtcgcacaa	840
tagaaggagc tactgtatca agcaagagtг ggaaacaatt ggctagaatg tcagtgccta	900
aaggtagcgc gcatgagaaa cagttaccaa aaactggaac таатcaaagt tcaagcccag	960
aagcgatgтt tgtattatta gcaggtatag gtttaatcgc gactgtacga cgtagaaaag	1020
ctagctaaaa tatattgaaa ataatactac tgtattttctt aaataagagg tacggtagtg	1080
tttttttatg aaaaaaagcg атаaccgttg ataaatatgg gatataaaaa cgaggataag	1140
taataagaca tcaaggtgtt tatccacaga aatggggata gttatccaga attgtgtaca	1200
atttaaagag aaatacccac aatgcccaca gagttatcca caaatacaca ggttatacac	1260

ES 2 526 518 T3

taaaaatcgg gcataaatgt caggaaaata tcaaaaactg caaaaaatat tgggtataata	1320
agaggggaaca gtgtgaacaa gttaataact tgtggataac tggaaagtgtg ataacaattt	1380
ggaggacca aacgacatgaa aatcaccatt ttagctgtag ggaaactaaa agagaaatat	1440
tggaaagcaag ccatagcaga atatgaaaaa cgtttaggcc catacaccaa gatagacatc	1500
atagaagttc cagacgaaaa agcaccagaa aatatgagtg acaaagaaat tgagcaagta	1560
aaagaaaaag aaggccaacg aatactagcc aaaatcaaac cacaatccac agtcattaca	1620
ttagaaatac aaggaaagat gctatcttcc gaaggattgg cccaagaatt gaaccaacgc	1680
atgacccaag ggcaaagcga ctttgttttc gtcattggcg gatcaaacgg cctgcacaag	1740
gacgtcttac aacgcagtaa ctacgcacta tcattcagca aaatgacatt cccacatcaa	1800
atgatgctggg ttgtgttaat tgaacaagtgt tacagagcat ttaagattat gcgaggagag	1860
gcgtatcata agtaaaacta aaaaattctg tatgaggaga taataatttg gaggggtgta	1920
aatggtggac attaaatcca cgttcattca atatataaga tatatcacga taattgcgca	1980
tataacttaa gtagtagcta acagttgaaa ttaggcccta tcaaattgggt ttatatctaa	2040
aatgattaat atagaatgct tctttttgtc cttattaaat tataaaagta actttgcaat	2100
agaaacagtt atttcataat caacagtcatt tgacgtagct aagtaatgat aaataatcat	2160
aaataaaatt acagatatgtg acaaaaaata gtaaatattc caatgaagtt tcaaagaac	2220
aattccaaga aattgagaat gtaaataata aggtcaaaga attttattaa gatttgaaag	2280
agtatcaatc aagaaagatg tagtttttta ataaactatt tggaaaataa ttatcataat	2340
ttaaaaactg acaatttgcg agactcataa aatgtaataa tggaaataga tgtaaaatat	2400
aattaagggg tgtaatatga agattaatat ttataaatct atttataatt ttcaggaaac	2460
aaatacaaat tttttagaga atctagaatc tttaaagat gacaattatg aactgcttaa	2520
tgataaagaa cttgttagtg attcaaagta attaaaatta attagtaaag tttatatacg	2580
taaaaaagac aaaaaactat tagattggca attattaata aagaatgtat acctagatac	2640
tgaagaagat gacaatttat tttcagaatc cggtcacatc tttgatgcaa tattatttct	2700
caaagaagat actacattac aaaataatgt atatattata ccttttggaac aagcatatca	2760
tgatataaat aatttgattg attatgactt cggaattgat tttgcagaaa gagcaatcaa	2820
aatgaagac atagttaata aaaatgttaa tttttttcaa caaacaggc ttaaagagat	2880
tgtaattat agaaggaata gtgtagatta cgtagacct tcagaatctt atatatcagt	2940
ccaaggacat ccacagaatc ctcaaatttt tggaaaaaca atgacttggt gtacaagtat	3000
ttcattgcgt gtaccgaata gaaagcagca attcatagat aaaattagtg tgataatcaa	3060
agaaataaac gctattatta atcttctca aaaaattagt gaatttccta gaatagtaac	3120
tttaaaagac ttgaataaaa tagaagtatt agatacttta ttgctaaaaa aactatcgaa	3180
ttc	3183

5 <210> 4
 <211> 479
 <212> DNA
 <213> Staphylococcus aureus

ES 2 526 518 T3

<400> 4

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgcggtga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta	180
ggttgtgtat aatttaaaaa tttaatgaga tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg	240
attatacctt gcaatatcat acgatgttta tagagtgttt aataaaccat ttttcaacta	300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa	360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaaatt taaactaatg gaatcaagaa agaatgaaag	420
gaaatataca atgcctacga ttaataaaaag gaagttttatt agattttgtg ttagaaaca	479

5 <210> 5

<211> 480

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

10 <400> 5

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgcggtga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta	180
ggttgtgtat aatttaaaaa tttaatgaga tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg	240
attatacctt gcaatatcat acgatgttta tagagtgttt aataaaccat ttttcaacta	300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa	360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaaatt taaactaatg gaatcaagaa agaatgaaag	420
gaaatataac atgcctacga ttaataaaaag gaagttttatt agattttgtg ttagaaacag	480

<210> 6

15 <211> 480

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 6

20

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac atccccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgcggtga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta	180
ggttgtgtat aatttaaaaa tttaatgaga tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg	240
attatacctt gcaatatcat acgatgttta tagagtgttt aataaaccat ttttcaacta	300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa	360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaaatt taaactaatg gaatcaagaa agaatgaaag	420
gaaatataca atgcctacga ttaataaaaag gaagttttatt agatttgtgt tagaaacagt	480

<210> 7

<211> 480

25 <212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

ES 2 526 518 T3

<400> 7

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgctgga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta	180
ggttgtgtat aatttaaaaa ttaaatgaga tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg	240
attatacctt gcaatatcat acgatgttta tagagtgttt aataaaccat ttttcaacta	300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa	360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaatt taaactaatg gaatcaagaa agaatgaaag	420
gaaatataca atgcctacga ttaataaaaag gaagtttatt agattttgtg ttagaaacag	480

5 <210> 8

<211> 309

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

10 <220>

<221> característica_misc

<222> (237)..(237)

<223> n es a, c, g, o t

15 <400> 8

ggcgatcaa acggcctgca caaggacgtc ttacaacgca gtaactacgc actatcattc	60
agcaaaatga cattcccaca tcaaatgatg cgggttgtgt taattgaaca agtgtacaga	120
gcatttaaga ttatgctgga agaagcgtat cataaataaaa actaaaaatt aggttgtgta	180
taatttaaaa atctaagag atgtggagga attacatata tgaaatattg gattatncct	240
tgcaatatca tacgatgttt atagagtgtt taataaacca tttttcaact attgatgatc	300
tacaatata	309

<210> 9

20 <211> 471

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 9

25

ttggcggtac aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac gcactatcat	60
tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa caagtgtaca	120
gagcatttaa gattatgctg ggagaagcgt atcataaata aaactaaaaa ttaggttgtg	180
tataatttaa aaatttaatg agatgtggag gaattacata tatgaaatat tggattatac	240
cttgcaatat catagatgtt ttatagagtg ttaataaac ctttttcaa ctattgatga	300
tctagaatat ataataactg tacaattat attgattatg gaactacaat taaattaaga	360
aattgatgat gaaattttaa atttaaacca atggaatcaa gaaagaatga aaggaaatat	420
acaatgccta cgattaataa aaggaagttt attagatttt gtgttagaaa c	471

<210> 10

<211> 480

30 <212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

ES 2 526 518 T3

<400> 10

ttcgtcattg gcggaatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgctgtga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta	180
ggttgtgtat aatttaaaaa tttaatgaga tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg	240
attatacctt gcaatatcat acgatgttta tagagtgttt aataaaccat ttttcaacta	300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa	360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaatt taaactaatg gaatcaagaa agaatgaaag	420
gaaatataca atgcctacga ttaataaaaag gaagtttatt agattttgtg ttagaaacag	480

5

<210> 11

<211> 480

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

10

<400> 11

ttcgtcattg gcggaatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgctgtga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta	180
ggttgtgtat aatttaaaaa tttaatgaga tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg	240
attatacctt gcaatatcat acgatgttta tagagtgttt aataaaccat ttttcaacta	300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa	360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaatt taaactaatg gaatcaagaa agaatgaaag	420
gaaatataca atgcctacga ttaataaaaag gaagtttatt agattttgtg ttagaaacag	480

15

<210> 12

<211> 480

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

20

<400> 12

ttcgtcattg gcggaatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgctgtga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta	180
ggttgtgtat aatttaaaaa tttaatgaga tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg	240
attatacctt gcaatatcat acgatgttta tagagtgttt aataaaccat ttttcaacta	300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa	360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaatt taaactaatg gaatcaagaa agaatgaaag	420
gaaatataca atgcctacga ttaataaaaag gaagtttatt agattttgtg ttagaaacag	480

<210> 13

25

<211> 478

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

ES 2 526 518 T3

<400> 13

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtgtt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgcgtgga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta	180
ggttgtgtat aatttaaaaa tttaatgaga tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg	240
attatacctt gcaatatcat acgatgttta tagagtgttt aataaaccat ttttcaacta	300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa	360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaatt taaactaatg gaatcaagaa agaatgaaag	420
gaaatataca atgcctacga ttaataaaaag gaagtttatt agattttgtg ttagaaac	478

<210> 14

<211> 479

10 <212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 14

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtgtt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgcgtgga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta	180
ggttgtgtat aatttaaaaa tttaatgaga tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg	240
attatacctt gcaatatcat acgatgttta tagagtgttt aataaaccat ttttcaacta	300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa	360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaatt taaactaatg gaatcaagaa agaatgaaag	420
gaaatataca atgcctacga ttaataaaaag gaagtttatt agattttgtg ttagaaaca	479

<210> 15

<211> 480

<212> DNA

20 <213> Staphylococcus aureus

<220>

<221> característica_misc

<222> (406).. (406)

25 <223> n es a, c, g, o t

<400> 15

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtgtt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgcgtgga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta	180
ggttgtgtat aatttaaaaa tttaatgaga tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg	240
attatacctt gcaatatcat acgatgttta tagagtgttt aataaaccat ttttcaacta	300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa	360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaatt taaactaatg gaatcncgaa agaatgaaag	420
gaaatataca atgcctacga ttaataaaaag gaagtttatt agattttgtg ttagaaacag	480

ES 2 526 518 T3

<210> 16
<211> 480
<212> DNA

5 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 16

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgctgga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta	180
ggttgtgtat aatttaaaaa tttaatgaga tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg	240
attatacctt gcaatatcat acgatgttta tagagtgttt aataaacctt ttttcaacta	300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa	360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaatt taaactaatg gaatcaagaa agaatgaaag	420
gaaatataca atgcctacga ttaataaaaag gaagtttatt agattttgtg ttagaaacag	480

10

<210> 17
<211> 480
<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

15

<400> 17

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgctgga gaagcatatc ataaatgatg cggttttttc	180
agccgcttca taaagggatt ttgaatgtat cagaacatat gaggtttatg tgaattgctg	240
ttatgttttt aagaagctta tcataagtaa tgaggttcat gatttttgac atagttagcc	300
tccgcagtct ttcatttcaa gtaaataata gcgaaatatt ctttatactg aatacttata	360
gtgaagcaaa gttctagctt tgagaaaatt ctttctgcaa ctaaataatag taaattacgg	420
taaaatataa ataagtacat attgaagaaa atgagacata atatatttta taataggagg	480

20

<210> 18
<211> 480
<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

25

<400> 18

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgagcaa	120
gtgtatagag catttaagat tatgctgga gaagcatatc ataaatgatg cggttttttc	180
agccgcttca taaagggatt ttgaatgtat cagaacatat gaggtttatg tgaattgctg	240
ttatgttttt aagaagctta tcataagtaa tgaggttcat gatttttgac atagttagcc	300
tccgcagtct ttcatttcaa gtaaataata gcgaaatatt ctttatactg aatacttata	360
gtgaagcaaa gttctagctt tgagaaaatt ctttctgcaa ctaaataatag taaattacgg	420
taaaatataa ataagtacat attgaagaaa atgagacata atatatttta taataggagg	480

ES 2 526 518 T3

<210> 19
 <211> 458
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

5

<400> 19

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtgtt aattgaacaa	120
gtgtacagag catttaagat tatgcgtgga gaagcatatc ataatgatg cggttttttc	180
agccgcttca taaagggatt ttgaatgtat cagaacatat gaggtttatg tgaattgctg	240
ttatgttttt aagaagctta tcataagtaa tgaggttcat gatttttgac atagttagcc	300
tccgcagtct ttcatttcaa gtaaataata gcgaaatatt ctttatactg aatacttata	360
gtgaagcaaa gttctagctt tgagaaaatt ctttctgcaa ctaaataatag taaattacgg	420
taaaatataa ataagtacat attgaagaaa atgagaca	458

10 <210> 20
 <211> 385
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

15 <400> 20

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtgtt aattgagcaa	120
gtgtatagag catttaagat tatgcgtgga gaagcttatac ataagtaatg aggttcatga	180
tttttgacat agtttagctc cgcagtcttt catttcaagt aaataatagc gaaatattct	240
ttatactgaa tactttatagt gaagcaaagt tctagctttg agaaaattct ttctgcaact	300
aaatatagta aattacggta aaatataaat aagtacatat tgaagaaaat gagacataat	360
atattttata ataggaggga atttc	385

20

<210> 21
 <211> 385
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

25

<400> 21

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtgtt aattgagcaa	120
gtgtatagag catttaagat tatgcgtgga gaagcttatac ataagtaatg aggttcatga	180
tttttgacat agtttagctc cgcagtcttt catttcaagt aaataatagc gaaatattct	240
ttatactgaa tactttatagt gaagcaaagt tctagctttg agaaaattct ttctgcaact	300
aaatatagta aattacggta aaatataaat aagtacatat tgaagaaaat gagacataat	360
atattttata ataggaggga atttc	385

30 <210> 22
 <211> 385
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

ES 2 526 518 T3

<400> 22

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtgtt aattgagcaa	120
gtgtatagag catttaagat tatgcgtgga gaagcttatc ataagtaatg aggttcatga	180
tttttgacat agttagcctc cgcagtcttt catttcaagt aaataatagc gaaatattct	240
ttatactgaa tactttatagt gaagcaaagt tctagctttg agaaaattct ttctgcaact	300
aaatatagta aattacggta aaatataaat aagtacatat tgaagaaaat gagacataat	360
atattttata ataggaggga atttc	385

5

<210> 23

<211> 385

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

10

<400> 23

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgcg	60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtgtt aattgaacaa	120
gtgtacaaag catttaagat tatgcgagga gaagcttatc ataagtaatg aggttcatga	180
tttttgacat agttagcctc cgcagtcttt catttcaagt aaataatagc gaaatattct	240
ttatactgaa tactttatagt gaagcaaagt tctagctttg agaaaattct ttctgcaact	300
aaatatagta aattacggta aaatataaat aagtacatat tgaagaaaat gagacataat	360
atattttata ataggaggga atttc	385

15

<210> 24

<211> 340

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

20

<400> 24

cgcagtaact acgcgctatc attcagcaaa atgacattcc cacatcaaata gatgcgggtt	60
gtgttagttg agcaagtgtg catagcattt aagattatgc gaggagaagc ttatcataag	120
taatgaggtt catgattttt gacatagtta gcctccgcag tctttcattt caagtaaata	180
atagcgaaat attctttata ctgaatactt atagtgaagc aaagttctag ctttgagaaa	240
attctttctg caactaaata tagtaaatta cggtaaaata taaataagta catattgaag	300
aaaatgagac ataatatatt ttataatagg agggaatttc	340

25

<210> 25

<211> 369

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

30

<400> 25

ES 2 526 518 T3

caaacggcct gcacaaggac gtcttacaac gcagtaacta cgcactatca ttcagcaaaa	60
tgacattccc acatcaaagt atgcggggttg tgtaattga acaagtgtac agagcattta	120
agattatgcg aggagaagct tatcataagt aatgagggtc atgatttttg acatagttag	180
cctccgcagt ctttcatttc aagtaaataa tagcgaaata ttctttatac tgaatactta	240
tagtgaagca aagttctagc ttgagaaaa ttctttctgc aactaaatat agtaaattac	300
ggtaaaatat aaataagtac atattgaaga aaatgagaca taatatattt tataatagga	360
gggaatttc	369

<210> 26

<211> 3050

5 <212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 26

ES 2 526 518 T3

aatttggttaa acctcaaaag gtaattacag atcaggcacc ttcaacgaag gtagcaatgg	60
ctaaagtaat taaagctttt aaacttaaac ctgactgtca ttgtacatcg aaatatctga	120
ataacctcat tgagcaagat caccgtcata tttaaagtaag aaagacaagg tatcaaagta	180
tcaatacagc aaagaatact ttaaaaggta ttgaatgtat tcacgctcta tataaaaaga	240
accgcaggtc tcttcagatc tacggatttt cgccatgcca cgaaattagc atcatgctag	300
caagttaagc gaacactgac atgataaatt agtggttagc tatatttttt tactttgcaa	360
cagaaccgaa aataatctct tcaattttatt tttatatgaa tcctgtgact caatgattgt	420
aatatctaaa gatttcagtt catcatagac aatgttcttt tcaacatttt ttatagcaaa	480
ttgattaaat aaattctcta atttctcccg tttgatttca ctaccataga ttatattatc	540
attgatatag tcaatgaata atgacaaatt atcactcata acagtcccaa cccctttatt	600
ttgatagact aattatcttc atcattgtaa aacaaattac accctttaaa tttaactcaa	660
cttaaatatc gacaaattaa aaaacaataa aattacttga atattattca taatatatta	720
acaactttat tatactgctc tttatatata aaatcattaa taattaaaca agccttaaaa	780
tatttaactt ttttgtgatt attacacatt atcttatctg ctctttatca ccataaaaat	840
agaaaaaaca agattcctaa agaatatagg aatcttgttt cagactgtgg acaaactgat	900
tttttatcag ttagcttatt tagaaagttt tatttaaatt acagtttcta tttttattag	960
atcacaaattt tatttttagct cttgttcaag taatcatttt tcgccaaaaa ctttatactg	1020
aatagcttct acattaaata cttgtcaatg agatcatcta catctttaaa ttcagaataa	1080
ttcgcatatg gatctataaa ataaaattgt ggttctttac cggaaacatt aaatattctt	1140
aatattaaat atttctgctt atattctttc atagcaaaca tttcatttag cgacataaaa	1200
aatggttcct caatactaga agatgtagat gttttaattt caataaattt ttctacagct	1260
ttatctgtat ttgttgatc aaaagctact aaatcatagc catgaccgtg ttgagagcct	1320
ggattatcat ttaaaatatt cctaaactgt tctttcttat ctctgtctat tttattatca	1380
attagctcat taaagtaatt tagcgctaatt tttctccaa ctttaccggt taattttatc	1440
tctttatttg atttttcaat ttctgaatca tttttagtag tctttgatac acctttttta	1500
tattttggaa ttattccttt aggtgcttcc acttccttga gtgtcttata tttttgtgct	1560
gttctaattt cttcaatttc gctgtcttcc tgtatttcgt ctatgctatt gaccaagcta	1620

ES 2 526 518 T3

```

tcataggatg tttttgtaac ttttgaagct aattcattaa atagttctaa aaatttcctt 1680
aaatcctcta gcatatcttc ttctgtgaat ccttcattca aatcataata tttgaatctt 1740
attgatccat gagaatatcc tgatggataa tcatttttta aatcataaga tgaatcttta 1800
ttttctgcgt aataaaatct tccagtatta aattcatttg atgtaataata tttattgagt 1860
tcggaagata aagttaatgc tctttgtttt gcagcatttt tatcccgcgg aaacatatca 1920
cttatctttg accatccttg attcaaagat aagtatatgc cttctccttc cggatgaaaa 1980
agatatacca aataatgtcc atcctttgtt tcttttgta tattctcatc atatatggaa 2040
atccaaggaa ctttactata gtcccagta gcaaccttc ctacaactga atatttatct 2100
tcttttatat gcacttttaa ctgcttggtt aacttatcat ggactaaagt tttatataga 2160
tcacctttat cccaatcaga ttttttaact acattattgg tacgtttctc ttttaattaat 2220
ttaaggacct gcataaagtt gtctatcatt tgaaattccc tcctattata aaatatatta 2280
tgtctcattt tcttcaatat gtacttattt atattttacc gtaatttact atatttagtt 2340
gcagaagaa ttttctcaaa gctagaactt tgcttacta taagtattca gtataaagaa 2400
tatttcgcta ttatttactt gaaatgaaag actgcggagg ctaactatgt caaaaatcat 2460
gaacctcatt acttatgata agcttcttaa aaacataaca gcaattcaca taaacctcat 2520
atgttctgat acattcaaaa tccctttatg aagcggctga aaaaaccgca tcatttatga 2580
tatgttctc ctgcataat cttaaatgct ctgtacactt gttcaattaa cacaaccgc 2640
atcatttgat gtgggaatgt cattttgctg aatgatagtg cgtagtact gcgttgtaag 2700
acgtccttgt gcaggccgtt tgatccgcca atgacgaaaa caaagtcgct ttgcccttgg 2760
gtcatgcgtt ggttcaattc ttgggccaat ccttcggaag atagcatctt tccttgatt 2820
tctaatagtaa tgactgtgga ttgtggttg attttggtta gtattcgttg gccttctttt 2880
tcttttactt gctcaatttc tttgtcactc atattttctg gtgcttttcc gtctggaact 2940
tctatgatgt ctatcttggg gtatgggcct aaacgttttt catattctgc tatggcttgc 3000
ttccaatatt tctcttttag ttccctaca gctaaaatgg tgattttcat 3050

```

<210> 27

<211> 657

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 27

```

10 ccaccttcat atgacgtcta tccatttatg tatggcatga gtaacgaaga atataataaa 60

```

ES 2 526 518 T3

ttaaccgaag ataaaaaaga acctctgctc aacaagttcc agattacaac ttcaccaggt	120
tcaactcaaa aaatattaac agcaatgatt gggttaaata acaaaacatt agacgataaa	180
acaagttata aaatcgatgg taaaggttgg caaaaagata aatcttgggg tggttacaac	240
gttacaagat atgaagtggg aaatggtaat atcgacttaa aacaagcaat agaatcatca	300
gataacatctt tctttgctag agtagcactc gaattaggca gtaagaaatt tgaaaaaggc	360
atgaaaaaac taggtgttgg tgaagatata ccaagtgatt atccatttta taatgctcaa	420
atttcaaaca aaaatttaga taatgaaata ttattagctg attcagggtta cggacaaggt	480
gaaatactga ttaaccaggt acagatcctt tcaatctata gcgcattaga aaataatggc	540
aatattaacg cacctcactt attaaaagac acgaaaaaca agttttggaa gaaaaatatt	600
atttccaaag aaaatatcaa tctattaact gatggtatgc aacaagtcgt aaataaa	657

<210> 28

<211> 782

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 28

caccttcata tgacgtctat ccatttatgt atggcatgag taacgaagaa tataataaat	60
taaccgaaga taaaaaagaa cctctgctca acaagttcca gattacaact tcaccaggtt	120
caactcaaaa aatattaaca gcaatgattg ggttaaataa caaaacatta gacgataaaa	180
caagtataaa aatcgatggg aaaggttggc aaaaagataa atcttggggg tggttacaacg	240
ttacaagata tgaagtggta aatggtaata tcgacttaaa acaagcaata gaatcatcag	300
ataacatctt ctttgctaga gtagcactcg aattaggcag taagaaatct gaaaaaggca	360
tgaaaaaact aggtgttggg gaagatatat caagtgatta tccattttat aatgctcaaa	420
tttcaaaca aaatttagat aatgaaatat tattagctga ttcagggttac ggacaaggtg	480
aaatactgat taaccagta cagatccttt caatctatag cgcattagaa aataatggca	540
atattaacgc acctcactta ttaaaagaca cgaaaaacaa agtttgggaag aaaaatatta	600
tttccaaaga aaatatcaat ctattaactg atggtatgca acaagtcgta aataaaacac	660
ataaagaaga tatattataga tcttatgcaa acttaattgg caaatccggt actgcagaac	720
tcaaaatgaa acaaggagaa actggcagac aaattgggtg gtttatatca tatgataaag	780

10 at

782

<210> 29

<211> 744

<212> DNA

15 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 29

ES 2 526 518 T3

tatgacgtct atccatttat gtatggcatg agtaacgaag aatataataa attaacggaa	60
gataaaaaag aacctctgct caacaagttc cagattacaa cttcaccagg ttcaactcaa	120
aaaatattaa cagcaatgat tgggttaaata aacaaaacat tagacgataa aacaagttat	180
aaaatcgatg gtaaagggtg gcaaaaagat aaatcttggg gtggttacaa cgttacaa	240
tatgaagtgg taaatggtaa tatcgactta aaacaagcaa tagaatcatc agataacatt	300
ttctttgcta gagtagcact cgaattagtc agtaagaaat ttgaaaaagg catgaaaaaa	360
ctaggtggtg gtgaagatat accaagtgat tatccatttt ataatgctca aatttcaaac	420
aaaaatttag ataatgaaat attattagct gattcaggtt acggacaagg tgaaatactg	480
attaacccag tacagatcct ttcaatctat agcgatttag aaaataatgg caatattaac	540
gcacctcact tattaataaaga cacgaaaaac aaagtttggg agaaaaatat tatttccaaa	600
gaaaaatatca atctattaac tgatggtatg caacaagtcg taaataaaac acataaagaa	660
gatatttata gatcttatgc aaacttaatt ggcaaatccg gtactgcaga actcaaatg	720
aaacaaggag aaactggcag acaa	744

<210> 30

<211> 652

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 30

ccaccttcac atgacgtcta tccatttatg tatggcatga gtaacgaaga atataataaa	60
ttaaccgaag ataaaaaaga acctctgctc aacaagttcc agattacaac ttcaccaggt	120
tcaactcaaa aaatattaac agcaatgatt ggggttaaata acaaaacatt agacgataaa	180
acaagttata aaatcgatgg taaagggttg caaaaagata aatcttgggg tgggttacaa	240
gttacaagat atgaagtggg aaatggtaat atcgacttaa aacaagcaat agaatcatca	300
gataacattt tctttgctag agtagcactc gaattaggca gtaagaaatt tgaaaaaggc	360
atgaaaaaac taggtgttgg tgaagatata ccaagtgatt atccatttta taatgctcaa	420
atttcaaaca aaaatttaga taatgaaata ttattagctg attcaggtta cggacaaggt	480
gaaatactga ttaaccagtc acagatcctt tcaatctata gcgcattaga aaataatggc	540
10 aatattaacg cacctcactt attaaaagac acgaaaaaca aagtttggaa gaaaaatatt	600
atttccaaag aaaatatcaa tctattaact gatggtatgc aacaagtcgt aa	652

<210> 31

15 <211> 2436

<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 31

20

ES 2 526 518 T3

ccaccttcat atgacgtcta tccatttatg tatggcatga gtaacgaaga atataataaa	60
ttaaccgaag ataaaaaaga acctctgctc aacaagttcc agattacaac ttcaccaggt	120
tcaactcaaa aaatattaac agcaatgatt gggttaaata acaaaacatt agacgataaa	180
acaagttata aaatcgatgg taaaggttgg caaaaagata aatcttgggg tggttacaac	240
gttacaagat atgaagtggg aaatggtaat atcgacttaa aacaagcaat agaatcatca	300
gataacattt tctttgctag agtagcactc gaattaggca gtaagaaatt tgaaaaaggc	360
atgaaaaaac taggtgttgg tgaagatata ccaagtgatt atccatttta taatgctcaa	420
atttcaaaca aaaatttaga taatgaaata ttattagctg attcaggtta cggacaaggt	480
gaaatactga ttaaccaggt acagatcctt tcaatctata gcgcattaga aaataatggc	540
aatattaacg cacctcactt attaaaagac acgaaaaaca aagtttggaa gaaaaatatt	600
atttccaaag aaaatatcaa tctattaact gatggtatgc aacaagtcgt aaataaaaca	660
cataaagaag atatttatag atcttatgca aacttaattg gcaaatccgg tactgcagaa	720
ctcaaaatga aacaaggaga aactggcaga caaattgggt ggtttatatc atatgataaa	780
gataatccaa acatgatgat ggctattaat gttaaagatg tacaagataa aggaatggct	840
agctacaatg ccaaaatctc aggtaaagtg tatgatgagc tatatgagaa cggtataaaa	900
aaatacgata tagatgaata acaaaacagt gaagcaatcc gtaacgatgg ttgcttcact	960
gttttattat gaattattaa taagtgtgtg tacttctccc ttaaatacaa tttcttcatt	1020
ttcattgtat gttgaaagtg aactgtaac gagtccattt tcttttttta tggatttctt	1080
atgtgtaatt tcagcgataa cgtacaatgt attacctggg tatacagggt taataaattt	1140
aacgttattc atttgtgttc ctgctacaac ttcttctccg tatttacctt cttctacca	1200
taattttaat gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt taaatctact	1260
ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaaagttg ttgcaaattg	1320
gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct ttttgttttg aatgtttctc ctactataaa	1380
atcatcgtat ttcatatatg tctctcttct ttattcaaat taatttttta gtatgtaaca	1440

ES 2 526 518 T3

tgttaaaggt aagtctaccg tcaactgaaac gtaagactca cctctaactt tctattgaga 1500
 caaatgcacc attttatctg cattgtctgt aaagatacca tcaactcccc aattagcaag 1560
 ttggtttgca cgtgctggtt tgtttacagt ccatacgttc aattcataac cgccttcttt 1620
 taccattttt acttttgctt tagtaagttt ggcatcttca gtgtttacta ttttagcatt 1680
 acagtaatct aaaagtgttc tccagtcttc acgaaacgaa gttgtatgga atataactgc 1740
 tctgttatat tgtggcatga tttcttctgc aagtttaaca agcacaacat taaagcttga 1800
 aatgagcact tcttgattct gatttaagtt tgtaattgt tcttcactt gcttaaccat 1860
 acttttagaa agtgctagtc cattcgggtcc agtaatacct ttttaattcta catttaaatt 1920
 catattatat tcatctgcta tttttactac atcatcgaaa gttggcaaatt gttcatcttt 1980
 gaatttttca ccaaaccaag atcctgcaga agcatcttta atttcatcat aattcaattc 2040
 agttatttcc cggacatat ttgtagtccg ttctaataa tcatcatgaa tgataatcag 2100
 ttgttcatct tttgtaattg caacatctaa ctccaaccag tttatacctt ctacttctga 2160
 agcagcttta aatgatgcaa ttgtatttcc cggagcttta ctaggtaatc ctctatgtcc 2220
 atatacagtt agcatattac ctctccttgc atttttatct ttttaattaa cgtaactgta 2280
 ttatcacatt aatcgactt ttatttccat taaaaagaga tgaatatcat aaataaagaa 2340
 gtcgatagat tcgtattgat tatggagtta atctacgtct catctcattt ttaaaaaatc 2400
 atttatgtcc caagctccat tttgtaatca agtcta 2436

<210> 32

<211> 36

5 <212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Sonda para orfX

10

<220>

<221> fuente

<222> (1)..(36)

<223> S. aureus

15

<400> 32

cgcttgccac atcaaatgat gcgggttggt caagcg

36

20 <210> 33

<211> 336

<212> DNA

<213> Staphylococcus epidermidis

25 <400> 33

ctcattactt atgataagct tcttaaaaaac ataacagcaa ttcacataaa cctcatatgt 60

tctgatacat tcaaaatccc tttatgaagc ggctgaaaaa accgcatcat ttatgatatg 120

cttcgcctct catgatctta aatgcgcgat aaatttggtc gatcaatatg acgcgcatat 180

ttggtgtggg aaggatcatat tgctaaaaaga taaagcatag ttgctgcgtt gtaagacgtc 240

ttggtgtaaa ccattggagc cacctatgac aaatgtaag tcgctttgac cttgtgtcat 300

gcgtgtttgt agttcttttag cgagtccttc tgaaga 336

ES 2 526 518 T3

<210> 34
 <211> 260
 <212> DNA
 5 <213> *Staphylococcus haemolyticus*
 <400> 34
 ctcatctatt atgataagct tcttaaaaac ataacagcaa tccacataaa cctcatatgt 60
 tctgatacat tcaaaatccc tttatgaagc ggctgaaaaa accgcatcat ttatgatatg 120
 cttccctcgc atgattttta atgctctgta tacttgctcg attaagacaa cgcgcatcat 180
 ttgatgtggg aatgtcattt tactgaatga aagtgcgtag ttgctgcgtt gtaagacgtc 240
 ctcattgcaat ccatttgatc 260
 10 <210> 35
 <211> 225
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*
 15 <400> 35
 ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca 60
 ctatcattca gcaaaatgac attcccatcat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa 120
 gtgtacagag catttaagat tatgcgtgga gaggcgtatc acaaataaaa ctaaaaatgg 180
 agtaactatt aatatagtat aaattcaata tgggtgataaa aacag 225
 20 <210> 36
 <211> 225
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*
 25 <400> 36
 ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca 60
 ctatcattca gcaaaatgac attcccatcat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa 120
 gtgtacagag catttaagat tatgcgtgga gaggcgtatc acaaataaaa ctaaaaatgg 180
 agtaactatt aatatagtat aaattcaata tgggtgataaa aacag 225
 30 <210> 37
 <211> 225
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*
 35 <400> 37
 ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgtag taactacgca 60
 ctatcattca gcaaaatgac atttcccatcat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa 120
 gtgtacagag catttaagat tatgcgtgga gaggcgtatc ataagtaatg aggttcatga 180
 tttttgacat agttagcctc cgcagtcctt caagtaaata atatc 225
 40 <210> 38
 <211> 225
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

ES 2 526 518 T3

<400> 38

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattta gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtgtt aattgaacaa	120
gtgtatagag catttaagat tatgcgtgga gaggcgtatc ataagtgatg cttgttagaa	180
tgatttttaa caatatgaaa tagctgtgga agctcaaaca tttgt	225

5 <210> 39

<211> 1500

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

10 <400> 39

tgagtctggt aaagatacac aaccaattgg taaagagaaa gtgatgaatc cagcgaaaca	60
accagcgaca ggtaaaagttg tgttgttacc agcgcataga ggaactgtta gtagcggtag	120
agaaggttct gatcgcgcat tagaaggaac tgctgtatca agtaagagtg ggaaacaatt	180
ggctaacatg tcagcgccta aaggtagcgc acatgagaaa cagttaccaa aaactggaac	240
tgatcaaagt tcaagcccag cagcgatgtt tgtattagta acaggtatag gtttaatcgc	300
gactgtacga cgtagaaaag ctagctaaaa tatattgaaa acaatactac tgtatttctt	360
aaataagagg tacggtagtg tttttttatg gaaaaagct ataaccgttg ataaatatgg	420
gatataaaaa cggggataag taataagaca tcaaggtatt tatccacaga aatggggata	480
gttatccaga attgtgtaca atttaaagag aaataccac aatgccaca gagttatcca	540
caaatacaca agttatacac tgaaaattgg gcatgaatgt cagaaaaata tcaaaaactg	600
caaaaaaact tggataata agagggaaaa gtgtgaacaa gttaataact tgtggataac	660
tggaaagttg ataacaattt ggaggaccaa acgacatgaa aatcaccatt ttagctgtag	720
ggaaactaaa agagaaatat tggaagcaag ccatagcaga atatgaaaaa cgtttaggcc	780
catacaccaa gatagacatc atagaagtta cagacgaaaa agcaccagaa aatatgagcg	840
acaaagaaat cgagcaagta aaagaaaaag aaggccaacg aatactagcc aaaatcaaac	900
cacaatccac agtcattaca ttagaaatac aaggaaagat gctatcttcc gaaggattgg	960
cccaagaatt gaaccaacgc atgaccaag ggcaaagcga ctttgtattc gtcattggcg	1020
gatcaaacgg cctgcacaag gacgtcttac aacgtagtaa ctacgcacta tcattcagca	1080
aaatgacatt tccacatcaa atgatgcggg ttgtgttaat tgaacaagtg tacagagcat	1140
ttaagattat gcgtggagaa gcttatcata aatgatgcgg ttttttcttg aaaaatttaa	1200
ttagatatta gaatccttta atttatttga aaatcagaag tgagtaacaa tggtaagtga	1260
aatagttagt gcaataattg gaattatagg gatttattga gatgtatgga gatgcggggc	1320
atttatcgag tagattacaa ttagagcatg taggtgattt gctttttcat gcaagtaaa	1380
ataaactttt aaaaatccta taagaattta gaaactttag aataactaaa tattaataaa	1440
atatcgtagt aaagtgaat taggatgaga gaccatagct aaattaaaaa ttttagcaaa	1500

15

<210> 40

<211> 1501

<212> DNA

ES 2 526 518 T3

<213> Staphylococcus aureus

<400> 40

ttgcacaacc aattggtaaa gacaaagtga tggatccagc gaaacaacca gcgccaagta	60
aagttgtatt gttgccagcg catagaggaa ctgttagtag tggtagagaa ggttctgatac	120
gcgcattgga aggaactgct gtatcaagta agagcgggaa acaattggct agcatgtcag	180
cgcctaaagg tagcacacat gagaagcagt taccaaaaaac tggaactgat caaagttcaa	240
gcccagcagc gatgtttgta ttagtagcag gtatagggtt aattgcgact gtacgacgta	300
gaaaagctag ctaaaatata ttgaaaacaa tactactgta tttcttaaac aagaggtagc	360
gtagtggttt tttatgaaaa aaagctataa ccgttgataa atatgggata taaaaacggg	420
5 gataagtaat aagacatcaa ggtattttatc cacagaaatg gggatagtta tccagaattg	480
tgtacaatth aaagagaaat acccacaatg cccacagagt tatccacaaa tacacagggt	540
atacactaaa aattgggcat gaatgtcaga aaaatatcaa aaactgcaaa gaatattggt	600
ataataagag ggaacagtgt gaacaagtta ataactgtg gataactgga aagttgataa	660
caatttgag gaccaaacga catgaaaatc accatthtag ctgtaggga actaaaagag	720
aaatattgga agcaagccat agcagaatat gaaaaacgtt taggcccata caccaagata	780
gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag	840
caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata ctageccaaa tcaaaccaca atcaacagtc	900
attacattag aaatacaagg aaagatgcta tcttccgaag gattggccca agaattgaac	960
caacgcatga cccaagggca aagcgactth gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg	1020
cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac gcactatcat tcagcaaaat gacattccca	1080
catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa caagtgtaca gagcatttaa gattatgcgt	1140
ggagaagcat atcataaatg atgcggttht ttcagccgct tcataaaggg atthtgaatg	1200
tatcagaaca tatgaggtht atgtgaattg ctgttatgtt ttaagaagc ttatcataag	1260
taatgaggth catgatttht gacatagtta gcctccgag tctthcattt caagtaaata	1320
atagcgaaat attctthtata ctgaatactt atagtgaagc aaagthctag cthtgagaaa	1380
attctthctg caactaaata tagtaaatta cggtaaaata taaataagta catattgaag	1440
aaaatgagac ataatatatt ttataatagg agggaatttc aaatgataga caacttht	1500
c	1501

<210> 41

10 <211> 2480

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 41

15

ES 2 526 518 T3

aaaccgtctg gcaaacgaat taatgctatt caaatTTTTaa ataaagagac aggtaagttt	60
gaaaatattg atttaaaacg tgtatatcac gtaacgatga atgacttcac agcatcaggt	120
ggcgacggat atagtatgtt cggTggTcct agagaagaag gtatttcatt agatcaagta	180
ctagcaagtt atttaaaaac agctaactta gctaagtatg atacgacaga accacaacgt	240
atgttattag gtaaaccagc agtaagtga caaccagcta aaggacaaca aggtagcaaa	300
ggtagtaagt ctggtaaaga tacacaacca attggTgacg acaaagtgat ggatccagcg	360
aaaaaaccag ctccaggtaa agttgtattg ttgctagcgc atagaggaa tgtagtagc	420
ggtagacaag gttctggTcg cacaatagaa ggagctactg tatcaagcaa gagtgggaaa	480
caattggcta gaatgtcagt gcctaaaggt agcgcgcag agaaacagtt accaaaaact	540
ggaactaatc aaagttcaag ccagaagcg atgtttgtat tattagcagg tataggTTta	600
atcgcgactg tacgacgtag aaaagctagc taaaatatat tgaaaataat actactgtat	660
ttcttaata agaggtacgg tagtgTTTT ttatgaaaa aagcgataac cgttgataaa	720
tatgggatat aaaaacgagg ataagtaata agacatcaag gtgtttatcc acagaaatgg	780
ggatagtTat ccagaattgt gtacaattta aagagaaata ccacaatgc ccacagagtt	840
accacaaat acacaggtta tacaactaaa atcgggcata aatgtcagga aaatatcaaa	900
aactgcaaaa aatattggta taataagagg gaacagtgtg aacaagttaa taacttgtgg	960
ataactggaa agttgataac aatttggagg accaaacgac atgaaaatca ccattttagc	1020
tgtagggaaa ctaaaagaga aatattggaa gcaagccata gcagaatatg aaaaacgttt	1080
aggcccatc accaagatag acatcataga agttccagac gaaaaagcac cagaaaatat	1140
gagtgacaaa gaaattgagc aagtaaaaga aaaagaaggc caacgaatac tagccaaaat	1200
caaaccacaa tccacagtca ttacattaga aatacaagga aagatgctat cttccgaagg	1260
attggcccaa gaattgaacc aacgcatgac ccaagggcaa agcgactttg ttttcgtcat	1320
tggcggatca aacggcctgc acaaggacgt cttacaacgc agtaactacg cactatcatt	1380
cagcaaatg acattccac atcaaatgat gcgggttgtg ttaattgaac aagtgtacag	1440
agcatttaag attatgcgag gagaagctta tcataagtaa tgaggttcat gatTTTTgac	1500
atagttagcc tccgcagtct ttcatTTcaa gtaaataata gcgaaatatt ctttatactg	1560
aatacttata gtgaagcaaa gttctagctt tgagaaaatt ctttctgcaa ctaaatatag	1620
taaattacgg taaaatataa ataagtacat attgaagaaa atgagacata atatatTTta	1680
taataggagg gaatttcaaa tgatagacaa ctttatgcag gtccttaaat taattaaaga	1740
gaaacgtacc aataatgtag ttaaaaaatc tgattgggat aaaggtgatc tatataaac	1800
tttagtccat gataagttac ccaagcagtt aaaagtgcac ataaaagaag ataaatatTC	1860
agttgtaggg aaggttgcta ctgggaacta tagtaaagtt ccttggattt caatatatga	1920
tgagaatata acaaaagaaa caaggatgg atattatttg gtatatcttt ttcacccgga	1980
aggagaaggc atatacttat ctttgaatca aggatggTca aagataagtg atatgtttcc	2040
gcgggataaa aatgctgcaa acaaaagagc attaactTTta tcttccgaac tcaataaata	2100

ES 2 526 518 T3

tattacatca aatgaattta atactggaag attttattac gcagaaaata aagattcatc	2160
ttatgattta aaaaatgatt atccatcagg atattotcat ggatcaataa gattcaaata	2220
ttatgatttg aatgaaggat tcacagaaga agatatgcta gaggatttaa agaaattttt	2280
agaactattt aatgaattag cttcaaaagt tacaaaaaca tcctatgata gcttggtcaa	2340
tagcatagac gaaatacagg aagacagcga aattgaagaa attagaacag cacaaaaaga	2400
taagacactc aaggaagtgg aagcacctaa aggaataatt ccaaaatata aaaaaggtgt	2460
atcaaagact actaaaaatg	2480

<210> 42

<211> 1045

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 42

ccagtttttt gtttaatgaa caaggtaaat tacgagataa tatttgaaga aaacaataaa	60
gtagagatgg atttccatat cctctttagt agcggttttt atctgtaagg tttattaata	120
attaaataaa taggcgggat agttatatat agcttattaa tgaaagaata tgattattaa	180
tttagtatta tattttaata ttaaaaagaa gatatgaaat aattattcat accttcacc	240
ttacaataat tagttttcaa tcgaatatta agattattag tagtcttaaa agttaagact	300
tccttatatt aatgacctaa tttattatit gcctcatgaa ttatcttttt atttctttga	360
tatgtcccaa accacatcgt gatatacact acaataaata ttatgatgaa actaataata	420
ttctcaaagt tcagatggaa ccaacctgct agaatagcga gtgggaagaa taggattatc	480
atcaatataa agtgaactac agtctgtttt gttatactcc aatcggtatc tgtaaatac	540
aaattaccat aagtaaacaa aattccaatc aatgccata gtgctacaca tattagcata	600
ataaccgctt cattaaagtt ttcataataa attttacca taaaagaatc tggatatagt	660
ggtacatatt tatcccttga aaaaaataag tgaagtaatg acagaaatca taagaccagt	720
gaacgcacct ttttgaacag cgtggaataa ttttttcata gtgagatgga ccattccatt	780
tgttttctaac ttcaagtgat caatgtaatt tagattgata atttctgatt ttgaaatacg	840
cacgaatatt gaaccgacaa gctcttcaat ttggtaaagt cgctgataaa gttttaaagc	900
tttattattc attgttatcg catacctggt tatcttctac tatgaactgt gcaatttggt	960
ctagatcaat tgggtaaaca tgatggttct gttgcaaagt aaaaaaatat agctaaccac	1020
10 taatttatca tgtcagtgtt cgctt	1045

<210> 43

<211> 1118

<212> DNA

15 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 43

ES 2 526 518 T3

cagagcattt aagattatgc gtggagaagc gtaccacaaa tgatgcgggtt ttttatccag	60
ttttttgttt aatgaacaag gtaaattacg agataatatt tgaagaaaac aataaagtag	120
agatggattt ccatatcctc tttagtagcg gtttttatct gtaaggttta ttaataatta	180
aataaatagg cgggatatgt atatatagct tattaatgaa agaatatgat tattaattta	240
gtattatatt ttaatatata aaagaagata tgaataaatt attcatacct tccaccttac	300
aataattagt tttcaatcga atattaagat tattagtagt cttaaaagtt aagacttcct	360
tatattaatg acctaattta ttatttgcoct catgaattat ctttttattt ctttgatatg	420
tcccaaacca catcgtgata taaactacaa taaatattat gatgaaacta ataataattct	480
caaagttcag atggaaccaa cctgctagaa tagcgagtgg gaagaatagg attatcatca	540
atataaagtg aactacagtc tgttttggtta tactccaatc ggtatctgta aatatcaa	600
taccataagt aaacaaaatt ccaatcaatg cccatagtcg tacacatatt agcataataa	660
ccgcttcatt aaagttttca taataaattt taccataaaa agaactctgga tatagtagta	720
catatttata ccttgaaaaa aataagtga gtaatgacag aaatcataag accagtgaac	780
gcaccttttt gaacagcgtg gaataatttt ttcatagtga gatggaccat tccatttggt	840
tctaacttca agtgatcaat gtaatttaga ttgataattt ctgattttga aatacgcacg	900
aatattgaac cgacaagctc ttcaatttgg taaagtcgct gataaagttt taaagcttta	960
ttattcattg ttatcgata cctgtttatc ttctactatg aactgtgcaa ttgtttctag	1020
atcaattggg taaacatgat ggttctgttg caaagtaaaa aaatatagct aaccactaat	1080
ttatcatgtc agtggttcgct taacttgcta gcatgatg	1118

<210> 44

<211> 1118

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 44

cagagcattt aagattatgc gtggagaagc gtaccacaaa tgatgcgggtt ttttatccag	60
ttttttgttt aatgaacaag gtaaattacg agataatatt tgaagaaaac aataaagtag	120
10 agatggattt ccatatcctc tttagtagcg gtttttatct gtaaggttta ttaataatta	180

ES 2 526 518 T3

aataaatagg cgggatatgt atatatatgt tattaatgaa agaatatgat tattaattta 240
gtattatatt ttaatatata aaagaagata tgaataaatt attcatacct tccaccttac 300
aataattagt tttcaatcga atattaagat tattagtagt cttaaaagtt aagacttcct 360
tatattaatg acctaattta ttatttgctt catgaattat ctttttattt ctttgatatg 420
tcccaaacca catcgtgata tacactacaa taaatattat gatgaaacta ataatttctt 480
caaagttcag atggaaccaa cctgctagaa tagcgagtgg gaagaatagg attatcatca 540
atataaagtg aactacagtc tgttttgtta tactccaatc ggtatctgta aatatcaaatt 600
taccataagt aaacaaaatt ccaatcaatg cccatagtcg tacacatatt agcataataa 660
ccgcttcatt aaagttttca taataaattt taccataaaa agaactctgga tatagtagta 720
catatttatt ccttgaaaaa aataagtga gtaatgacag aaatcataag accagtgaac 780
gcaccttttt gaacagcgtg gaataatttt ttcatagtga gatggaccat tccatttggt 840
tctaacttca agtgatcaat gtaatttaga ttgataattt ctgattttga aatacgcacg 900
aatattgaac cgacaagctc ttcaatttgg taaagtcgct gataaagttt taaagcttta 960
ttattcattg ttatcgata cctgtttatc ttctactatg aactgtgcaa tttgttctag 1020
atcaattggg taaacatgat ggttctgttg caaagtaaaa aaatatagct aaccactaat 1080
ttatcatgtc agtggtcgt taacttgcta gcatgatg 1118

<210> 45

<211> 1113

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 45

agcatttaag attatgcgtg gagaagcgta ccacaaatga tgcggttttt tatccagttt 60
tttgtttaatt gaacaaggta aattacgaga taatatttga agaaaacaat aaagtagaga 120
tggatttcca tatectcttt agtagcgtt tttatctgta aggtttatta ataattaaat 180
aaataggcgg gatagttata tatagcttat taatgaaaga atatgattat taatttagta 240
ttatatatta atattaaaa gaagatatga aataattatt cataccttcc acctacaat 300
aattagtttt caatcgaata ttaagattat tagtagtctt aaaagttaag acttccttat 360
attaatgacc taatttatta ttgctcct gaattatctt tttatttctt tgatatgtcc 420
caaaccacat cgtgatatac actacaataa atattatgat gaaactaata atattctcaa 480
10 agttcagatg gaaccaacct gctagaatag cgagtgggaa gaataggatt atcatcaata 540

ES 2 526 518 T3

taaagtgaac tacagtctgt tttgttatac tccaatcggg atctgtaaat atcaaattac	600
cataagtaaa caaaattcca atcaatgccc atagtgtac acatattagc ataataaccg	660
cttcattaaa gttttcataa taaattttac ccataaaaga atctggatat agtggtacat	720
atztatccct tgaaaaaaat aagtgaagta atgacagaaa tcataagacc agtgaacgca	780
cctttttgaa cagcgtggaa taattttttc atagtgtgat ggaccattcc atttgtttct	840
aacttcaagt gatcaatgta atttagattg ataattttctg attttgaaat acgcacgaat	900
attgaaccga caagctcttc aatttggtta agtcgtgat aaagttttta agctttatta	960
ttcattgtta tcgcatacct gtttatcttc tactatgaac tgtgcaattt gttctagatc	1020
aattgggtta acatgatggt tctgttgcaa agtaaaaaaa tatagctaac cactaattta	1080
tcattgtcagt gtgcgttaa cttgctagca tga	1113

<210> 46

<211> 2153

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 46

ctgtagggaa actaaaagag aaatactgga agcaagccat agcagaatat gaaaaacgtt	60
taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca ccagaaaata	120
tgagcgacaa agaaatcgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata ctagccaaaa	180
tcaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta tcttccgaag	240
gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt gtattcgtca	300
ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac gcactatcat	360
tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa caagtgtaca	420
gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcgt accacaaatg atgcggtttt ttatccagtt	480
ttttgtttta tgaacaaggt aaattacgag ataatatattg aagaaaacaa taaagtagag	540
atggatttcc atatcctctt tagtagcggg ttttatctgt aaggtttatt aataattaaa	600
taaataggcg ggatagtatt atatagctta ttaatgaaag aatatgatta ttaatttagt	660
atttatattt aatattaaaa agaagatatg aaataattat tcataccttc caccttacia	720
taattagttt tcaatcgaat attaagatta ttagtagtct taaaagttaa gacttcctta	780
tattaatgac ctaatttatt atttgccctc tgaattatct ttttatttct ttgatatgtc	840
ccaaaccaca tcgtgatata cactacaata aatattatga tgaaactaat aatattctca	900

10

ES 2 526 518 T3

```

aagttcagat ggaaccaacc tgctagaata gcgagtggga agaataggat tatcatcaat      960
ataaagtgaa ctacagtctg ttttggtata ctccaatcgg tatctgtaaa tatcaaatta      1020
ccataagtaa acaaaattcc aatcaatgcc catagtgcta cacatattag cataataacc      1080
gcttcattaa agttttcata ataaatttta ccataaaaag aatctggata tagtggtaca      1140
tatttatccc ttgaaaaaaa taagtgaagt aatgacagaa atcataagac cagtgaacgc      1200
acctttttga acagcgtgga ataatttttt catagtgaga tggaccattc catttgtttc      1260
taacttcaag tgatcaatgt aatttagatt gataatttct gattttgaaa tacgcacgaa      1320
tattgaaccg acaagctctt caatttggtg aagtcgctga taaagtttta aagctttatt      1380
attcattggt atcgcatacc tgtttatctt ctactatgaa ctgtgcaatt tgttctagat      1440
caattgggta aacatgatgg ttctgttgca aagtaaaaaa atatagctaa ccactaattt      1500
atcatgtcag tgttcgctta acttgctagc atgatgctaa tttcgtggca tggcgaaaaa      1560
ccgtagatct gatgagacct gcggttcttt ttatatagag cgtaaataca ttcaatacct      1620
tttaaagtat tctttgctgt attgatactt tgataccttg tctttcttac tttaatatga      1680
cggtagatctt gctcaatgag gttattcaaa tatttcgatg tacaatgaca gtcaggttta      1740
agtttaaaag ctttaattac tttagccatt gctaccttcg ttgaagggtgc ctgatctgta      1800
attacctttt gaggtttacc aaattgttta atgagacgtt taataaacgc atatgctgaa      1860
tgattatctc gttgcttacg caaccaaata tctaattgat gtccctctgc atcaatggca      1920
cgatataaat agctccattt tccttttatt ttgatgtacg tctcatcaat acgccatttg      1980
taataagctt ttttatgctt tttcttccaa atttgatata aaattggggc atattcttga      2040
acccaacggt agaccgttga atgatgaacg tttacaccac gtccccttaa tatttcagat      2100
atatcacgat aactcaatgc atatcttaga tagtagccaa cggctacagt gat          2153

```

<210> 47

<211> 737

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 47

```

tttaagatta tgcgtggaga agcatatcat aatgatgcg gttatttcag ccgtaatttt      60
ataatataaa gcagagttta ttaaatttta atgattactt tttattaaga attaattcta      120
gttgatatat tataatgtga aacacaaaat aataatttgt aattgttagt ttataggcat      180
10 ctgtatttgg aattttttgt agactattta aaaaatagtg tatataagta ttgagttcat      240

```

ES 2 526 518 T3

gtattaactg tcttttttca tcgttcatca agtataagga tgtagagatt tgttggataa 300
 tttcttcgga tgttttttaa attatcatta aattagatgg tatctgatct tgagttttgt 360
 ttttagtgta tgtatatattt aaaaaatttt tgattggtgt tatttgactc tcttttaatt 420
 tgacaccctc atcaataaat gtgttaaata tatcttcatt tgtacttaaa tcatcaaaat 480
 ttgccaacaa atatttgaac gtctctaaat cattatgttt gagttccggt ttgctattcc 540
 ataattccaa accatttgggt agaaagccca agctgtgatt ttgatctccc catatagctg 600
 aatttaaadc agtgagttga ttaatttttt caacacagaa atgtaatttt ggaatgagga 660
 atcgaagttg ttcttctact tgctgtactt ttcttttgtt ttcaataaaa tttctacacc 720
 atactgttat caaaccg 737

<210> 48

<211> 1592

5 <212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 48

aactaaaaga gaaatattgg aagcaagcca tagcagaata tgaaaaacgt ttaggcccat 60
 acaccaagat agacatcata gaagttccag acgaaaaagc accagaaaat atgagtgaca 120
 aagaaattga gcaagtaaaa gaaaaagaag gccaacgaat actagccaaa atcaaaccac 180
 aatccacagt cattacatta gaaatacaag gaaagatgct atcttccgaa ggattggccc 240
 aagaattgaa ccaacgcatg acccaagggc aaagcgactt tgttttcgtc attggcggat 300
 caaacggcct gcacaaggac gtcttacaac gcagtaacta cgcactatca ttcagcaaaa 360
 tgacattccc acatcaaatg atgcggttg tgtaattga acaagtgtac agagcattta 420
 agattatgag aggagaagca tatcataaat gatgcggtta tttcagccgt aattttataa 480
 tataaagcag agttttattaa attttaatga ttacttttta ttaagaatta attctagtgt 540
 atatattata atgtgaaaca caaaataata atttgtaatt gttagtattat aggcattctgt 600
 atttggaatt tttttagtagac tatttaaaaa atagtgtata taagtattga gttcatgtat 660
 taactgtctt ttttcacgt tcatcaagta taaggatgta gagatttggt ggataatttc 720
 ttcggatggt tttaaaatta tcattaaatt agatgggtatc tgatcttgag ttttgttttt 780
 agtgatgta tattttaaaa aatttttgat tgttggtatt tgactctctt ttaatttgac 840
 accctcatca ataatgtgt taaatatatc ttcatttgta cttaaatcat caaaatttgc 900
 10 caacaaatat ttgaacgtct cttaatcatt atgtttgagt tccgttttgc tattccataa 960

ES 2 526 518 T3

ttccaaacca	tttggtagaa	agcccaagct	gtgattttga	tctccccata	tagctgaatt	1020
taaatcagtg	agttgattaa	ttttttcaac	acagaaatgt	aattttggaa	tgaggaatcg	1080
aagttgttct	tctacttgct	gtacttttct	tttgttttca	ataaaatttc	tacaccatac	1140
tgttatcaaa	cgcaccaatta	ttgtgcacaa	tcctccaatg	attgtagata	aaattgacaa	1200
tatattacac	acctttctta	gaggttttatt	aacatctatt	tttgaattta	aaattattac	1260
tttggtagcg	ttataacctt	tttaacagat	tagagaaaaa	ttgaatgata	gattgaagaa	1320
tttccaaaat	accgtcccat	atgcggtgaa	ggagatttct	attttcttct	gtattcaaat	1380
ctttggcttt	atcctttgct	ttattcaata	aatcatctga	gtttttttca	atatttttta	1440
atacatcttt	ggcattttgt	ttaaatactt	taggatacga	agttagggca	ttagagtttg	1500
ccacattaat	catattatta	ttaatcattt	gaatttgatt	atctgataat	atctctgata	1560
acctacgctc	atcgaggact	ttattaacag	tg			1592

<210> 49

<211> 730

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 49

agcatttaag	attatgcgtg	gagaagcata	tcataaatga	tgcggttatt	tcagccgtaa	60
ttttataata	taaagcagag	tttattaaat	tttaatgatt	actttttatt	aagaattaat	120
tctagttgat	atattataat	gtgaaacaca	aaataataat	ttgtaattgt	tagtttatag	180
gcatctgtat	ttggaatfff	ttgtagacta	tttaaaaaat	agtgtatata	agtattgagt	240
tcatgtatta	actgtctttt	ttcatcgttc	atcaagtata	aggatgtaga	gatttggttg	300
ataatttctt	cggatgtfff	taaaattatc	attaaattag	atggatatctg	atcttgagtt	360
ttgtttttag	tgtatgtata	ttttaaaaaa	tttttgattg	ttgttatttg	actctctttt	420
aatttgacac	cctcatcaat	aaatgtgtta	aatatatctt	catttgtact	taaatcatca	480
aaatttgcca	acaaatattt	gaacgtctct	aatcatttat	gtttgagttc	cgttttgcta	540
ttccataatt	ccaaaccatt	tggtagaaag	cccaagctgt	gattttgata	tccccatata	600
gctgaattta	aatcagtgag	ttgattaatt	ttttcaacac	agaaatgtaa	ttttggaatg	660
aggaatcgaa	gttggtcttc	tacttgctgt	acttttcttt	tgttttcaat	aaaattttcta	720
10 caccatactg						730

<210> 50

<211> 1696

<212> DNA

15 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 50

ES 2 526 518 T3

```

aaagagaaat attggaagca agccatagca gaatatgaaa aacgtttagg ccatacacc      60
aagatagaca tcatagaagt tccagacgaa aaagcaccag aaaatatgag tgacaaagaa      120
attgagcaag taaaagaaaa agaaggccaa cgaatactag ccaaaatcaa accacaatcc      180
acagtcatta cattagaaat acaaggaaa atgctatctt ccgaaggatt ggccaagaa      240
ttgaaccaac gcatgaccca agggcaaagc gactttgttt tcgtcattgg cggatcaaac      300
ggcctgcaca aggacgtctt acaacgcagt aactacgcac tatcattcag caaaatgaca      360
ttcccacatc aaatgatgcg ggttgtgtta attgaacaag tgtacagagc atttaagatt      420
atgcgaggag aagcatatca taaatgatgc ggttatttca gccgtaattt tataatataa      480
agcagagttt attaaatttt aatgattact ttttattaag aattaattct agttgatata      540
ttataatgtg aaacacaaaa taataatttg taattgttag tttataggca tctgtatttg      600
gaattttttg tagactattt aaaaaatagt gtatataagt attgagttca tgtattaact      660
gtcttttttc atcgttctac aagtataagg atgtagagat ttgttggata atttcttcgg      720
atgtttttta aattatcatt aaattagatg gtatctgata ttgagttttg tttttagtgt      780
atgtatatat taaaaaattt ttgattgttg ttatttgact ctcttttaat ttgacaccct      840
catcaataaa tgtgttaaat atatcttcat ttgtacttaa atcatcaaaa tttgccaaca      900
aatatttgaa cgtctctaaa tcattatgtt tgagtccgt tttgctattc cataattcca      960
aaccatttgg tagaaagccc aagctgtgat tttgatctcc ccatatagct gaatttaa      1020
cagtgaagtg attaatTTTT tcaacacaga aatgtaattt tggaatgagg aatcgaagtt      1080
gttcttctac ttgctgtact tttcttttgt tttcaataaa atttctacac catactgtta      1140
tcaaaccgcc aattattgtg cacaatcctc caatgattgt agataaaatt gacaatatat      1200
tacacacctt tottagaggt ttattaacat ctatttttga atttaaaatt attactttgg      1260
tagcgttata acctatttaa cagattagag aaaaattgaa tgatcgattg aagaatttcc      1320
aaaataccgt cccatatgcg ttgaaggaga tttctatttt cttctgtatt caaatctttg      1380
gctttatcct ttgctttatt caataaatca tctgagtttt tttcaatatt ttttaataca      1440
tctttggcat tttgtttaaa tacttttagga tcggaagtta gggcattaga gtttgccaca      1500
ttaatcatat tattattaat catttgaatt tgattatctg ataatatctc tgataaccta      1560
cgctcatcga ggactttatt aacagtgtct tcaacttgtt gttgtgtgat ttgtttatct      1620
tgattttggt taatatctgc aagttgttct ttaatatctg ctatagaagc atttaaagct      1680
tcattctgaat acccat                                     1696

```

5 <210> 51
 <211> 2122
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

10 <400> 51

ES 2 526 518 T3

ggaaactaaa agagaaatat tggaagcaag ccatagcaga atatgaaaaa cgtttaggcc	60
catacaccaa gatagacatc atagaagttc cagacgaaaa agcaccagaa aatatgagcg	120
acaaagaaat tgagcaagta aaagaaaaag aaggccaacg aatactagcc aaaatcaaac	180
cacaatcaac agtcattaca ttagaaatac aaggaaagat gctatcttcc gaaggattgg	240
cccaagaatt gaaccaacgc atgaccaag ggcaaagcga ctttgtattc gtcattggcg	300
gatcaaacgg cctgcacaag gacgtcttac aacgcagtaa ctacgcacta tcattcagca	360
aatgacatt cccacatcaa atgatgcggg ttgtgttaat tgaacaagtg tacagagcat	420
ttaagattat gcgtggagaa gcgtaccaca aatgatgcgg ttttttatcc agttttttgt	480
ttaatgaaca aggtaaatta cgagataata tttgaagaaa acaataaagt agagatggat	540
ttccatatcc tcttttagtag cggtttttat ctgtaagggtt tattaataat taaataaata	600
ggcgggtag ttatatatag cttattaatg aaagaatatg attattaatt tagtattata	660
ttttaatatt aaaaagaaga tatgaaataa ttattcatac cttccacctt acaataatta	720
gttttcaatc gaatattaag attattagta gtcttaaaag ttaagacttc cttatattaa	780
tgacctaat tattatttgc ctcatgaatt atctttttat ttctttgata tgtcccaaac	840
cacatcgtga tatacactac aataaatatt atgatgaaac taataatatt ctcaaagttc	900
agatggaacc aacctgctag aatagcgagt gggaagaata ggattatcat caatataaag	960
tgaactacag tctgttttgt tatactccaa tcggtatctg taaatatcaa attaccataa	1020
gtaaacaaaa ttccaatcaa tgcccatagt gctacacata ttagcataat aaccgcttca	1080
ttaaagtttt cataataaat ttaccata aaagaatctg gatatagtg tacatattta	1140
tcccttgaaa aaaataagtg aagtaatgac agaaatcata agaccagtga acgcaccttt	1200
ttgaacagcg tggaataatt ttttcatagt gagatggacc attccatttg tttctaactt	1260
caagtgatca atgtaattta gattgataat ttctgatttt gaaatacgca cgaatattga	1320
accgacaagc tcttcaattt ggtaaagtcg ctgataaagt tttaaagctt tattattcat	1380
tgttatcgca tacctgttta tcttctacta tgaactgtgc aatttgttct agatcaattg	1440
ggtaaacatg atggttctgt tgcaaagtaa aaaaatatag ctaaccacta atttatcatg	1500
tcagtgttcg cttaacttgc tagcatgatg ctaatttcgt ggcatggcga aaatccgtag	1560
atctgatgag acctgcggtt ctttttatat agagcgtaaa tacattcaat accttttaaa	1620
gtattctttg ctgtattgat actttgatac cttgtctttc ttactttaat atgacggtga	1680
tcttgctcaa tgaggttatt cagatatttc gatgtacaat gacagtcagg ttttaagttta	1740
aaagctttta ttactttagc cattgctacc ttcgttgaag gtgcctgatc tgtaattacc	1800
ttttgaggtt taccaaattg tttaatgaga cgtttgataa acgcatatgc tgaatgatta	1860
tctcgttgct tacgcaacca aatatctaata gtatgtccct ctgcatcaat ggcacgatat	1920
aaatagctcc attttccttt tattttgatg tacgtctcat caatacgcca tttgtaataa	1980
gcttttttat gctttttcct ccaaatttga tacaaaattg gggcatattc ttgaacccaa	2040
cggtagaccg ttgaatgatg aacgtttaca ccacgttccc ttaatatctc agatatatca	2100
cgataactca atgtatatct ta	2122

<210> 52
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipos i y ii
 <220>
 10 <221> fuente
 <222> (1)..(21)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 52
 15 gatagactaa ttatcttcac c 21
 <210> 53
 <211> 21
 20 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipos i y ii
 25 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(21)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 30 <400> 53
 cagactgtgg acaaactgat t 21
 35 <210> 54
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipos i y ii
 <220>
 <221> fuente
 45 <222> (1)..(20)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 54
 50 tgagatcatc tacatcttta 20
 <210> 55
 <211> 20
 <212> DNA
 55 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipos i y ii
 60 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(20)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 65 <400> 55

ggatcaaaag ctactaaatc 20
 <210> 56
 <211> 20
 5 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipos i y ii
 10 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(20)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 15 <400> 56
 atgctctttg tttgcagca 20
 20 <210> 57
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 25 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipos i y ii
 <220>
 <221> fuente
 30 <222> (1)..(23)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 57
 35 atgaaagact gcggaggcta act 23
 <210> 58
 <211> 23
 <212> DNA
 40 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo iii
 45 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(23)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 50 <400> 58
 atattctaga tcatcaatag ttg 23
 <210> 59
 55 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 60 <223> cebador PCR para orfX
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(21)
 65 <223> S. aureus resistente a meticilina

<400> 59
aagaattgaa ccaacgcatg a 21

5 <210> 60
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

10 <220>
<223> cebador PCR para orfSA0022

<220>
<221> fuente
15 <222> (1)..(21)
<223> S. aureus

<400> 60

20 gttcaagccc agaagcgatg t 21

<210> 61
<211> 23
<212> DNA
25 <213> Artificial

<220>
<223> cebador PCR para orfSA0022

30 <220>
<221> fuente
<222> (1)..(23)
<223> S. aureus

35 <400> 61

tcgggcataa atgtcaggaa aat 23

<210> 62
40 <211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
45 <223> cebador PCR para orfX

<220>
<221> fuente
<222> (1)..(21)
50 <223> S. aureus

<400> 62

aaacgacatg aaaatcacca t 21

55 <210> 63
<211> 33
<212> DNA
<213> Artificial

60 <220>
<223> cebador PCR para orfSA0022

<220>
65 <221> fuente
<222> (1)..(33)

<223> S. aureus
 <400> 63
 5 ttattaggt aaccagcagt aagtgaacaa cca 33
 <210> 64
 <211> 19
 <212> DNA
 10 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para orfX
 15 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(19)
 <223> S. aureus
 20 <400> 64
 ggatcaaacg gcctgcaca 19
 <210> 65
 25 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> cebador PCR para MREP tipo v
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(26)
 35 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 65
 cacagaaatg taattttgga atgagg 26
 40 <210> 66
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial
 45 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipos i y ii
 <220>
 50 <221> fuente
 <222> (1)..(29)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 66
 55 gtcaaaaatc atgaacctca ttacttatg 29
 <210> 67
 <211> 29
 60 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo iii
 65 <220>

<221> fuente
 <222> (1)..(29)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 5 <400> 67
 atttcatata tgtaattcct ccacatctc 29
 <210> 68
 10 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 15 <223> cebador PCR para IS431
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(20)
 20 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 68
 tctacggatt ttcgcatgc 20
 25 <210> 69
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> cebador PCR para mecA
 <220>
 35 <221> fuente
 <222> (1)..(27)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 69
 40 aacaggtgaa ttattagcac ttgtaag 27
 <210> 70
 <211> 21
 45 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para orfX
 50 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(21)
 <223> S. aureus
 55 <400> 70
 atcaaatgat gcgggttg t 21
 60 <210> 71
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial
 65 <220>
 <223> cebador PCR para orfX

<220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(19)
 5 <223> S. aureus

 <400> 71

 tcattggcgg atcaaacgg 19
 10
 <210> 72
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial
 15
 <220>
 <223> cebador PCR para orfX

 <220>
 20 <221> fuente
 <222> (1)..(22)
 <223> S. aureus

 <400> 72
 25
 acaacgcagt aactacgcac ta 22

 <210> 73
 <211> 22
 30 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 <223> cebador PCR para orfX
 35
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(22)
 <223> S. aureus
 40
 <400> 73

 taactacgca ctatcattca gc 22
 45
 <210> 74
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50
 <220>
 <223> cebador PCR para orfX

 <220>
 <221> fuente
 55 <222> (1)..(22)
 <223> S. aureus

 <400> 74
 60 acatcaaattg atgcgggttg tg 22

 <210> 75
 <211> 22
 <212> DNA
 65 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador PCR para orfX

<220>
 5 <221> fuente
 <222> (1)..(22)
 <223> S. aureus

<400> 75
 10 tcaaatgatg cgggtgtgt ta 22

<210> 76
 <211> 24
 15 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador PCR para orfX

20 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(24)
 <223> S. aureus

25 <400> 76
 caaatgatgc ggggtgtgtt aatt 24

30 <210> 77
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo iv

<220>
 <221> fuente
 40 <222> (1)..(26)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

<400> 77

45 ctactatgaa ctgtgcaatt tgttct 26

<210> 78
 <211> 2007
 <212> DNA
 50 <213> Staphylococcus aureus

<400> 78

atgaaaaaga taaaaattgt tccacttatt ttaatagttg tagttgtcgg gtttggtata 60
 tatttttatg cttcaaaaga taaagaaatt aataatacta ttgatgcaat tgaagataaa 120
 aatttcaaac aagtttataa agatagcagt tatatttcta aaagcgataa tgggtgaagta 180
 gaaatgactg aacgtccgat aaaaatatat aatagtttag gcgttaaaga tataaacatt 240
 caggatcgta aaataaaaaa agtatctaaa aataaaaaac gagtagatgc tcaatataaa 300

55

ES 2 526 518 T3

attaaaacaa actacggtaa cattgatcgc aacgttcaat ttaattttgt taaagaagat 360
 ggtatgtgga agttagattg ggatcatagc gtcattattc caggaatgca gaaagaccaa 420
 agcatacata ttgaaaattt aaaatcagaa cgtggtaaaa ttttagaccg aaacaatgtg 480
 gaattggcca atacaggaac acatatgaga ttaggcatcg ttccaaagaa tgtatctaaa 540
 aaagattata aagcaatcgc taaagaacta agtattttctg aagactatat caacaacaaa 600
 tggatcaaaa ttgggtacaa gatgatacct tcgttccact ttaaaaccgt taaaaaaatg 660
 gatgaatatt taagtgtatt cgcaaaaaaa tttcatctta caactaatga aacagaaagt 720
 cgtaactatc ctctagaaaa agcgacttca catctattag gttatgttgg tcccattaac 780
 tctgaagaat taaaacaaaa agaataataa ggctataaag atgatgcagt tattggtaaa 840
 aagggactcg aaaaacttta cgataaaaag ctccaacatg aagatggcta tcgtgtcaca 900
 atcgttgacg ataatagcaa tacaatcgca catacattaa tagagaaaaa gaaaaaagat 960
 ggcaaagata ttcaactaac tattgatgct aaagtccaaa agagtattta taacaacatg 1020
 aaaaatgatt atggctcagg tactgctatc caccotcaaa caggtgaatt attagcactt 1080
 gtaagcacac cttcatatga cgtctatcca tttatgtatg gcatgagtaa cgaagaatat 1140
 aataaattaa ccgaagataa aaaagaacct ctgctcaaca agttccagat tacaacttca 1200
 ccaggttcaa ctcaaaaaat attaacagca atgattgggt taaataacaa aacattagac 1260
 gataaaacaa gttataaaat cgatggtaaa ggttggtcaaa aagataaatc ttgggggtgt 1320
 tacaacgtta caagatatga agtggtaaat ggtaatatcg acttaaaaca agcaatagaa 1380
 tcatcagata acattttctt tgctagagta gcactcgaat taggcagtaa gaaatttgaa 1440
 aaaggcatga aaaaactagg tgttggtgaa gatataccaa gtgattatcc attttataat 1500
 gctcaaattt caaacaacaaa tttagataat gaaatattat tagctgattc aggttacgga 1560
 caaggtgaaa tactgattaa ccagtagacg atcctttcaa tctatagcgc attagaaaat 1620
 aatggcaata ttaacgcacc tcacttatta aaagacacga aaaacaaagt ttggaagaaa 1680
 aatattattt ccaaagaaaa tatcaatcta ttaaagatg gtatgcaaca agtcgtaaat 1740
 aaaacacata agaagatat ttatagatct tatgcaaact taattggcaa atccggtact 1800
 gcagaactca aaatgaaaca aggagaaagt ggcagacaaa ttgggtggtt tatatcatat 1860
 gataaagata atccaaacat gatgatggct attaatgtta aagatgtaca agataaagga 1920
 atggctagct acaatgcaa aatctcaggt aaagtgtatg atgagctata tgagaacggt 1980
 aataaaaaat acgatataga tgaataa 2007

- 5 <210> 79
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial

- 10 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo iv

- <220>
 <221> fuente

- 15 <222> (1)..(29)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

<400> 79
 caaatattat ctcgtaattt acctgttc 29
 5 <210> 80
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial
 10 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo V
 <220>
 15 <221> fuente
 <222> (1)..(29)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 80
 20 cctcgtcttta tattataaaa ttacggctg 29
 <210> 81
 <211> 27
 25 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para mecA
 30 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(27)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 35 <400> 81
 attgctgtta atatttttg agttgaa 27
 40 <210> 82
 <211> 2007
 <212> DNA
 <213> Staphylococcus aureus
 45 <400> 82

ES 2 526 518 T3

atgaaaaaga taaaaattgt tccacttatt ttaatagttg tagttgtcgg gtttggata	60
tatttttatg cttcaaaaaga taaagaaatt aataatacta ttgatgcaat tgaagataaa	120
aatttcaaac aagtttataa agatagcagt tataatttcta aaagcgataa tggatgaagta	180
gaaatgactg aacgtccgat aaaaatatat aatagtttag gcgttaaaga tataaacatt	240
caggatcgta aaataaaaaa agtatctaaa aataaaaaac gagtagatgc tcaatataaa	300
attaaaaaca actacggtaa cattgatcgc aacgttcaat ttaattttgt taaagaagat	360
ggtatgtgga agttagattg ggatcatagc gtcattattc caggaatgca gaaagaccaa	420
agcatacata ttgaaaattt aaaatcagaa cgtggtaaaa ttttagaccg aaacaatgtg	480
gaattggcca atacaggaac agcatatgag ataggcatcg ttcaaagaa tgtatctaaa	540
aaagattata aagcaatcgc taaagaacta agtatttctg aagactatat caaacaaca	600
atggatcaaa attgggtaca agatgatacc ttcgttccac ttaaaaccgt taaaaaatg	660
gatgaatatt taagtgattt cgcaaaaaa tttcatctta caactaatga aacagaaagt	720
cgtaactatc ctctagaaaa agcgacttca catctattag gttatgttgg tcccattaac	780
tctgaagaat taaaacaaaa agaataataa ggctataaag atgatgcagt tattggtaaa	840
aagggactcg aaaaacttta cgataaaaag ctccaacatg aagatggcta tcgtgtcaca	900
atcgttgacg ataatagcaa tacaatcgca catacattaa tagagaaaaa gaaaaaagat	960
ggcaaagata ttcaactaac tattgatgct aaagttcaaa agagtattta taacaacatg	1020
aaaaatgatt atggctcagg tactgctatc caccotcaaa caggtgaatt attagcactt	1080
gtaagcacac cttcatatga cgtctatcca tttatgtatg gcatgagtaa cgaagaatat	1140
aataaattaa ccgaagataa aaaagaacct ctgctcaaca agttccagat tacaacttca	1200
ccagggtcaa ctcaaaaaat attaacagca atgattgggt taaataacaa aacattagac	1260
gataaaacaa gttataaaat cgatggtaaa ggttggtcaaa aagataaatc ttgggggtgt	1320
tacaacgtta caagatatga agtggtaaat ggtaatatcg acttaaaaca agcaatagaa	1380
tcatcagata acattttctt tgctagagta gcactcgaat taggcagtaa gaaatttgaa	1440
aaaggcatga aaaaactagg tgttgggtgaa gatataccaa gtgattatcc attttataat	1500
gctcaaattt caaacaacaa tttagataat gaaatattat tagctgattc aggttacgga	1560
caaggtgaaa tactgattaa ccagtacag atcctttcaa tctatagcgc attagaaaat	1620
aatggcaata ttaacgcacc tcaattatta aaagacacga aaaacaaagt ttggaagaaa	1680
aatattattt ccaaagaaaa tatcaatcta ttaactgatg gtatgcaaca agtcgtaaat	1740
aaaacacata agaagatat ttatagatct tatgcaaact taattggcaa atccggtact	1800
gcagaactca aaatgaaaca aggagaaact ggagacaaa ttgggtggtt tatatcatat	1860
gataaagata atccaacat gatgatggct attaatgtta aagatgtaca agataaagga	1920
atggctagct acaatgccaa aatctcaggt aaagtgtatg atgagctata tgagaacggt	1980
aataaaaaat acgatataga tgaataa	2007

5 <210> 83
 <211> 36
 <212> DNA

<213> Artificial
 <220>
 <223> Sonda para orfX

 5 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(36)
 <223> S. aureus

 10 <400> 83

 cccacccac atcaaatgat gcgggttggtg ggtggg 36

 <210> 84
 15 <211> 37
 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 20 <223> Sonda para orfX

 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(37)
 25 <223> S. aureus

 <400> 84

 cccgcgcgta gttactgcgt tgtaagacgt ccgcggg 37
 30
 <210> 85
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial
 35
 <220>
 <223> cebador PCR para cromosoma de S. aureus

 <220>
 40 <221> fuente
 <222> (1)..(27)
 <223> S. aureus

 <400> 85
 45
 gttttatca ccatattgaa ttatata 27

 <210> 86
 <211> 25
 50 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 <223> cebador PCR para cromosoma de S. aureus
 55
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(25)
 <223> S. aureus
 60
 <400> 86

 atttactga aagactgcgg aggag 25

 65 <210> 87
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 5 <223> cebador PCR para cromosoma de S. aureus

 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(24)
 10 <223> S. aureus

 <400> 87

 tgtttgagct tccacagcta ttc 24
 15
 <210> 88
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial
 20
 <220>
 <223> cebador PCR para cromosoma de S. aureus

 <220>
 25 <221> fuente
 <222> (1)..(27)
 <223> S. aureus

 <400> 88
 30
 ccctataatt ccaattattg cactaac 27

 <210> 89
 <211> 25
 35 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 <223> cebador PCR para cromosoma de S. aureus
 40
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(25)
 <223> S. aureus
 45
 <400> 89

 atgaggagat aataatttgg agggt 25
 50
 <210> 90
 <211> 2007
 <212> DNA
 <213> Staphylococcus aureus
 55 <400> 90

ES 2 526 518 T3

atgaaaaaga taaaaattgt tccacttatt ttaatagttg tagttgtcgg gtttggtata	60
tatTTTTatg cttccaaaga taaagaaatt aataatacta ttgatgcaat tgaagataaa	120
aatttcaaac aagtttataa agatagcagt tatatttcta aaagcgataa tgggtgaagta	180
gaaatgactg aacgtccgat aaaaatataa aatagtttag gcgttaaaga tataaacatt	240
caggatcgta aaataaaaaa agtatctaaa aataaaaaac gagtagatgc tcaatataaa	300
attaaaacaa actacggtaa cattgatcgc aacgttcaat ttaattttgt taaagaagat	360
ggtatgtgga agttagattg ggatcatagc gtcattattc caggaatgca gaaagaccaa	420
agcatacata ttgaaaattt aaaatcagaa cgtggtaaaa ttttagaccg aaacaatgtg	480
gaattggcca atacaggaac agcatatgag ataggcatcg ttccaaagaa tgtatctaaa	540
aaagattata aagcaatcgc taaagaacta agtatttctg aagactatat caaacaacaa	600
atggatcaaa attgggtaca agatgatacc ttcgttccac ttaaaaccgt taaaaaatg	660
gatgaatatt taagtgtttt cgcaaaaaaa tttcatctta caactaatga aacagaaagt	720
cgtaactatc ctctaggaaa agcgcacttca catctattag gttatgttgg tcccattaac	780
tctgaagaat taaaacaaaa agaataataa ggctataaag atgatgcagt tattggtaaa	840
aagggactcg aaaaacttta cgataaaaaa ctccaacatg aagatggcta tcgtgtcaca	900
atcgttgacg ataatagcaa tacaatcgca catacattaa tagagaaaaa gaaaaaagat	960
ggcaaagata ttcaactaac tattgatgct aaagttcaaa agagtattta taacaacatg	1020
aaaaatgatt atggctcagg tactgctatc caccctcaaa caggtgaatt attagcactt	1080
gtaagcacac cttcatatga cgtctatcca tttatgtatg gcatgagtaa cgaagaatat	1140
aataaattaa ccgaagataa aaaagaacct ctgctcaaca agttccagat tacaacttca	1200
ccaggttcaa ctcaaaaaat attaacagca atgattgggt taaataacaa aacattagac	1260
gataaaacaa gttataaaat cgatggtaaa ggttggtgcaa aagataaatc ttgggggtgt	1320
tacaacgtta caagatatga agtggtaaat ggtaatatcg acttaaaaca agcaatagaa	1380
tcatcagata acattttctt tgctagagta gcaactgaat taggcagtaa gaaatttgaa	1440
aaaggcatga aaaaactagg tgttggtgaa gatataccaa gtgattatcc attttataat	1500
gctcaaattt caaacaacaa tttagataat gaaatattat tagctgattc aggttacgga	1560
caaggtgaaa tactgattaa ccagtacag atcctttcaa tctatagcgc attagaaaat	1620
aatggcaata ttaacgcacc tcaattatta aaagacacga aaaacaaagt ttggaagaaa	1680
aatattattt ccaaagaaaa tatcaatcta ttaactgatg gtatgcaaca agtcgtaaat	1740
aaaacacata aagaagatat ttatagatct tatgcaaact taattggcaa atccgggtact	1800
gcagaactca aaatgaaaca aggagaaact ggcagacaaa ttgggtggtt tatatcatat	1860
gataaagata atccaacat gatgatggct attaatgtta aagatgtaca agataaagga	1920
atggctagct acaatgccaa aatctcaggt aaagtgtatg atgagctata tgagaacggt	1980
aataaaaaat acgatataga tgaataa	2007

5 <210> 91
 <211> 2007
 <212> DNA

ES 2 526 518 T3

<213> Staphylococcus aureus

<400> 91

	atgaaaaaga taaaaattgt tccacttatt ttaatagttg tagttgtcgg gtttgggtata	60
5	tatttttatg cttcaaaaga taaagaaatt aataatacta ttgatgcaat tgaagataaa	120
	aatttcaaac aagtttataa agatagcagt tatatttcta aaagcgataa tggatgaagta	180
	gaaatgactg aacgtccgat aaaaatatat aatagtttag gcgttaaaga tataaacatt	240
	caggatcgta aaataaaaaa agtatctaaa aataaaaaaac gagtagatgc tcaatataaa	300
	attaaaacaa actacggtaa cattgatcgc aacgttcaat ttaattttgt taaagaagat	360
	ggtatgtgga agttagattg ggatcatagc gtcattattc caggaatgca gaaagaccaa	420
	agcatacata ttgaaaattt aaaatcagaa cgtggtaaaa ttttagaccg aaacaatgtg	480
	gaattggcca atacaggaac agcatatgag ataggcatcg ttccaaagaa tgtatctaaa	540
	aaagattata aagcaatcgc taaagaacta agtatctctg aagactatat caaacaacaa	600
	atggatcaaa agtgggtaca agatgatacc ttcgttccac ttaaaaccgt taaaaaatg	660
	gatgaatatt taagtgattt cgcaaaaaa tttcatctta caactaatga aacagaaagt	720
	cgtaactatc ctctagaaaa agcgacttca catctattag gttatgttgg tcccattaac	780
	tctgaagaat taaaacaaaa agaataataa ggctataaag atgatgcagt tattggtaaa	840
	aagggactcg aaaaacttta cgataaaaag ctccaacatg aagatggcta tcgtgtcaca	900
	atcgttgacg ataatagcaa tacaatcgca catacattaa tagagaaaa gaaaaagat	960
	ggcaaagata ttcaactaac tattgatgct aaagttcaaa agagtattta taacaacatg	1020
	aaaaatgatt atggctcagg tactgctatc caccctcaaa caggtgaatt attagcactt	1080
	gtaagcacac cttcatatga cgtctatcca tttatgtatg gcatgagtaa cgaagaatat	1140
	aataaattaa ccgaagataa aaaagaacct ctgctcaaca agttccagat tacaacttca	1200
	ccaggttcaa ctcaaaaaat attaacagca atgattgggt taaataacaa aacattagac	1260
	gataaaacaa gttataaaat cgatggtaaa ggttggcaaa aagataaatc ttgggggtggt	1320
	tacaacgtta caagatatga agtggtaaat ggtaatatcg acttaaaaca agcaatagaa	1380
	tcatcagata acattttctt tgctagagta gcaactgcaat taggcagtaa gaaatttgaa	1440
	aaaggcatga aaaaactagg tgttggtgaa gatataccaa gtgattatcc attttataat	1500
	gctcaaatTTT caaacaacaaa tttagataat gaaatattat tagctgattc aggttacgga	1560
	caaggtgaaa tactgattaa ccaggtacag atcctttcaa tctatagcgc attagaaaat	1620
	aatggcaata ttaacgcacc tcacttatta aaagacacga aaaacaaagt ttggaagaaa	1680
	aatattattt ccaagaaaa tatcaatcta ttaactgatg gtatgcaaca agtcgtaaat	1740
	aaaacacata aagaagatat ttatagatct tatgcaaact taattggcaa atccggtact	1800

ES 2 526 518 T3

gcagaactca aatgaaaca aggagaaact ggcagacaaa ttgggtgggt tatatcatat 1860
gataaagata atccaaacat gatgatggct attaatgtta aagatgtaca agataaagga 1920
atggctagct acaatgccaa aatctcaggt aaagtgtatg atgagctata tgagaacggt 1980
aataaaaaat acgatataga tgaataa 2007

<210> 92

<211> 675

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 92

atgaactatt tcagatataa acaatttaac aaggatgtta tcaactgtagc cgttggctac 60
tatctaagat atacattgag ttatcgtgat atatctgaaa tattaaggga acgtgggtgta 120
aacgttcac attcaacggt ctaccgttgg gttcaagaat atgccccaat tttgtatcaa 180
at ttggaaga aaaagcataa aaaagcttat taaaaatggc gtattgatga gacgtacatc 240
aaaataaaag gaaaatggag ctatttatat cgtgccattg atgcagaggg acatacatta 300
gataatttgggt tgcgtaagca acgagataat cattcagcat atgcgtttat caaacgtctc 360
attaaacaat ttggtaaacc tcaaaaggta attacagatc aggcaccttc aacgaaggta 420
gcaatggcta aagtaattaa agcttttaaa cttaaacctg actgtcattg tacatcgaaa 480
tatctgaata acctcattga gcaagatcac cgtcatatta aagtaagaaa gacaaggat 540
caaaagtatca atacagcaaa gaatacttta aaagggtattg aatgtattta cgctctatat 600
aaaaagaacc gcagggtctct tcagatctac ggattttcgc catgccacga aattagcatc 660
10 atgctagcaa gttaa 675

<210> 93

<211> 675

<212> DNA

15 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 93

atgaactatt tcagatataa acaatttaac aaggatgtta tcaactgtagc cgttggctac 60
tatctaagat atacattgag ttatcgtgat atatctgaaa tattaaggga acgtgggtgta 120
aacgttcac attcaacggt ctaccgttgg gttcaagaat atgccccaat tttgtatcaa 180
at ttggaaga aaaagcataa aaaagcttat taaaaatggc gtattgatga gacgtacatc 240
aaaataaaag gaaaatggag ctatttatat cgtgccattg atgcagaggg acatacatta 300
gataatttgggt tgcgtaagca acgagataat cattcagcat atgcgtttat caaacgtctc 360
20 attaaacaat ttggtaaacc tcaaaaggta attacagatc aggcaccttc aacgaaggta 420
gcaatggcta aagtaattaa agcttttaaa cttaaacctg actgtcattg tacatcgaaa 480
tatctgaata acctcattga gcaagatcac cgtcatatta aagtaagaaa gacaaggat 540
caaaagtatca atacagcaaa gaatacttta aaagggtattg aatgtattta cgctctatat 600
aaaaagaacc gcagggtctct tcagatctac ggattttcgc catgccacga aattagcatc 660
atgctagcaa gttaa 675

ES 2 526 518 T3

<210> 94

<211> 675

<212> DNA

5 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 94

```
atgaactatt tcagatataa acaatttaac aaggatgtta tcaactgtagc cgttggctac      60
tatctaagat atacattgag ttatcgtgat atatctgaaa tattaaggga acgtgggtgta    120
aacgttcac tcattcaacggt ctaccggttg gttcaagaat atgcccacat tttgtatcaa    180
atattggaaga aaaagcataa aaaagcttat tacaatggc gtattgatga gacgtacac      240
aaaataaaag gaaaatggag ctatttatat cgtgccattg atgcagaggg acatacatta    300
gatatattggt tgcgtaagca acgaggttat cattcagcat atgcgtttat caaacgtctc    360
attaaacaat ttggtaaacc tcaaaaggta attacagatc aggcaccttc aacgaaggta    420
gcaatggcta aagtaattaa agcttttaaa cttaaacctg actgtcattg tacatcgaaa    480
tatctgaata acctcattga gcaagatcac cgtcatatta aagtaagaaa gacaaggat      540
caaagtatca atacagcaaa gaatacttta aaaggatttg aatgtattca cgctctatat    600
aaaaagaacc gcaggtctct tcagatctac ggattttcgc catgccacga aattagcatc    660
atgctagcaa gttaa                                                    675
```

10

<210> 95

<211> 675

<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

15

<400> 95

```
atgaactatt tcagatataa acaatttaac aaggatgtta tcaactgtagc cgttggctac      60
tatctaagat atacattgag ttatcgtgat atatctgaaa tattaaggga acgtgggtgta    120
aacgttcac tcattcaacggt ctaccggttg gttcaagaat atgcccacat tttgtatcaa    180
atattggaaga aaaagcataa aaaagcttat tacaatggc gtattgatga gacgtacac      240
aaaataaaag gaaaatggag ctatttatat cgtgccattg atgcagaggg acatacatta    300
gatatattggt tgcgtaagca acgagataat cattcagcat atgcgtttat caaacgtctc    360
attaaacaat ttggtaaacc tcaaaaggta attacagatc aggcaccttc aacgaaggta    420
gcaatggcta aagtaattaa agcttttaaa cttaaacctg actgtcattg tacatcgaaa    480
tatctgaata acctcattga gcaagatcac cgtcatatta aagtaagaaa gacaaggat      540
caaagtatca atacagcaaa gaatacttta aaaggatttg aatgtattta cgctctatat    600
aaaaagaacc gcaggtctct tcagatctac ggattttcgc catgccacga aattagcatc    660
atgctagcaa gttaa                                                    675
```

20

<210> 96

<211> 28

<212> DNA

25 <213> Artificial

<220>

<223> cebador PCR para mecA
 <220>
 <221> fuente
 5 <222> (1)..(28)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 96
 10 gtaaagtgtg tgatgagcta tatgagaa 28
 <210> 97
 <211> 27
 <212> DNA
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo ii
 20 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(27)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 25 <400> 97
 gctgaaaaaa ccgcatcatt trtgrta 27
 <210> 98
 30 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 35 <223> cebador PCR para MREP tipo iii
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(29)
 40 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 98
 tttagtttta ttatgatac gcttctcca 29
 45 <210> 99
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo ii
 <220>
 55 <221> fuente
 <222> (1)..(27)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 99
 60 gctgaaaaaa ccgcatcatt tatgata 27
 <210> 100
 <211> 28
 65 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador PCR para MREP tipos i y ii

5 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(28)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

10 <400> 100
 ctatgtcaaa aatcatgaac ctcattac 28

15 <210> 101
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipos i y ii

25 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(23)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

<400> 101
 ggaggctaac tatgtcaaaa atc 23

30 <210> 102
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo iii

40 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(25)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

45 <400> 102
 ctctataaac atcgtatgat attgc 25

50 <210> 103
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial

55 <220>
 <223> cebador PCR para orfX

60 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(20)
 <223> S. aureus

<400> 103
 accaaacgac atgaaaatca 20

65 <210> 104
 <211> 1256

<212> DNA
<213> Staphylococcus aureus

<400> 104

5 ttcagaaaaa tgattaatgt gtttcaataa aatctctcct tctttgtgaa catattcatt 60
 tttatactaa ttaataataa ttccaaaaaa gtttctgttt aaaagtgaaa aatattatatt 120
 accgtttgac ttaaattcttc aatatatagg tgtttatatg tatcattttg cgccaatttg 180
 aataaacggg aatcaagtct gtttctgagt ttatttcaac tttcttatag taaacattgt 240
 cttaatatga tgaacttcaa taaaactttc cctatgcccc ataaaatttt ctcaaatca 300
 aaaataacat accttacaac ttttaccgtc gatatcaatt gctcttttct taatttagga 360
 ttgctttcaa attttgtact ataacgtgaa actacttttc cttctttata attaaaattt 420
 actaatcac aatcattttt acttccattt acaaaaacat ccactgtttc taacacaaaa 480
 tctaataaac ttccttttat taatcgtagg cattgtatat ttcctttcat tctttcttga 540
 ttccattagt ttaaatttaa aatttcatcc atcaatttct taatttaatt gtagttccat 600
 aatcaatata atttgtacag ttattatata ttctagatca tcaatagttg aaaaatggtt 660
 tattaaacac tctataaaca tcgtatgata ttgcaaggta taatccaata tttcatatat 720
 gtaattcctc cacatctcat taaattttta aattatacac aacctaatth ttagttttat 780
 ttatgatacg cttctccacg cataatctta aatgctctgt acactgttgc aattaacaca 840
 accgcacatca tttgatgtgg gaatgtcatt ttgctgaatg atagtgcgta gttactgcgt 900
 tgtaagacgt ccttgtgcag gccgtttgat ccgccaatga cgaatacaaa gtogctttgc 960
 ccttgggtca tgcgttggtt caattcttgg gccaatcctt cggaagatag catctttcct 1020
 tgtatttcta atgtaatgac tgttgattgt gggttgattt tggctagtat tcgttggcct 1080
 tctttttctt ttacttgcct aatttctttg tcgctcatat tttctggtgc tttttcgtct 1140
 ggaacttcta tgatgtctat cttggtgtat gggcctaaac gtttttcata ttctgctatg 1200
 gcttgcttcc aatatttctc ttttagtttc cctacagcta aaatggtgat tttcat 1256

10 <210> 105
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial

15 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo I

<220>
 <221> fuente

20 <222> (1)..(27)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

<400> 105

25 tcatgaacct cattactat gataagt 27

<210> 106
 <211> 27

30 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo ii

 <220>
 5 <221> fuente
 <222> (1)..(27)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

 <400> 106
 10 gaaaaaacgc catcattat gatattg 27

 <210> 107
 <211> 29
 15 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo iii
 20
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(29)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 25
 <400> 107

 cctaattttt agttttattt atgatacgt 29

 30 <210> 108
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial

 35 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo iii

 <220>
 <221> fuente
 40 <222> (1)..(34)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

 <400> 108
 45 cacaaccta ttttagttt tatttatgat acgt 34

 <210> 109
 <211> 24
 <212> DNA
 50 <213> Artificial

 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo ix

 55 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(24)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

 60 <400> 109

 tgataagcca ttcatcacc ctaa 24

 <210> 110
 65 <211> 27
 <212> DNA

<213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR
 5 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(27)
 <223> Desconocida
 10 <400> 110
 aaggactcct aatttatgtc taattcc 27
 <210> 111
 15 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> cebador PCR
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(24)
 25 <223> Desconocida
 <400> 111
 atgggagtc ttcgctattc tgtg 24
 30 <210> 112
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial
 35 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo vii
 <220>
 40 <221> fuente
 <222> (1)..(27)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 112
 45 cactttttat tcttcaaaga ttgagc 27
 <210> 113
 <211> 28
 50 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo vii
 55 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(28)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 60 <400> 113
 atggaaattc ttaatcttta ctgtacc 28
 65 <210> 114
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 5 <223> cebador PCR para MREP tipo vii

 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(24)
 10 <223> S. aureus resistente a meticilina

 <400> 114

 agcatcttct ttacatcgct tact 24
 15
 <210> 115
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 20
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo viii

 <220>
 25 <221> fuente
 <222> (1)..(23)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

 <400> 115
 30
 cagcaattcw cataaacctc ata 23

 <210> 116
 <211> 27
 35 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo viii
 40
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(27)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 45
 <400> 116

 acaaactttg aggggatttt tagtaaa 27

 50 <210> 117
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial

 55 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo ii

 <220>
 <221> fuente
 60 <222> (1)..(22)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

 <400> 117

 65 tatattgtgg catgatttct tc 22

<210> 118
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo ii
 <220>
 10 <221> fuente
 <222> (1)..(23)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 118
 15 cgaatggact agcactttct aaa 23
 <210> 119
 <211> 21
 20 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo vii
 25 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(21)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 30 <400> 119
 ttgaggatca aaagttgttg c 21
 35 <210> 120
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo vii
 <220>
 <221> fuente
 45 <222> (1)..(21)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 120
 50 cgaatgattt atagtaggag a 21
 <210> 121
 <211> 28
 <212> DNA
 55 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo vii
 60 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(28)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 65 <400> 121

	ttcaatctct aaatctaaat cagttttg	28
	<210> 122	
	<211> 24	
5	<212> DNA	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> cebador PCR para MREP tipo vii	
10	<220>	
	<221> fuente	
	<222> (1)..(24)	
	<223> S. aureus resistente a meticilina	
15	<400> 122	
	aggcgagaaa atggaacata tcaa	24
20	<210> 123	
	<211> 26	
	<212> DNA	
	<213> Artificial	
25	<220>	
	<223> cebador PCR para MREP tipo vii	
	<220>	
	<221> fuente	
30	<222> (1)..(26)	
	<223> S. aureus resistente a meticilina	
	<400> 123	
35	ggtacaagta aagattaaga atttcc	26
	<210> 124	
	<211> 22	
	<212> DNA	
40	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> cebador PCR para MREP tipo ii	
45	<220>	
	<221> fuente	
	<222> (1)..(22)	
	<223> S. aureus resistente a meticilina	
50	<400> 124	
	agacaacttt atgcaggtcc tt	22
	<210> 125	
55	<211> 22	
	<212> DNA	
	<213> Artificial	
	<220>	
60	<223> cebador PCR para MREP tipo ii	
	<220>	
	<221> fuente	
	<222> (1)..(22)	
65	<223> S. aureus resistente a meticilina	

<400> 125
taactgcttg ggtaacctta tc 22

5 <210> 126
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

10 <220>
<223> cebador PCR para orfSA0021

<220>
<221> fuente
15 <222> (1)..(21)
<223> S. aureus

<400> 126
20 tattgcaggt ttcatgttg a 21

<210> 127
<211> 22
<212> DNA
25 <213> Artificial

<220>
<223> cebador PCR para orfSA0021

30 <220>
<221> fuente
<222> (1)..(22)
<223> S. aureus

35 <400> 127
tgaccatata cgctaaaat ac 22

<210> 128
40 <211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
45 <223> cebador PCR para orfSA0022

<220>
<221> fuente
<222> (1)..(22)
50 <223> S. aureus

<400> 128
aaaggacaac aaggtagcaa ag 22

55 <210> 129
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

60 <220>
<223> cebador PCR para orfSA0022

<220>
65 <221> fuente
<222> (1)..(22)

<223> S. aureus
 <400> 129
 5 tctgtggata aacacctga tg 22
 <210> 130
 <211> 18
 <212> DNA
 10 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para orfX
 15 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(18)
 <223> S. aureus
 20 <400> 130
 gtttgatccg ccaatgac 18
 <210> 131
 25 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> cebador PCR para region between orfSA0022 and orfSA0023
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(23)
 35 <223> S. aureus
 <400> 131
 ggcataaatg tcaggaaaat atc 23
 40 <210> 132
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 45 <220>
 <223> cebador PCR para orfX
 <220>
 50 <221> fuente
 <222> (1)..(23)
 <223> S. aureus
 <400> 132
 55 gaggaccaa cgacatgaaa atc 23
 <210> 133
 <211> 20
 60 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para merB
 65 <220>

<221> fuente
 <222> (1)..(20)
 <223> plásmido pl258
 5 <400> 133
 ttcgagggtg atgggaagca 20
 <210> 134
 10 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 15 <223> cebador PCR para merB
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(18)
 20 <223> plásmido pl258
 <400> 134
 cgctcgactc aggggtgt 18
 25 <210> 135
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> cebador PCR para merB
 <220>
 35 <221> fuente
 <222> (1)..(18)
 <223> plásmido pl258
 <400> 135
 40 cgttgaagat gcctttga 18
 <210> 136
 <211> 18
 45 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para merB
 50 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(18)
 <223> plásmido pl258
 55 <400> 136
 ttttgaaca gccattcg 18
 60 <210> 137
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial
 65 <220>
 <223> cebador PCR para merB

<220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(21)
 5 <223> plásmido pI258

 <400> 137

 gcacacatgt tgtaagtttg c 21
 10
 <210> 138
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial
 15
 <220>
 <223> cebador PCR para merB

 <220>
 20 <221> fuente
 <222> (1)..(22)
 <223> plásmido pI258

 <400> 138
 25
 acgcaaactt acaacatgtg tg 22

 <210> 139
 <211> 22
 30 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 <223> cebador PCR para rep
 35
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(22)
 <223> pUB110
 40
 <400> 139

 cgtttgtctg attggagga ag 22

 45 <210> 140
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial

 50 <220>
 <223> cebador PCR para rep

 <220>
 <221> fuente
 55 <222> (1)..(24)
 <223> pUB110

 <400> 140

 60 ttcttcacatc atcggtcata aaat 24

 <210> 141
 <211> 23
 <212> DNA
 65 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador PCR para rep

<220>
 5 <221> fuente
 <222> (1)..(23)
 <223> pUB110

<400> 141
 10 ctacgtgaat caaaaacaat gga 23

<210> 142
 <211> 22
 15 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador PCR para aadD

20 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(22)
 <223> pUB110

25 <400> 142
 tactgcaaag tctcgttcat cc 22

30 <210> 143
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> cebador PCR para aadD

<220>
 <221> fuente
 40 <222> (1)..(24)
 <223> pUB110

<400> 143

45 cataccattt tgaacgatga cctc 24

<210> 144
 <211> 23
 <212> DNA
 50 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador PCR para aadD

55 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(23)
 <223> pUB110

60 <400> 144
 atgtctgggc aactttccga ctc 23

<210> 145
 65 <211> 25
 <212> DNA

<213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo iv
 5 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(25)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 10 <400> 145
 caatcggat ctgtaaatat caaat 25
 15 <210> 146
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo V
 <220>
 <221> fuente
 25 <222> (1)..(24)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 146
 30 tcgcatacct gtttatcttc tact 24
 <210> 147
 <211> 22
 <212> DNA
 35 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo iv
 40 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(22)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 45 <400> 147
 ttggtccat ctgaacttg ag 22
 <210> 148
 50 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 55 <223> cebador PCR para MREP tipo ix
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(24)
 60 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 148
 aatggcttat caaagtgaat atgc 24
 65 <210> 149

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo ix
 <220>
 <221> fuente
 10 <222> (1)..(24)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 149
 15 taatttcctt ttttccatt cctc 24
 <210> 150
 <211> 25
 <212> DNA
 20 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo vii
 25 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(25)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 30 <400> 150
 actagaatct ccaaatgaat ccagt 25
 <210> 151
 35 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 40 <223> cebador PCR para MREP tipo vii
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(24)
 45 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 151
 tggagttaat ctacgtctca tctc 24
 50 <210> 152
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial
 55 <220>
 <223> cebador PCR para IS431mec
 <220>
 60 <221> fuente
 <222> (1)..(24)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 152
 65 gttcatacag aagactcctt ttg 24

<210> 153
 <211> 25
 <212> DNA
 5 <213> Artificial

 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo vii

 10 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(25)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

 15 <400> 153

 agttttgatt atccgaataa atgct 25

 <210> 154
 20 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 25 <223> cebador PCR para MREP tipo V

 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(24)
 30 <223> S. aureus resistente a meticilina

 <400> 154

 tttaaattca gctatatggg gaga 24
 35
 <210> 155
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial
 40
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo V

 <220>
 45 <221> fuente
 <222> (1)..(22)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

 <400> 155
 50
 ttccgttttg ctattccata at 22

 <210> 156
 <211> 24
 55 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 <223> cebador PCR para tetk
 60
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(24)
 <223> plásmido pT181
 65
 <400> 156

cctctgataa aaaacttggtg aaat 24

<210> 157
5 <211> 24
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
10 <223> cebador PCR para tetk

<220>
<221> fuente
<222> (1)..(24)
15 <223> plásmido pT181

<400> 157

actactcctg gaattacaaa ctgg 24

20 <210> 158
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

25 <220>
<223> cebador PCR para orfX

<220>
30 <221> fuente
<222> (1)..(23)
<223> S. aureus

<400> 158

35 gccaaaaatta aaccacaatc cac 23

<210> 159
<211> 24
40 <212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> cebador PCR para orfX

45 <220>
<221> fuente
<222> (1)..(24)
<223> S. aureus

50 <400> 159

catttgctg aatgatagtg cgta 24

55 <210> 160
<211> 48
<212> DNA
<213> Artificial

60 <220>
<223> Sonda para orfX

<220>
<221> fuente
65 <222> (1)..(48)
<223> S. aureus

<400> 160

cgaccggatt cccacatcaa atgatgcggg ttgtgtaat tccggtcg 48

5 <210> 161
<211> 37
<212> DNA
<213> Artificial

10 <220>
<223> Sonda para orfX

15 <220>
<221> fuente
<222> (1)..(37)
<223> S. aureus

<400> 161

20 cccgcgcrtg gttactrcgt tgtaagacgt ccgcggg 37

<210> 162
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial

25 <220>
<223> Sonda para orfX

30 <220>
<221> fuente
<222> (1)..(29)
<223> S. aureus

35 <400> 162

ccccgtagtt actgcgttgt aagacgggg 29

40 <210> 163
<211> 37
<212> DNA
<213> Artificial

45 <220>
<223> Sonda para orfX

<220>
<221> fuente

50 <222> (1)..(37)
<223> S. aureus

<400> 163

55 cccgcgcata gttactgcgt tgtaagacgt ccgcggg 37

<210> 164
<211> 37
<212> DNA
<213> Artificial

60 <220>
<223> Sonda para orfX

65 <220>
<221> fuente

ES 2 526 518 T3

<222> (1)..(37)
<223> S. aureus

<400> 164

5 cccgcgcgta gttactacgt tgtaagacgt ccgcggg 37

<210> 165
<211> 1282

10 <212> DNA
<213> Staphylococcus aureus

<400> 165

	accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat	60
	gaaaaacggt taggccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca	120
	ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata	180
	ctagccaaaa tcaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta	240
	tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatag cccaagggca aagcgacttt	300
	gtattcgta ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactat	360
15	gcactatcat ttagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa	420
	caagtgtata gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcgt accacaaata aaactaaaaa	480
	atatgagaaa attattaaat tagctcaaat ctttgaagaa taaaaagtga atattaagtt	540
	tgataattta ggtacaagta aagattaaga atttccatta ttttaatacat ggtgtgtaaa	600
	tcgacttctt tttgtattag atgtttgcag taagcgatgt aaagaagatg ctaataaata	660
	tgtgaggaat gattacgata ctagataagc ggctaataa atttttttaa gtacatatat	720
	agacatatat ttcatttagt aaaattttga atttcacttt gctaagacta gtgtctagaa	780
	atttataatg atttattaac acctatttga aacttaagta taataaatga ttcggatttt	840
	atttttaata aagacaaact tgaacgtagc aaagtagttt ttatgataaa taataagttt	900
	taataatgtg acgcttttat ataagcacat tattatgaac aatgtgaatt gagcatctac	960
	aattacatta ataaatatat aaatgatgat ttaaattcac atatatttat aatacacata	1020
	ctatatgaaa gttttgatta tccgaataaa tgctaaaatt aataaaataa ttaaaggaat	1080
	catacttatt atacgtatac gtttagctac tgaactactg gattcatttg gagattctag	1140
	tagttctttt tcaatctcta aatctaaatc agttttgtaa taaccattaa ttctaatct	1200
	ttcatctagc tctgtacttt ttcatcatt tttatctttg ttgatatgtt ccattttctc	1260
	gcctcttttt aatcaagtag aa	1282

<210> 166
<211> 1108

20 <212> DNA
<213> Staphylococcus aureus

<400> 166

25

ES 2 526 518 T3

accatTTtag ctgtaggGaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat	60
gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca	120
ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata	180
ctagccaaaa tcaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta	240
tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt	300
gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tttacaacg cagtaactat	360
gcactatcat ttagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa	420
caagtgtata gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcgt accacaaata aaactaaaa	480
atatgagaaa attattaaat tagctcaaat ctttgaagaa taaaagtga atattaagtt	540
tgataattta ggtacaagta aagattaaga atttccatta tttatacat ggtgtgtaaa	600
tcgacttctt tttgtattag atgtttgcag taagcgatgt aaagaagatg ctaataaata	660
tgtgaggaat gattacgata ctagataagc ggctaataa attttttaa gtacatatat	720
agacatatTT ttcatttagt aaaattttga atttcacttt gctaagacta gtgtctagaa	780
atttataatg atttattaac acctatttga aacttaagta taataaatga ttcggatttt	840
atttttaata aagacaaact tgaacgtagc aaagtagttt ttatgataaa taataagttt	900
taataatgtg acgcttttat ataagcacat tattatgaac aatgtgaatt gagcatctac	960
aattacatta ataaatatat aatgatgat ttaaattcac atatatttat aatacacata	1020
ctatatgaaa gttttgatta tccgaataaa tgctaaaatt aataaaataa ttaaaggaat	1080
catacttatt atacgtatac gtttagct	1108

5 <210> 167
 <211> 1530
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

10 <400> 167

ES 2 526 518 T3

ttagctgtag ggaaactaaa agagaaatat tggaagcaag ccatagcaga atatgaaaaa	60
cgttttaggcc catacaccaa gatagacatc atagaagttc cagacgaaaa agcaccagaa	120
aatatgagcg acaaagaaat tgagcaagta aaagaaaaag aaggccaacg aatactagcc	180
aaaatcaaac cacaatccac agtcattaca ttagaaatac aaggaaagat gctatcttcc	240
gaaggattgg cccaagaatt gaaccaacgc atgaccaag ggcaaagcga ctttgatttc	300
gtcattggcg gatcaaacgg cctgcacaag gacgtcttac aacgcagtaa ctatgcacta	360
tcatttagca aaatgacatt cccacatcaa atgatgcggg ttgtgttaat tgaacaagt	420
tatagagcat ttaagattat gcgtggagaa gcatatcata aatgatgcgg ttttttcagc	480
cgcttcataa aggggggtga tcatatcgga acgtatgagg tttatgagaa ttgctgctat	540
gtttttatga agcgtatcat aaatgatgca gtttttgata attttttctt tatcagagat	600
tttactaaaa atcccctcaa agtttgtttt tttcaacttc aactttgaag ggaataaata	660
aggaacttat ttatatatat cttttatctc attaatatct atttttttat taataatatt	720
ataaatatta aattcttttag aaaagtcact atcactctta ttcttcatac taaacgttat	780
taatctaata atatcagcta ctatttcttt aaattctatt gcactctctt tttataagt	840
agcgctgta tgaacaattt tatttctcat accatagtaa tctttcatat atttttttac	900
acaattttta atttcattag aattatccaa atctagatta tcaattgtct ttaataaatg	960
atcattaaca acattagcat acccacatcc aagcttcttt tttatctctt catcacttaa	1020
attttcatct aatttataat atctttctaa aaaatttggt ataaaaactt ctaatgcagt	1080
ctgaatttgt acaattgcta aattatagtc agatttataa aaagaacggt caccttttct	1140
catagccaaa acataaatat tgctaggatg attattgaaa atattataat tttttttaat	1200
atttaataaa tcaacttttt tgatagatga atactgatct tcttctatct ttccaggcat	1260
gtcaatcatg aaaatactca tctcttttat atttccatct atagtatata ttatataata	1320
tggaatactt aatatatccc ctaatgatag ctggtatata ttatgatact gatatttaac	1380
gctaataatt ttaataagat tatthagaca attaaattgc ttattaaaaa ttttcgttag	1440
actattactt ttctttgatt ccctagaagt agaatttgat ttcaattttt taaactgatt	1500
gtgcttgatt attgaagtta tttcaacata	1530

5 <210> 168
 <211> 1256
 <212> DNA
 <213> Staphylococcus aureus

10 <400> 168

ES 2 526 518 T3

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

5 <210> 169
 <211> 846
 <212> DNA
 <213> Staphylococcus aureus

10 <400> 169

ES 2 526 518 T3

ttacattaga aatacaagga aagatgctat cttccgaagg attggcccaa gaattgaacc	60
aacgcatgac ccaagggcaa agcgactttg ttttogtcat tggcggatca aacggcctgc	120
acaaggacgt cttacaacgc agtaactacg cactatcatt cagcaaaatg acattccac	180
atcaaatgat gcgggttggtg ttaattgaac aagtgtacag agcatttaag attatgcgag	240
gagaagctta tcataagtaa tgaggttcat gatttttgac atagttagcc tccgcagtct	300
ttcatttcaa gttaaataata gcgaaatatt ctttatactg aatacttata gtgaagcaaa	360
gttctagctt tgagaaaatt ctttctgcaa cttaaataag taaattacgg taaaatataa	420
ataagtacat attgaagaaa atgagacata atatatattta taataggagg gaatttcaaa	480
tgatagacaa ctttatgcag gtccttaaata taattaaaga gaaacgtacc aataatgtag	540
ttaaaaaatc tgattgggat aaaggtgatc tatataaaac tttagtccat gataagttac	600
ccaagcagtt aaaagtgcac ataaaagaag ataaatattc agttgtaggg aaggttgcta	660
ctgggaacta tagtaaagtt ccttggtatt caatatatga tgagaatata acaaaagaaa	720
caaaggatgg atattatttg gtatatcttt ttcacccgga aggagaaggc atatacttat	780
ctttgaatca aggatggtca aagataagtg atatgtttcc gcgggataaa aatgctgcaa	840
aacaaa	846

<210> 170

<211> 1270

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 170

ES 2 526 518 T3

cattagaaat acaaggaaaag atgctatctt ccgaaggatt ggcccaagaa ttgaaccaac	60
gcatgaccca agggcaaagc gactttgtat tcgtcattgg cggatcaaac ggctgcaca	120
aggacgtctt acaacgcagt aactatgcac tatcatttag caaaatgaca ttcccacatc	180
aatgatgcg ggttgtgtta attgaacaag tgtatagagc atttaagatt atgcgtggag	240
aagcatatca taaatgatgc ggttttttca gccgcttcat aaagggattt tgaatgtatc	300
agaacatatg aggtttatgt gaattgctgt tatgttttta agaagcttat cataagtaat	360
gaggttcatg atttttgaca tagttagcct ccgcagtctt tcatttcaag taaataatag	420
cgaaatattc tttatactga atacttatag tgaagcaaag ttctagcttt gagaaaattc	480
tttctgcaac taaatatagt aaattacggt aaaatataaa taagtacata ttgaagaaaa	540
tgagacataa tatattttat aataggaggg aatttcaaat gatagacaac tttatgcagg	600
tccttaaatt aattaaagag aaacgtacca ataatgtagt taaaaaatct gattgggata	660
aaggtgatct atataaaact ttagtccatg ataagttacc caagcagtta aaagtgcata	720
taaaagaaga taaatattca gttgtaggga aggttgctac tgggaactat agtaaagttc	780
cttggttttc aatatatgat gagaatataa caaaagaaac aaaggatgga tattatttgg	840
tatatctttt tcattccgaa ggagaaggca tatacttatc tttgaatcaa ggatgggtcaa	900
agataagtga tatgtttccg cgggataaaa atgctgcaaa acaaagagca ttaactttat	960
cttccgaact caataaatat attacatcaa atgaatttaa tactggaaga ttttattacg	1020
cagaaaataa agattcatct tatgatttta aaaatgatta tccatcagga tattctcatg	1080
gatcaataag attcaaatat tatgatttga atgaaggatt cacagaagaa gatatgctag	1140
aggattttaa gaaattttta gaactattta atgaattagc ttcaaaagtt acaaaaacat	1200
cctatgatag cttgggtcaat agcatagacg aaatacagga agacagcgaa attgaagaaa	1260
ttagaacagc	1270

<210> 171

<211> 991

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 171

accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatactgga agcaagccat agcagaatat	60
gaaaaacggt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca	120
10 ccagaaaata tgaactacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata	180

ES 2 526 518 T3

ctagccaaaa tcaaaccaca atcaacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt 300
gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 360
gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa 420
caagtgtaca gagcatttaa gattatgcga ggagaagcgt atcataagtg atggtaaaaa 480
atatgagtaa gtagatgaag agtgaaaatc agattaatta ataataatgt atcaaattta 540
aataaagggg tttttaagta tgaatttaag aggtcatgaa aatagactta aatttcatgc 600
gaaatatgat gtgacaccta tatcacattt aaaattatta gaaggtcaaa agaaagacgg 660
tgaaggcggc atactgacag atagctatta ctgtttttca tacagcttaa aaggtaattc 720
taaaaaagtt ttaggtacgt ttaattgtgg ttatcatatt gctgaagatt tactaaaatt 780
atcaaatcaa gataaattac ctttatttaa cccgtttaaa gtaattaatg aaggtaatca 840
attgcagggc gtaacgaata aaggtaattt aaatattaat aggcaaagaa aacagtataa 900
tgaagtggct ttacagcttt caaatgctat taatttaatc ataatttggt atgaggataa 960
tattaaagaa ccactttcaa cgataaaaata c 991

<210> 172

<211> 748

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 172

atcgtttaac gtgtcacatg atgcgataga tccgcaattt tatattttcc ataataacta 60
taagaagttt acgattttta cagatacggg ttacgtgtct gatcgtatga aaggatgat 120
acgtggcagc gatgcattta tttttgagag taatcatgac gtcgatatgt tgagaatgtg 180
tcgttatcca tggaagacga aacaacgcat tttaggcgat atgggtcatg tatctaata 240
ggatgcgggt catgcgatga cagacgtgat tacaggtaac acgaaacgta tttacttata 300
gcattttatca caagataata atatgaaaaga tttggcgcgt atgagtgttg gccaaagtatt 360
gaacgaacac gatattgata cggaaaaaga agtattgcta tgtgatacgg ataaagctat 420
tccaacacca atatatacaa tataaatgag agtcatccga taaagttccg cactgctgtg 480
aaacgacttt atcgggtgct tttttatggt gttggtggga aatggctggt gttgagttga 540
atcggattga ttgaaatgtg taaaataatt cgatattaaa tgtaatttat aaataattta 600
10 cataaaatca aacattttta tataaggatt atgataatat attggtgtat gacagttaat 660
ggagggaaacg aatgaaagc tttattactt aaaacaagtg tatggctcgt tttgcttttt 720
agtgtgatgg gattatggca tgtctcga 748

<210> 173

15 <211> 917

<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 173

20

ES 2 526 518 T3

aaatacaagg aaagatgcta tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga	60
cccaagggca aagcgacttt gtattcgta ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg	120
tcttacaacg tagtaactac gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaata	180
tgcgggttgt gttaattgag caagtgtata gagcatttaa gattatgctg ggagaagcat	240
atcataaatg atgcgggttt ttcagccgct tcataaaggg attttgaatg tatcagaaca	300
tatgagggtt atgtgaattg ctgttatgtt ttttaagaagc ttatcataag taatgagggt	360
catgattttt gacatagtta gcctccgcag tctttcattt caagtaaata atagcgaaat	420
attctttata ctgaataactt atagtgaagc aaagtctag ctttgagaaa attctttctg	480
caactaaata tagtaaatca cggtaaaata taaataagta catattgaag aaaatgagac	540
ataatatatt ttataatagg aggaatttc aaatgataga caactttatg caggtcctta	600
aattaattaa agagaaacgt accaataatg tagttaaaaa atctgattgg gataaagggtg	660
atctatataa aacttttagtc catgataagt taccgaagca gttaaaagtg catataaaag	720
aagataaata ttcagttgta gggaagggtg ctactgggaa ctatagtaaa gttccttgga	780
tttcaatata tgatgagaat ataacaaaag aaacaaagga tggatattat ttggtatata	840
ttttcatcc ggaaggagaa ggcataact tatctttgaa tcaaggatgg tcaaagataa	900
gtgatatgtt tccgcgg	917

<210> 174

<211> 1132

5 <212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 174

gctgtaggga aactaaaaga gaaatattgg aagcaagcca tagcagaata tgaaaaacgt	60
ttaggcccac acaccaagat agacatcata gaagttccag acgaaaaagc accagaaaat	120
atgagcgaca aagaaattga gcaagtaaaa gaaaaagaag gccaacgaat actagccaaa	180
10 atcaaaccac aatcaacagt cattacatta gaaatacaag gaaagatgct atcttccgaa	240

ES 2 526 518 T3

ggattggccc aagaattgaa ccaacgcatg acccaagggc aaagcgactt tgtattcgtc	300
attggcggat caaacggcct gcacaaggac gtcttacaac gtagtaacta cgcactatca	360
ttcagcaaaa tgacattccc acatcaaattg atgcggggtt tggttaattga gcaagtgtat	420
agagcattta agattatgcg tggagaagca tatcataaat gatgcggttt tttcagccgc	480
ttcataaagg gatthttgaat gtatcagaac atatgaggtt tatgtgaatt gctgttatgt	540
ttttaagaag cttatcataa gtaatgaggt tcatgatttt tgacatagtt agcctccgca	600
gtctttcatt tcaagtaaatt aatagcgaaa tttcttttat actgaatact tatagtgaag	660
caaagttcta gctttgagaa aattctttct gcaactaaat atagtaaatt acggtaaaat	720
ataaataagt acatattgaa gaaaatgaga cataatatat tttataatag gagggaaattt	780
caaatgatag acaactttat gcaggtcctt aaattaatta aagagaaacg taccaataat	840
gtagttaaaa aatctgattg ggataaaggt gatctatata aaactttagt ccatgataag	900
ttaccaagc agttaaaagt gcatataaaa gaagataaat attcagttgt agggaaggtt	960
gctactggga actatagtaa agttccttgg atttcaatat atgatgagaa tataacaaaa	1020
gaaacaaagg atggatatta tttggtatat ctttttcatac cggaaggaga aggcataatac	1080
ttatctttga atcaaggatg gtcaaagata agtgatatgt ttccgcggga ta	1132

<210> 175

<211> 1133

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 175

agctgtaggg aaactaaaag agaaatattg gaagcaagcc atagcagaat atgaaaaacg	60
tttaggceca tacaccaaga tagacatcat agaagttcca gacgaaaaag caccagaaaa	120
tatgagcgac aaagaaattg agcaagtaaa agaaaaagaa ggccaacgaa tactagccaa	180
aatcaaacca caatcaacag tcattacatt agaaatacaa ggaaagatgc tatcttccga	240
aggattggcc caagaattga accaacgcat gaccaaggg caaagcgact ttgtattcgt	300
cattggcgga tcaaacggcc tgcacaagga cgtcttaca cgtagtaact acgcactatc	360
attcagcaaa atgacattcc cacatcaaatt gatgcgggtt gtgttaattg agcaagtgt	420
tagagcattt aagattatgc gtggagaagc atatacaaaa tgatgcggtt tttcagccg	480
cttcataaag ggattttgaa tgtatcagaa catatgaggt ttatgtgaat tgctgttatg	540
10 tttttaagaa gcttatcata agtaatgagg ttcattgattt ttgacatagt tagcctccgc	600

ES 2 526 518 T3

agtcctttcat ttcaagtaaa taatagcgaa atattccttta tactgaatac ttatagttaa 660
gcaaagtctt agctttgaga aaattccttc tgcaactaaa tatagtaaat tacggtaaaa 720
tataaataag tacatattga agaaaatgag acataatata ttttataata ggagggaatt 780
tcaaagtata gacaacttta tgcaggctct taaattaatt aaagagaaac gtaccaataa 840
tgtagttaa aaatctgatt gggataaagg tgatctatat aaaacttttag tccatgataa 900
gttacccaag cagttaaaag tgcataataa agaagataaa tattcagttg tagggaaggt 960
tgctactggg aactatagta aagttccttg gatttcaata tatgatgaga atataacaaa 1020
agaaacaaag gatggatatt atttggtata tctttttcat ccggaaggag aaggcatata 1080
cttatctttg aatcaaggat ggtcaaagat aagtgatatg tttccgcggg ata 1133

<210> 176

<211> 1087

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 176

actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat gaaaaacgtt taggcccata 60
caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca ccagaaaata tgagcgacaa 120
agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata ctagccaaaa tcaaaccaca 180
atcaacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta tcttccgaag gattggcaca 240
agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt gtattcgtca ttggcggtac 300
aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg tagtaactac gcactatcat tcagcaaaat 360
gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgag caagtgtata gagcgtttaa 420
gattatgcgt ggagaagcat atcataaatg atgcgggttt ttcagccgct tcataaaggg 480
attttgaatg tatcagaaca tatgaggttt atgtgaattg ctgttatggt ttttaagaagc 540
ttatcataag taatgaggtt catgattttt gacatagtta gectccgcag tctttcattt 600
caagtaaata atagcgaaat attcctttata ctgaatactt atagtgaagc aaagttctag 660
ctttgagaaa attcctttctg caactaaata tagtaaatga cggtaaaata taaataagta 720
catattgaag aaatgagac ataatatatt ttataatagg agggaaattc aaatgataga 780
caactttatg caggtcctta aattaattaa agagaaacgt accaataatg tagttaaaaa 840
atctgattgg gataaagggt atctatataa aactttagtc catgataagt tacccaagca 900
10 gttaaaagtg catataaaag aagataaata ttcagttgta gggaagggtg ctactgggaa 960
ctatagtaaa gttccttgga tttcaatata tgatgagaat ataacaaaag aaacaaagga 1020
tgatatttat ttggtatata tttttcatcc ggaaggagaa ggcataact tatctttgaa 1080
tcaagga 1087

<210> 177

15 <211> 903

<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 177

20

ES 2 526 518 T3

caaggaaaga tgctatcttc cgaaggattg gccaagaat tgaaccaacg catgacccaa	60
gggcaaagcg actttgtatt cgtcattggc ggatcaaacg gcctgcacaa ggacgtctta	120
caacgtagta actacgcact atcattcagc aaaatgacat tcccacatca aatgatgcgg	180
gttgtgttaa ttgagcaagt gtatagagca ttttaagatta tgcgtggaga agcatatcat	240
aatgatgcg gttttttcag ccgcttcata aagggatttt gaatgtatca gaacatatga	300
ggtttatgtg aattgctgtt atgtttttaa gaagcttatac ataagtaatg aggttcata	360
tttttgacat agttagcctc cgcagtcttt catttcaagt aaataatagc gaaatattct	420
ttatactgaa tactttatagt gaagcaaaagt tctagctttg agaaaattct ttctgcaact	480
aaatatagta aattacggtg aaatataaat aagtacatat tgaagaaaat gagacataat	540
atattttata ataggaggga atttcaaatg atagacaact ttatgcaggc ccttaaatta	600
attaaagaga aacgtaccaa taatgtagtt aaaaaatctg attgggataa aggtgatcta	660
tataaaactt tagtccatga taagttaccc aagcagttaa aagtgcatat aaaagaagat	720
aaatattcag ttgtagggaa ggttgctact gggaaactata gtaaagttcc ttggatttca	780
atatatgatg agaataatac aaaagaaaca aaggatggat attatttggg atattctttt	840
catccggaag gagaaggcat atacttatct ttgaatcaag gatggtcaaa gataagtgat	900
atg	903

<210> 178

<211> 1114

5 <212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 178

ggaaactaaa agagaaatat tggaagcaag ccatagcaga atatgaaaaa cgtttaggcc	60
10 catacaccaa gatagacatc atagaagttc cagacgaaaa agcaccagaa aatatgagcg	120

ES 2 526 518 T3

```

acaaagaaat tgagcaagta aaagaaaaag aaggccaacg aatactagcc aaaatcaaac 180
cacaatcaac agtcattaca ttagaaatac aaggaaagat gctatcttcc gaaggattgg 240
cccaagaatt gaaccaacgc atgaccaacg ggcaaagcga ctttgtattc gtcattggcg 300
gatcaaacgg cctgcacaag gacgtcttac aacgtagtaa ctacgcacta tcattcagca 360
aatgacatt cccacatcaa atgatgcggg ttgtgttaat tgagcaagtg tatagagcat 420
ttaagattat gcgtggagaa gcatatcata aatgatgcgg ttttttcagc cgcttcataa 480
agggattttt aatgtatcag aacatatgag gtttatgtga attgctgtta tgtttttaag 540
aagcttatca taagtaatga ggttcatgat ttttgacata gttagcctcc gcagtcttcc 600
atttcaagta aataatagcg aaatattctt tatactgaat acttatagtg aagcaaagtt 660
ctagctttga gaaaattctt tctgcaacta aatatagtaa attacgtaa aatataaata 720
agtacatatt gaagaaaatg agacataata tattttataa taggagggaa tttcaaata 780
tagacaactt tatgcaggtc cttaaattaa ttaaagagaa acgtaccaat aatgtagtta 840
aaaaatctga ttgggataaa ggtgatctat ataaaacttt agtccatgat aagttaccca 900
agcagttaaa agtgcatata aaagaagata aatattcagt tgtagggaag gttgctactg 960
ggaactatag taaagttcct tggatttcaa tatatgatga gaatataaca aaagaaaca 1020
aggatggata ttatttggtg tatctttttc atccggaagg agaaggcata tacttatctt 1080
tgaatcaagg atggtcaaag ataagtgata tggt 1114

```

<210> 179

<211> 1121

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 179

```

ggaaactaaa agagaaatat tggaagcaag ccatagcaga atatgaaaaa cgtttaggcc 60
catacaccaa gatagacatc atagaagttc cagacgaaaa agcaccagaa aatatgagcg 120
acaaagaaat tgagcaagta aaagaaaaag aaggccaacg aatactagcc aaaatcaaac 180
cacaatccac agtcattaca ttagaaatac aaggaaagat gctatcttcc gaaggattgg 240
cccaagaatt gaaccaacgc atgaccaacg ggcaaagcga ctttgtattc gtcattggcg 300
gatcaaacgg cctgcacaag gacgtcttac aacgcagtaa ctatgcacta tcatttagca 360
aatgacatt cccacatcaa atgatgcggg ttgtgttaat tgaacaagtg tatagagcat 420
10 ttaagattat gcgtggagaa gcatatcata aatgatgcgg ttttttcagc cgcttcataa 480

```

ES 2 526 518 T3

agggatTTTTg aatgtatcag aacatatgag gtttatgtga attgctgtta tgtttttaag 540
aagcttatca taagtaatga ggttcatgat ttttgacata gttagcctcc gcagtctttc 600
atttcaagta aataatagcg aaatattctt tatactgaat acttatagtg aagcaaagtt 660
ctagctttga gaaaattctt tctgcaacta aatatagtaa attacggtaa aatataaata 720
agtacatatt gaagaaaatg agacataata tttttataa taggagggaa tttcaaata 780
tagacaactt tatgcaggtc cttaaattaa tttaaagaaa acgtaccaat aatgtagtta 840
aaaaatctga ttgggataaa ggtgatctat ataaaacttt agtccatgat aagttacca 900
agcagttaaa agtgcataata aaagaagata aatattcagt ttagagggaag gttgctactg 960
ggaactatag taaagttcct tggatttcaa tatatgatga gaataaaca aaagaaacaa 1020
aggatggata ttatttggtat tatctttttc atccggaagg agaaggcata tacttatctt 1080
tgaatcaagg atggtcaaag ataagtata tgtttccgcg g 1121

<210> 180

<211> 1121

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 180

tagctgtagg gaaactaaaa gagaaatatt ggaagcaagc catagcagaa tatgaaaaac 60
gtttaggccc ataccacaaag atagacatca tagaagtcc agacgaaaaa gcaccagaaa 120
atatgagcga caaagaaatt gagcaagtaa aagaaaaaga aggccaacga atactagcca 180
aatcaaacc acaatccaca gtcattacat tagaaataca aggaaagatg ctatcttccg 240
aaggattggc ccaagaattg aaccaacgca tgaccaaggg gcaaagcgac tttgtattcg 300
tcattggcgg atcaaacggc ctgcacaagg acgtottaca acgcagtaac tatgcactat 360
catttagcaa aatgacattc ccacatcaaa tgatgcgggt tgtgttaatt gaacaagtgt 420
atagagcatt taagattatg cgtggagaag catatcataa atgatgcgggt tttttcagcc 480
gcttcataaa gggattttga atgtatcaga acatatgagg tttatgtgaa ttgctgttat 540
gtttttaaga agcttatcat aagtaatgag gttcatgatt tttgacatag ttagcctccg 600
cagtctttca tttcaagtaa ataatagcga aatattcttt atactgaata cttatagtga 660
agcaaagttc tagctttgag aaaattcttt ctgcaactaa atatagtaaa ttacggtaaa 720
atataaataa gtacatattg aagaaaatga gacataatat attttataat aggagggaat 780
10 ttcfaatgat agacaacttt atgcagggcc tttaaattaat taaagagaaa cgtaccaata 840
atgtagttaa aaaatctgat tgggataaaag gtgatctata taaaacttta gtccatgata 900
agttacccaa gcagttaaaa gtgcataata aagaagataa atattcagtt gtagggaagg 960
ttgctactgg gaactatagt aaagttcctt ggatttcaat atatgatgag aatataacaa 1020
aagaacaaaa ggatggatat tatttggtat atctttttca tccggaagga gaaggcatat 1080
acttatcttt gaatcaagga tgggtcaaaga taagtgatat g 1121

<210> 181

15 <211> 1131

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 181

ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat gaaaaacgtt	60
taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca ccagaaaata	120
tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata ctagccaaaa	180
tcaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta tcttccgaag	240
gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt gtattcgtca	300
ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactat gcactatcat	360
ttagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa caagtgtata	420
gagcatthaa gattatgcgt ggagaagcat atcataaatg atgcggtttt ttcagccgct	480
tcataaaggg attttgaatg tatcagaaca tatgagggtt atgtgaattg ctgttatgtt	540
tttaagaagc ttatcataag taatgaggtt catgatthtt gacatagtta gcctccgcag	600
tctttcattt caagtaaata atagcgaaat attctttata ctgaatactt atagtgaagc	660
aaagtcttag ctttgagaaa attctttctg caactaaata tagtaaatta cggtaaaata	720
taaataagta catattgaag aaaatgagac ataatatatt ttataatagg agggaatttc	780
aatgataga caactttatg caggtcctta aattaattaa agagaaacgt accaataatg	840
tagttaaaaa atctgattgg gataaagggtg atctatataa aacttttagtc catgataagt	900
taccaagca gttaaaagtg catataaaag aagataaata ttcagttgta gggaagggtg	960
ctactgggaa ctatagtaaa gttccttgga tttcaatata tgatgagaat ataacaaaag	1020
aaacaaagga tggatattat ttggtatata tttttcatcc ggaaggagaa ggcatatact	1080
5 tatctttgaa tcaaggatgg tcaaagataa gtgatatgtt tccgcgggat a	1131

<210> 182

<211> 896

<212> DNA

10 <213> Staphylococcus aureus

<400> 182

ES 2 526 518 T3

cattagaaat acaaggaaaag atgctatctt ccgaaggatt ggcccaagaa ttgaaccaac	60
gcatgaccca agggcaaagc gactttgtat tcgtcattgg cggatcaaac ggctgcaca	120
aggacgtctt acaacgcagt aactatgcac tatcathtag caaaatgaca ttccacatc	180
aatgatgcg ggttgtgtta attgaacaag tgtatagagc atttaagatt atgctggag	240
aagcatatca taaatgatgc ggttttttca gccgcttcat aaagggattt tgaatgtatc	300
agaacatatg aggtttatgt gaattgctgt tatgttttta agaagcttat cataagtaat	360
gaggttcatg atttttgaca tagttagcct ccgcagtctt tcatttcaag taaataatag	420
cgaatatattc ttatactga atacttatag tgaagcaaag ttctagcttt gagaaaattc	480
tttctgcaac taaatatagt aaattacggt aaaatataaa taagtacata ttgaagaaaa	540
tgagacataa tatattttat aataggaggg aatttcaa atagacaaac tttatgcagg	600
tccttaaatt aattaaagag aaacgtacca ataatgtagt taaaaaatct gattgggata	660
aagggtgatct atataaaact ttagtccatg ataagttacc caagcagtta aaagtgcata	720
taaaagaaga taaatattca gttgtaggga aggttgctac tgggaactat agtaaagttc	780
cttggaatttc aatatatgat gagaatataa caaaagaaac aaaggatgga tattatttgg	840
tatatctttt tcatccgga ggagaaggca tatacttatc tttgaatcaa ggatgg	896

<210> 183

<211> 1125

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 183

ggaaactaaa agagaaatat tggaagcaag ccatatcaga atatgaaaaa cgtttaggcc	60
catacaccaa gatagacatc atagaagttc cagacgaaaa agcaccagaa aatatgagcg	120
acaaagaaat cgagcaagta aaagaaaaag aaggccaacg aatactagcc aaaatcaaac	180
cacaatcaac agtcattaca ttagaaatac aaggaaagat gctatcttcc gaaggattgg	240
ctcaagaatt gaaccaacgc atgacccaag ggcaaagcga ctttgtattc gttattggcg	300
gatcaaacgg cctgcacaag gacgtcttac aacgcagtaa ctatgcacta tcattcagca	360
aatgacatt tccacatcag atgatgcggg ttgtgttaat tgagcaagtg tatagagcat	420
10 ttaagattat gcgtggggaa gcatatcata aatgatgcgg ttttttcagc cgcttcataa	480

ES 2 526 518 T3

agggatTTTTg aatgtatcag aacatatgag gtttatgtga attgctgtta tgtttttaag 540
 aagcttatca taagtaatga ggttcatgat ttttgacata gtttagcctcc gcagtctttc 600
 atttcaagta aataatagcg aaatattctt tatactgaat acttatagtg aagcaaagtt 660
 cttagctttga gaaaattctt tctgcaacta aatatagtaa attacggtaa aatataaata 720
 agtacatatt gaagaaaatg agacataata ttttttataa taggaggga tttcaaataga 780
 tagacaactt tatgcaggtc cttaaattaa ttaaagagaa acgtaccaat aatgtagtta 840
 aaaaactctga ttgggataaa ggtgatctat ataaaacttt agtccatgat aagttaccca 900
 agcagttaaa agtgcataata aaagaagata aatattcagt tgtagggaag gttgctactg 960
 ggaactatag taaagttcct tggatttcaa tatatgatga gaatataaca aaagaaacaa 1020
 aggatggata ttatttgga tatctttttc atccggaag agaaggcata tacttatctt 1080
 tgaatcaagg atggtcaaag ataagtgata tgtttccgcg ggata 1125

<210> 184

<211> 679

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 184

ataagagggga acagtgtgaa caagttaata acttgtggat aactggaaag ttgataacaa 60
 tttggaggac caaacgacat gaaaatcacc attttagctg tagggaaact aaaagagaaa 120
 tattggaagc aagccatagc agaatatgaa aaacgttttag gcccatcac caagatagac 180
 atcatagaag ttccagacga aaaagcacca gaaaatatga gcgacaaaga aattgagcaa 240
 gtaaaagaaa aagaaggcca acgaatacta gccaaaatca aaccacaatc cacagtcatt 300
 acattagaaa tacaaggaaa gatgctatct tccgaaggat tggcccaaga attgaaccaa 360
 cgcattgacc aagggcaaag cgactttgta ttcgtcattg ggggatcaaa cggcctgcac 420
 aaggacgtct tacaacgcag taactatgca ctatcattta gcaaaatgac attcccacat 480
 caaatgatgc gggttgtgtt aattgaacaa gtgtatagag catttaagat tatgcgtgga 540
 gaggttatc ataaataaaa ctaaaaatta gattgtgtat aatttaaaaa tttaatgaga 600
 tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg agtatacctt gcaatatcat acgatgttta 660
 10 tagagtgttt aataaacca 679

<210> 185

<211> 1125

<212> DNA

15 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 185

ES 2 526 518 T3

```

ggaaactaaa agagaaatat tggaagcaag ccatagcaga atatgaaaaa cgtttaggcc      60
catacaccaa gatagacatc atagaagttc cagacgaaaa agcaccagaa aatatgagcg      120
acaaagaaat tgagcaagta aaagaaaaag aaggccaacg aatactagcc aaaatcaaac      180
cacaatcaac agtcattaca ttagaaatac aaggaaagat gctatcttcc gaaggattgg      240
cacaagaatt gaaccaacgc atgaccaag ggcaaagcga ctttgtattc gtcattggcg      300
gatcaaacgg cctgcacaag gacgtcttac aacgtagtaa ctacgacta tcattcagca      360
aatgacatt cccacatcaa atgatgcggg ttgtgttaat tgagcaagtg tatagagcgt      420
ttaagattat gcgtggagaa gcatatcata aatgatgcgg ttttttcagc cgcttcataa      480
agggattttg aatgtatcag aacatatgag gtttatgtga attgctgtta tgtttttaag      540
aagcttatca taagtaatga ggttcatgat ttttgacata gttagcctcc gcagtctttc      600
atttcaagta aataatagcg aaatattctt tatactgaat acttatagtg aagcaaagtt      660
ctagctttga gaaaattctt tctgcaacta aatatagtaa attacggtaa aatataaata      720
agtacatatt gaagaaaatg agacataata tattttataa taggagggaa tttcaaataga      780
tagacaactt tatgcaggtc cttaaattaa ttaaagagaa acgtaccaat aatgtagtta      840
aaaaatctga ttgggataaa ggtgatctat ataaaacttt agtccatgat aagttacca      900
agcagttaaa agtgcataa aaagaagata aatattcagt tgtagggaag gttgctactg      960
ggaactatag taaagttcct tggatttcaa tatatgatga gaatataaca aaagaaacaa      1020
aggatggata ttatttggtg tatctttttc atccggaagg agaaggcata tacttatctt      1080
tgaatcaagg atggtcaaag ataagtgata tgtttccgcg ggata                        1125

```

<210> 186

<211> 926

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 186

```

tacattagaa atacaaggaa agatgctatc ttccgaagga ttggcccaag aattgaacca      60
acgcatgacc caagggcaaa gcgactttgt attcgtcatt ggcgatcaa acggcctgca      120
caaggacgct ttacaacgca gtaactatgc actatcattt agcaaaatga cattcccaca      180
10 tcaaatgatg cgggttgtgt taattgaaca agtgtataga gcatttaaga ttatgcgtgg      240

```

ES 2 526 518 T3

agaagcatat cataaatgat gcgggttttt cagccgcttc ataaagggat tttgaatgta 300
tcagaacata tgagggtttat gtgaattgct gttatgtttt taagaagctt atcataagta 360
atgaggttca tgatttttga catagttagc ctccgcagtc tttcatttca agtaaataat 420
agcgaatat tctttatact gaatacttat agtgaagcaa agttctagct ttgagaaaat 480
tctttctgca actaaatata gtaaattacg gtaaaatata aataagtaca tattgaagaa 540
aatgagacat aatatatttt ataataggag ggaatttcaa atgatagaca actttatgca 600
ggtccttaaa ttaattaaag agaaacgtac caataatgta gttaaaaaat ctgattggga 660
taaagggtgat ctatataaaa ctttagtcca tgataagtta cccaagcagt taaaagtgca 720
tataaaagaa gataaatatt cagttgtagg gaagggtgct actgggaact atagtaaagt 780
tccttggatt tcaatatatg atgagaatat aacaaaagaa acaaaggatg gatattattt 840
ggtatatctt tttcatccgg aaggagaagg catatactta tctttgaatc aaggatggtc 900
aaagataagt gatatgtttc cgcggg 926

<210> 187

<211> 24

5 <212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> cebador PCR para MREP tipo viii

10

<220>

<221> fuente

<222> (1)..(24)

<223> S. aureus resistente a meticilina

15

<400> 187

ggatgtgggt atgctaattg tggt

24

20 <210> 188

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial

25 <220>

<223> cebador PCR para MREP tipo viii

<220>

<221> fuente

30 <222> (1)..(27)

<223> S. aureus resistente a meticilina

<400> 188

35 tgaacaattt tatttctcat accatag

27

<210> 189

<211> 2154

<212> DNA

40 <213> Staphylococcus aureus

<400> 189

ES 2 526 518 T3

cggtaataaa aaatacgata tagatgaata aaaaaacagt gaagcaatcc gtaacgatgg	60
ttgcttcaact gttttattat gaattattaa taagtgtgt tacttctccc ttaaatacaa	120
tttcttcatt ttcattgtat gttgaaagt acactgtaac gagtccattt tcttttttta	180
tggatttctt atttgtaatt tcagcgataa cgtacaatgt attacctggg tatacaggtt	240
taataaattt aacgttattc atttgtgttc ctgtacaac ttcttctccg tatttacctt	300
cttctacca taattttaat gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt	360
taaatctact ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaaagttg	420
ttgcaaattg gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct ttttgttttg aatgtttctc	480
ctactataaa atcatcgtat ttcataatag tctctctttc ttattcaaat taatttttta	540
gtatgtaaca tgtaaaggt aagtctaccg tcaactgaaac gtaagactca cctctaactt	600
tctattgaga caaatgcacc attttatctg cattgtctgt aaagatacca tcaactcccc	660
aattagcaag ttggtttgca cgtgctggtt tgtttacagt ccatacgttc aattcataac	720
ccgcttcttt taccattttt acttttgctt tagtaagttt ggcactctca gtgtttacta	780
ttttagcatt acagtaatct aaaagtgttc tccagtcttc acgaaacgaa gttgtatgga	840
atataactgc tctgttatat tgtggcatga tttcttctgc aagtttaaca agcacaacat	900
taaagcttga aatgagcact tcttgattct gatttaagtt tgtaattgt tcttccactt	960
gcttaaccat acttttagaa agtgctagtc cattcgggtc agtaatacct ttttaattcta	1020
catttaaatt catattatat tcatttgcta tttttactac atcatcgaaa gttggcaaatt	1080
gttcactctt gaatttttca ccaaaccaag atcctgcaga agcatcttta atttcatcat	1140
aattcaattc agttatttcc cggacatat ttgtagtccg ttctaaataa tcatcatgaa	1200
tgataatcag ttgttcatct tttgtaattg caacatctaa ctccaaccag tttatacctt	1260
ctacttctga agcagcttta aatgatgcaa ttgtattttc cggagcttta ctaggtaatc	1320
ctctatgtcc atatacagtt agcatattac ctctccttgc atttttattt ttttaattaa	1380
cgtaaactga ttatcacatt aatcgcaact ttatttccat taaaaagaga tgaatatcat	1440

ES 2 526 518 T3

```

aaataaagaa gtcgatagat tcgtattgat tatggagtta atctacgtct catctcattt 1500
ttaaaaaatc atttatgtcc caagctccat tttgtaatca agtctagttt ttcggttctg 1560
ttgcaaagtt gaatttatag tataatttta acaaaaagga gtcttctgta tgaactattt 1620
cagatataaa caatttaaca aggatgttat cactgtagcc gttggctact atctaagata 1680
tacattgagt tatcgtgata tatctgaaat attaagggaa cgtggtgtaa acgttcatca 1740
ttcaacggtc taccgttggg ttcaagaata tgccccaatt ttgtatcaaa ttggaagaa 1800
aaagcataaa aaagcttatt acaaatggcg tattgatgag acgtacatca aaataaaagg 1860
aaaatggagc tatttatatc gtgccattga tgcagaggga catacattag atatttggtt 1920
gcgtaagcaa cgagataatc attcagcata tgcgtttatc aaacgtctca ttaaacaatt 1980
tggtaaacct caaaggtaa ttacagatca ggcaccttca acgaaggtag caatggctaa 2040
agtaattaaa gcttttaaac ttaaacctga ctgtcattgt acatcgaaat atctgaataa 2100
cctcattgag caagatcacc gtcataattaa agtaagaaag acaaggtatc aaag 2154

```

<210> 190

<211> 2410

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 190

```

ccaccttcat atgacgtcta tccatttatg tatggcatga gtaacgaaga atataataaa 60
ttaaccgaag ataaaaaaga acctctgctc aacaagttcc agattacaac ttcaccaggt 120
tcaactcaaa aaatattaac agcaatgatt gggttaaata acaaaacatt agacgataaa 180
acaagttata aaatcgatgg taaaggttgg caaaaagata aatcttgggg tggttacaac 240
gttacaagat atgaagtggg aaatggtaat atcgacttaa aacaagcaat agaatcatca 300
gataacattt tctttgctag agtagcactc gaattaggca gtaagaaatt tgaaaaaggc 360
atgaaaaaac taggtgttgg tgaagatata ccaagtgatt atccatttta taatgctcaa 420
atttcaaaca aaaatttaga taatgaaata ttattagctg attcagggtta cggacaaggt 480
gaaatactga ttaaccagc acagatcctt tcaatctata gcgcattaga aaataatggc 540
aatattaacg cacctcactt attaaaagac acgaaaaaca aagtttggaa gaaaaatatt 600
atttccaaag aaaatatcaa tctattaact gatggtatgc aacaagtcgt aaataaaaca 660
cataaagaag atatttatag atcttatgca aacttaattg gcaaaccgg tactgcagaa 720
10 ctcaaaatga aacaaggaga aactggcaga caaattgggt ggtttatatc atatgataaa 780

```

ES 2 526 518 T3

gataatccaa acatgatgat ggctattaat gttaaagatg tacaagataa aggaatggct 840
 agctacaatg ccaaaatctc aggtaaagtg tatgatgagc tatatgagaa cggtaataaa 900
 aaatacgata tagatgaata acaaaacagt gaagcaatcc gtaacgatgg ttgcttcact 960
 gttttattat gaattattaa taagtgtgtg tacttctccc ttaaatacaa tttcttcatt 1020
 ttcattgtat gttgaaagtg aactgtaac gagtccattt tcttttttta tggatttctt 1080
 atttgtaatt tcagcgataa cgtacaatgt attacctggg tatacagggt taataaattt 1140
 aacgttattc atttgtgttc ctgctacaac ttcttctccg tatttacctt cttctacca 1200
 taatttaa at gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt taaatctact 1260
 ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaaagttg ttgcaaattg 1320
 gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct ttttgttttg aatgtttctc ctactataaa 1380
 atcatcgat ttcatatatg tctctcttct ttattcaa attaattttta gtatgtaaca 1440
 tgttaaagg t aagtctaccg tcaactgaaac gtaagactca cctctaactt tctattgaga 1500
 caaatgcacc attttatctg cattgtctgt aaagatacca tcaactcccc aattagcaag 1560
 ttggtttgca cgtgctggtt tgtttacagt ccatacgttc aattcataac ccgcttcttt 1620
 taccattttt acttttgctt tagtaagttt ggcatcttca gtgtttacta ttttagcatt 1680
 acagtaatct aaaagtgttc tccagtcttc acgaaacgaa gttgtatgga atataactgc 1740
 tctgttatat tgtggcatga tttcttctgc aagttaaca agcacaacat taaagcttga 1800
 aatgagcact tcttgattct gatttaagtt tgttaattgt tcttccactt gcttaaccat 1860
 acttttagaa agtgctagtc cattcgggtc agtaatacct ttaatttcta catttaaatt 1920
 catattatat tcaattgcta tttttactac atcatcgaaa gttggcaa atgttcatctt 1980
 gaatttttca ccaaaccaag atcctgcaga agcatcttta atttcatcat aattcaattc 2040
 agttatttcc ccggacatat ttgtagtcg ttctaaataa tcatcatgaa tgataatcag 2100
 ttgttcatct tttgtaattg caacatctaa ctccaaccag tttatacctt ctacttctga 2160
 agcagcttta aatgatgcaa ttgtatttct cggagcttta ctaggtaato ctctatgtcc 2220
 atatacagtt agcatattac ctctccttgc atttttat ttttaattaa cgtaactgta 2280
 ttatcacatt aatcgactt ttatttccat taaaagaga tgaatatcat aaataaagaa 2340
 gtcgatagat tcgtattgat tatggagtta atctacgtct catctcattt ttaaaaaatc 2400
 atttatgtcc 2410

<210> 191

<211> 1858

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 191

ES 2 526 518 T3

caccttcata tgacgtctat ccattttatgt atggcatgag taacgaagaa tataataaat 60
 taaccgaaga taaaaaagaa cctctgctca acaagttcca gattacaact tcaccagggtt 120
 caactcaaaa aatattaaca gcaatgattg gggttaataa caaaacatta gacgataaaa 180
 caagttataa aatcgatggt aaagggttggc aaaaagataa atcttgggggt ggttacaacg 240
 ttacaagata tgaagtggta aatggtaata tcgacttaaa acaagcaata gaatcatcag 300
 ataacatttt ctttgctaga gtagcactcg aattaggcag taagaaattt gaaaaggca 360
 tgaaaaaact aggtgttgggt gaagatatac caagtgatta tccattttat aatgctcaaa 420
 tttcaaacia aaatttagat aatgaaatat tattagctga ttcagggttac ggacaagggtg 480
 aaatactgat taaccagta cagatccttt caatctatag cgcattagaa aataatggca 540
 atattaacgc acctcactta ttaaaagaca cgaaaaacia agtttggag aaaaatatta 600
 tttccaaaga aaatatcaat ctattaactg atggtatgca acaagtcgta aataaaacac 660
 ataaagaaga tatttataga tcttatgcaa acttaattgg caaatccggt actgcagaac 720
 tcaaatgaa acaaggagaa actggcagac aaattgggtg gtttatatca tatgataaag 780
 ataatccaaa catgatgatg gctattaatg ttaaagatgt acaagataaa ggaatggcta 840
 gctacaatgc caaatctca ggtaaagtgt atgatgagct atatgagaac ggtaataaaa 900
 aatacgatat agatgaataa caaacagtg aagcaatccg taacgatggt tgcttactg 960
 ttttattatg aattattaat aagtgtgtt acttctccct taaatacaat ttcttcattt 1020
 tcattgtatg ttgaaagtga cactgtaacg agtccatttt ctttttttat ggatttctta 1080
 tttgtaattt cagcgataac gtacaatgta ttacctgggt atacagggtt aataaattta 1140
 acgttattca tttgtgttcc tgctacaact tcttctccgt atttaccttc ttctacccat 1200
 aatttaaagt atattgaaag tgtatgcatg ccagatgcaa tgataccttt aaatctactt 1260
 tgttctgctt tttctttatc tatatgcata tattgaggat caaaagtgtg tgcaaattgg 1320
 ataatttctt cttctgtaat atgaaggctt tttgttttga atgtttctcc tactataaaa 1380
 tcatcgtatt tcatatatgt ctctctttct tattcaaatt aatttttttag tatgtaacat 1440
 gttaaaggta agtctaccgt cactgaaacg taagactcac ctctaacttt ctattgagac 1500
 aaatgcacca ttttatctgc attgtctgta aagataccat caactccca attagcaagt 1560
 tggtttgcac gtgctggttt gtttacagtc catacgttca attcataacc cgcttctttt 1620
 accattttta cttttgcttt agtaagtttg gcactctcag tgtttactat tttagcatta 1680
 cagtaatcta aaagtgttct ccagtcttca cgaaacgaag ttgtatggaa tataactgct 1740
 ctgttatatt gtggcatgat ttcttctgca agtttaacia gcacaacatt aaagcttgaa 1800
 atgagcactt cttgattctg atttaagttt gttaattggt cttccacttg cttaacca 1858

- 5 <210> 192
- <211> 1861
- <212> DNA
- <213> *Staphylococcus aureus*

- 10 <400> 192

ES 2 526 518 T3

```

ccaccttcat atgacgtcta tccatttatg tatggcatga gtaacgaaga atataataaa      60
ttaaccgaag ataaaaaaga acctctgctc aacaagttcc agattacaac ttcaccaggt      120
tcaactcaaa aaatattaac agcaatgatt gggttaaata acaaaacatt agacgataaa      180
acaagttata aaatcgatgg taaagggttg caaaaagata aatcttgggg tggttacaac      240
gttacaagat atgaagtggg aaatggtaat atcgacttaa aacaagcaat agaatcatca      300
gataacattht tctttgctag agtagcactc gaattaggca gtaagaaatt tgaaaaaggc      360
atgaaaaaac taggtgttgg tgaagatata ccaagtgatt atccatttta taatgctcaa      420
atttcaaaca aaaatttaga taatgaaata ttattagctg attcagggtta cggacaaggt      480
gaaatactga ttaaccaggt acagatcctt tcaatctata gcgcattaga aaataatggc      540
aatattaacg cacctcactt attaaaagac acgaaaaaca aagtttgga gaaaaatatt      600
atttccaaag aaaatatcaa tctattaact gatggtatgc aacaagtcgt aaataaaaca      660
cataaagaag atatttatag atcttatgca aacttaattg gcaaatccgg tactgcagaa      720
ctcaaaatga aacaaggaga aactggcaga caaattgggt ggtttatatc atatgataaa      780
gataatccaa acatgatgat ggctattaat gttaaagatg tacaagataa aggaatggct      840
agctacaatg ccaaaatctc aggtaaagtg tatgatgagc tatatgagaa cggtataaaa      900
aaatacgata tagatgaata acaaaacagt gaagcaatcc gtaacgatgg ttgcttcact      960
gttttattat gaattattaa taagtgtgtg tacttctccc ttaaatacaa tttcttcatt     1020
ttcattgtat gttgaaagtg aactgtaac gagtccattt tcttttttta tggatttctt     1080
atthtgaatt tcagcgataa cgtacaatgt attacctggg tatacagggt taataaattt     1140
aacgttattht atttgtgttc ctgctacaac ttcttctccg tatttacctt ctctaccca     1200
taatttaaht gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt taaatctact     1260
ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaaagttg ttgcaaattg     1320
gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct ttttgthttg aatgtttctc ctactataaa     1380
atcatcgat ttcatatatg tctctctttht ttattcaaht taattthttta gtatgtaaca     1440
tgthtaaagggt aagtctaccg tcaactgaaac gtaagactca cctctaactt tctattgaga     1500
caaatgcacc attttatctg cattgtctgt aaagatacca tcaactcccc aattagcaag     1560
ttggthttgca cgtgctggtht tgthttacagt ccatacgttht aattcataac ccgcttcttht     1620
taccatttht actthttgctt tagtaagtht ggcatcttht gtgthttacta tthtagcatt     1680
acagtaatct aaaagtgttht tccagtcttht acgaaacgaa gthgtatgga atataactgc     1740
tctgttatat tgtggcatga tthcttctgc aagthtaaca agcacaacat taaagcttga     1800
aatgagcact tcttgattct gatttaagtht tghtaattgt tcttccactt gcttaaccat     1860
a                                                                                   1861

```

- 5 <210> 193
- <211> 1861
- <212> DNA
- <213> *Staphylococcus aureus*

10 <400> 193

ES 2 526 518 T3

```

ccaccttcat atgacgtcta tccatttatg tatggcatga gtaacgaaga atataataaa      60
ttaaccgaag ataaaaaaga acctctgctc aacaagttcc agattacaac ttcaccaggt      120
tcaactcaaa aaatattaac agcaatgatt gggttaaata acaaaacatt agacgataaa      180
acaagttata aaatcgatgg taaaggttgg caaaaagata aatcttgggg tggttacaac      240
gttacaagat atgaagtggg aaatggtaat atcgacttaa aacaagcaat agaatcatca      300
gataacattt tctttgctag agtagcactc gaattaggca gtaagaaatt tgaaaaaggc      360
atgaaaaaac taggtgttgg tgaagatata ccaagtgatt atccatttta taatgctcaa      420
atttcaaaca aaaatttaga taatgaaata ttattagctg attcaggtta cggacaaggt      480
gaaatactga ttaaccagtg acagatcctt tcaatctata ggcgattaga aaataatggc      540
aatattaacg cacctcactt attaaaagac acgaaaaaca aagtttggaa gaaaaatatt      600
atttccaaag aaaatatcaa tctattaact gatggtatgc aacaagtcgt aaataaaaca      660
cataaagaag atatttatag atcttatgca aacttaattg gcaaaccggg tactgcagaa      720
ctcaaaatga aacaaggaga aactggcaga caaattgggt ggtttatatac atatgataaa      780
gataatccaa acatgatgat ggctattaat gttaaagatg tacaagataa aggaatggct      840
agctacaatg ccaaaatctc aggtaaagtg tatgatgagc tatatgagaa cggtaatataa      900
aaatacgata tagatgaata acaaaacagt gaagcaatcc gtaacgatgg ttgcttcact      960
gttttattat gaattattaa taagtgtgtg tacttctccc ttaaatacaa tttcttcatt     1020
ttcattgtat gttgaaagtg aactgtaac gagtccattt tcttttttta tggatttctt     1080
atttgtaatt tcagcgataa cgtacaatgt attacctggg tatacaggtt taataaattt     1140
aacgttattc atttgtgttc ctgctacaac ttcttctccg tatttacctt cttctacca     1200
taatttaaatt gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt taaatctact     1260
ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaaagttg ttgcaaattg     1320
gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct ttttgttttg aatgtttctc ctactataaa     1380
atcatcgat ttcatatatg tctctctttc ttattcaaat taatttttta gtatgtaaca     1440
tgttaaagggt aagtctaccg tcaactgaaac gtaagactca cctctaactt tctattgaga     1500
caaatgcacc attttatctg cattgtctgt aaagatacca tcaactcccc aattagcaag     1560
ttggtttgca cgtgctgggt tgtttacagt ccatacgttc aattcataac ccgcttcttt     1620
taccattttt acttttgctt tagtaagttt ggcatcttca gtgtttacta ttttagcatt     1680
acagtaatct aaaagtgttc tccagtcttc acgaaacgaa gttgtatgga atataactgc     1740
tctgttatat tgtggcatga tttcttctgc aagttaaaca agcacaacat taaagcttga     1800
aatgagcact tcttgattct gatttaagtt tgtaattgt tcttccactt gcttaaccat     1860
a                                                                 1861

```

5

<210> 194
 <211> 1052
 <212> DNA
 <213> *Staphylococcus aureus*

10

<400> 194

cggtaataaa aaatacgata tagatgaata acaaaacagt gaagcaatcc gtaacgatgg	60
ttgcttcact gttttattat gaattattaa taagtgtgt tacttctccc ttaaatacaa	120
tttcttcatt ttcattgtat gttgaaagt acactgtaac gagtccattt tcttttttta	180
tggatttctt atttgtaatt tcagcgataa cgtacaatgt attacctggg tatacagggt	240
taataaaattt aacggttattc atttgtgttc ctgctacaac ttcttctcgc tatttacctt	300
cttctaccca taatttaaatt gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt	360
taaatctact ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaaagttg	420
ttgcaaattg gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct ttttgttttg aatgtttctc	480
ctactataaa atcatcgat ttcatatatg tctctcttct ttattcaaatt taatttttta	540
gtatgtaaca tgttaaagggt aagtctaccg tcaactgaaac gtaagactca cctctaactt	600
tctattgaga caaatgcacc attttatctg cattgtctgt aaagatacca tcaactcccc	660
aattagcaag ttggtttgca cgtgctgggt tgtttacagt ccatacgttc aattcataac	720
ccgcttcttt taccattttt acttttgctt tagtaagttt ggcattctca gtgtttacta	780
tttttagcatt acagtaattc aaaagtgttc tccagtcttc acgaaacgaa gttgtatgga	840
atataactgc tctgttatat tgtggcatga tttcttctgc aagtttaaca agcacaacat	900
taaagcttga aatgagcact tcttgattct gatttaagtt tgttaattgt tcttccactt	960
gcttaacat acttttagaa agtgctagtc cattcggctc agtaatacct ttttaattcta	1020
5 catttaaatt catattatat tcatttgcta tt	1052

<210> 195

<211> 3101

<212> DNA

10 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 195

cttcatatga cgtctatcca tttatgtatg gcatgagtaa cgaagaatat aataaattaa	60
ccgaagataa aaaagaacct ctgctcaaca agttccagat tacaacttca ccagggttcaa	120
ctcaaaaaat attaacagca atgattgggt taaataacaa aacattagac gataaaacaa	180
gttataaaat cgatggtaaa ggttggcaaa aagataaatc ttgggggtgt tacaacgtta	240
caagatatga agtggtaaat ggtaatatcg acttaaaaca agcaatagaa tcatcagata	300
acattttctt tgctagagta gcaactgcat taggcagtaa gaaatttgaa aaaggcatga	360
aaaaactagg tgttgggtgaa gatataccaa gtgattatcc attttataat gctcaaattt	420
caaacaaaaa ttagataat gaaatattat tagctgattc aggttacgga caaggtgaaa	480
tactgattaa ccagtagacg atcctttcaa tctatagcgc attagaaaat aatggcaata	540
ttaacgcacc tcaattatta aaagacacga aaaacaaagt ttggaagaaa aatattattt	600
ccaaagaaaa tatcaatcta ttaactgatg gtatgcaaca agtcgtaaat aaaacacata	660
aagaagatat ttatagatct tatgcaaaact taattggcaa atccggtact gcagaactca	720

ES 2 526 518 T3

aaatgaaaca aggagaaact ggcagacaaa ttgggtgggt tatatcatat gataaagata	780
atccaaacat gatgatggct attaatgtta aagatgtaca agataaagga atggctagct	840
acaatgccaa aatctcaggt aaagtgtatg atgagctata tgagaacggg aataaaaaat	900
acgatataga tgaataacaa aacagtgaag caatccgtaa cgatggttgc ttcactgttt	960
tattatgaat tattaataag tgctgttact tctcccttaa atacaatttc ttcattttca	1020
ttgtatgttg aaagtgacac tgtaacgagt ccattttctt tttttatgga tttcttattt	1080
gtaatttcag cgataacgta caatgtatta cctgggtata caggtttaat aaatttaacg	1140
ttattcattt gtgttcctgc tacaacttct tctccgtatt taccttcttc taccataat	1200
ttaaatgata ttgaaagtgt atgcatgcca gatgcaatga tacctttaaa tctactttgt	1260
tctgcttttt ctttatctat atgcatatat tgaggatcaa aagttgttgc aaattggata	1320
atttcttctt ctgtaatatg aaggcttttt gttttgaatg tttctcctac tataaaatca	1380
tcgtatttca tatatgtctc tctttcttat tcaaattaat tttttagtat gtaacatgtt	1440
aaagtaagt ctaccgtcac tgaaacgtaa gactcacctc taactttcta ttgagacaaa	1500
tgcaccattt tatctgcatt gtctgtaaag ataccatcaa ctccccaatt agcaagttgg	1560
tttgacgtg ctggtttggt tacagtccat acgttcaatt cataaccgcg tctttttacc	1620
atttttactt ttgctttagt aagtttgga tcttcagtgt ttactatttt agcattacag	1680
taatctaaaa gtgttctcca gtcttcacga aacgaagttg tatggaatat aactgctctg	1740
ttatatgtg gcatgatttc ttctgcaagt ttaacaagca caacattaaa gcttgaaatg	1800
agcacttctt gattctgatt taagtttggt aattgttctt ccacttgctt aaccatactt	1860
ttagaaagtg ctagtccatt cgggtccagta atacctttta attctacatt taaattcata	1920
ttatatcat ttgctatttt tactacatca tcgaaagttg gcaaatgttc atctttgaat	1980
ttttcaccaa accaagatcc tgcagaagca tctttaattt catcataatt caattcagtt	2040
atttccccgg acatatattgt agtccgttct aaataatcat catgaatgat aatcagttgt	2100
tcattctttg taattgcaac atctaactcc aaccagttta taccttctac ttctgaagca	2160
gctttaaatg atgcaattgt attttccgga gctttactag gtaatcctct atgtccatat	2220
acagttagca tattacctct ccttgcatth ttattttttt aattaacgta actgtattat	2280
cacattaatc gcacttttat ttccattaaa aagagatgaa tatcataaat aaagaagtcg	2340
atagattcgt attgattatg gagttaatct acgtctcatc tcatttttaa aaaatcattt	2400
atgtcccaag ctccattttg taatcaagtc tagtttttcg gttctgttgc aaagttgaat	2460

ES 2 526 518 T3

ttatagtata attttaacaa aaaggagtct tctgtatgaa ctatttcaga tataaacaat	2520
ttaacaagga tggtatcact gtagccgttg gctactatct aagatatata ttgagttatc	2580
gtgatataatc tgaaatatta agggaacgtg gtgtaaacgt tcatcattca acggtctacc	2640
gttggtttca agaataatgcc ccaattttgt atcaaatttg gaagaaaaag cataaaaaag	2700
cttattacaa atggcgtatt gatgagacgt acatcaaaat aaaaggaaaa tggagctatt	2760
tatatcgtgc cattgatgca gagggacata cattagatat ttggttgcgt aagcaacgag	2820
ataatcattc agcatatgcg tttatcaaac gtctcattaa acaatttggt aaacctcaaa	2880
aggtaattac agatcaggca cttcaacga aggtagcaat ggctaaagta attaaagctt	2940
ttaaacttaa acctgactgt cattgtacat cgaaatatct gaataacctc attgagcaag	3000
atcacctgca tattaagta agaaagacaa ggtatcaaag tatcaatata gcaaagaata	3060
ctttaaaagg tattgaatgt atttacgtc tatataaaaa g	3101

<210> 196

<211> 3506

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 196

ccaccttcat atgacgtcta tccatttatg tatggcatga gtaacgaaga atataataaa	60
ttaaccgaag ataaaaaaga acctctgctc aacaagttcc agattacaac ttcaccaggt	120
tcaactcaaa aaatattaac agcaatgatt gggttaaata acaaaacatt agacgataaa	180
acaagttata aaatcgatgg taaaggttgg caaaaagata aatcttgggg tggttacaac	240
gttacaagat atgaagtggg aaatggtaat atcgacttaa aacaagcaat agaatcatca	300
gataacatctt tctttgctag agtagcactc gaattaggca gtaagaaatt tgaaaaaggc	360
atgaaaaaac taggtgttgg tgaagatata ccaagtgtt atccatttta taatgctcaa	420
atttcaaaca aaaatttaga taatgaaata ttattagctg attcagggtta cggacaaggt	480
gaaatactga ttaaccaggt acagatcctt tcaatctata gcgcattaga aaataatggc	540
aatattaacg cacctcactt attaaaagac acgaaaaaca aagtttgga gaaaaatatt	600
atttccaaag aaaatatcaa tctattaact gatggtatgc aacaagtcgt aaataaaaca	660
cataaagaag atatttatag atcttatgca aacttaattg gcaaaccgg tactgcagaa	720
ctcaaaatga aacaaggaga aactggcaga caaattgggt ggtttatatc atatgataaa	780
10 gataatccaa acatgatgat ggctattaat gttaaagatg tacaagataa aggaatggct	840

ES 2 526 518 T3

agctacaatg ccaaaatctc aggtaaagtg tatgatgagc tatatgagaa cggtaaataaa	900
aaatacagata tagatgaata acaaaacagt gaagcaatcc gtaacgatgg ttgcttccact	960
gttttattat gaattattaa taagtgtgtg tacttctccc ttaaatacaa tttcttcatt	1020
ttcattgtat gttgaaagtg aactgtaac gagtccattt tcttttttta tggatttctt	1080
atgtgtaatt tcagcgataa cgtacaatgt attacctggg tatacaggtt taataaattt	1140
aacgttattc atttgtgttc ctgtacaac ttcttctccg tatttacctt cttctaccca	1200
taattttaat gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt taaatctact	1260
ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaaagtgt ttgcaaattg	1320
gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct tttgttttg aatgtttctc ctactataaa	1380
atcatcgat ttcatatatg tctctctttc ttattcaaat taatttttta gtatgtaaca	1440
tgttaaaggt aagtctaccg tcaactgaaac gtaagactca cctctaactt tctattgaga	1500
caaatgcacc attttatctg cattgtctgt aaagatacca tcaactcccc aattagcaag	1560
ttggtttgca cgtgtcgtgt tgtttacagt ccatacgttc aattcataac ccgttcttt	1620
taccattttt acttttgctt tagtaagttt ggcattctca gtgtttacta ttttagcatt	1680
acagtaatct aaaagtgttc tccagtcttc acgaaacgaa gttgtatgga atataactgc	1740
tctgttatat tgtggcatga tttcttctgc aagtttaaca agcacaacat taaagcttga	1800
aatgagcact tcttgattct gatttaagtt tgttaattgt tcttccactt gcttaaccat	1860
acttttagaa agtgcctagc cattcgggtcc agtaatacct tttaattcta catttaaatt	1920
catattatat tcatttgcta tttttactac atcatcgaaa gttggcaaatt gttcatcttt	1980
gaatttttca ccaaaccaag atcctgcaga agcatcttta atttcatcat aattcaattc	2040
agttatttcc ccggacatat ttgtagtccg ttctaataaa tcatcatgaa tgataatcag	2100
ttgttcatct tttgtaattg caacatctaa ctccaaccag tttatacctt ctacttctga	2160
agcagcttta aatgatgcaa ttgtattttc cggagcttta ctaggtaatc ctctatgtcc	2220
atatacagtt agcatattac ctctccttgc atttttattt ttttaattaa cgtaactgta	2280
ttatcacatt aatcgcaatt ttatttccat taaaaagaga tgaatatcat aaataaagaa	2340
gtcgatagat tcgtattgat tatggagtta atctacgtct catctcattt ttaaaaaatc	2400
atttatgtcc caagctccat tttgtaatca agtctagttt ttctgtaccc cttatctgca	2460
attttactta ggattgcttt taacttacct cttatcagca attttactga gaactgcttt	2520

ES 2 526 518 T3

taacgcacct cttatctgca attttgcccta gaactgcttt taacgtacct cttatctgca	2580
attttactga gaactgcttt taacttaccc cttatcagca attttgcatg gaattgcttt	2640
taacgtacct cttatctgca attttactta gaactgcttt taacaaacct cttatctgca	2700
attttactta gaactgcttt taacgtacct cttatctgta attttactga gaactgcttt	2760
taacaaacct cttatctgca attttactta gaactgcttt taacaaacct cttatctgca	2820
attttactta gaattgcttt tactattcct cttattagta taatctcagt aagaatgcgt	2880
ataaaaaatga aaattacaac cgattttgta agtgctgacg cctgaggga tagtatgtgc	2940
gagagactaa tggctcgagc cataccccta ggcaagcatg cacgtacaaa atcgtaagat	3000
aaaaaaaaataa gcatatcact gtaaaacttta aaaaatcagt ttagtgatat gcttatattat	3060
ttcgagttag gatttatgtc ccaagctcat caagcacaat cggccactag tttatttctc	3120
tatcttatat gttctgatat ggtcttctat actgtataag tatacttttg aatatggatc	3180
ttgtgtcaat tcacgttcga aatcaaattc ttgattatca aatctgttaa agaattgttc	3240
gtattcttcg actgataatt gctctctaga ttctagcata tttaagtgtt tctctttatc	3300
taatgctttg tcatatcctt taacgattga accactaaag atttctccta ctgctcctga	3360
accataacta aatagacata ctttctcttc tgggtggaat gtgtggttct gtaataacga	3420
aattaaactt aagtataatg atcctgtata aatgttacca acatctctat tccataatac	3480
ggttctgttg caaagttgaa ttata	3506

<210> 197

<211> 928

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 197

tacattagaa atacaaggaa agatgctatc ttccgaagga ttggcccaag aattgaacca	60
acgcatgacc caagggcaaa gcgactttgt attcgtcatt ggccgatcaa acggcctgca	120
caaggacgtc ttacaacgca gtaactacgc actatcattc agcaaaatga cattcccaca	180
tcaaatgatg cgggttgtgt taattgaaca agtgtacaga gcatttaaga ttatgcgtgg	240
agaagcatat cataaatgat gcggtttttt cagccgcttc ataaagggat tttgaatgta	300
tcagaacata tgaggtttat gtgaattgct gttatgtttt taagaagctt atcataagta	360
atgaggttca tgatttttga catagtttagc ctccgcagtc tttcatttca agtaaataat	420
10 agcgaaatat tctttatact gaatacttat agtgaagcaa agttctagct ttgagaaaat	480

ES 2 526 518 T3

tctttctgca actaaatata gtaaattacg gtaaaatata aataagtaca tattgaagaa 540
aatgagacat aatatatattt ataataggag ggaatttcaa atgatagaca actttatgca 600
ggtccttaaa ttaatttaaag agaaacgtac caataatgta gttaaaaaat ctgattggga 660
taaagggtgat ctatataaaa ctttagtcca tgataagtta cccaagcagt taaaagtgca 720
tataaaagaa gataaatatt cagttgtagg gaagggtgct actgggaact atagtaaagt 780
tccttggtatt tcaatatatg atgagaatat aacaaaagaa acaaaggatg gatattattt 840
ggtatatctt tttcatccgg aaggagaagg catatactta tctttgaatc aaggatggtc 900
aaagataagt gatatgtttc cgcgggat 928

<210> 198

<211> 782

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 198

caatgcccac agagttatcc acaatacac aggttatata ctaaaaattg ggcatgaatg 60
tcagaaaaat atcaaaaact gcaaagaata ttgttataat aagagggaac agtgtgaaca 120
agttaataac ttgtggataa ctggaaagtt gataacaatt tggaggacca aacgacatga 180
aatcaccat tttagctgta gggaaactaa aagagaaata ttggaagcaa gccatagcag 240
aatatgaaaa acgttttaggc ccatacacca agatagacat catagaagtt ccagacgaaa 300
aagcaccaga aaatatgagc gacaaagaaa ttgagcaagt aaaagaaaaa gaaggccaac 360
gaatactagc caaaatcaaa ccacaatcaa cagtcattac attagaaata caaggaaaga 420
tgctatcttc cgaaggattg gcccaagaat tgaaccaacg catgacccaa ggcaaagcg 480
actttgtatt cgtcattggc ggatcaaacg gcctgcacaa ggacgtctta caacgcagta 540
actacgcact atcattcagc aaaatgacat tcccacatca aatgatgcgg gttgtgttaa 600
ttgaacaagt gtacagagca tttaagatta tgcgtggaga agcgtatcat aaataaaact 660
aaaaattagg ttgtgtataa tttaaaaatt taatgagatg tggaggaatt acatatatga 720
aatattggat tataccttgc aatatcatat gatgtttata gagtgtttaa taaaccatth 780
10 tt 782

<210> 199

<211> 709

<212> DNA

15 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 199

ES 2 526 518 T3

```
tacattagaa atacaaggaa agatgctatc ttccgaagga ttggcccaag aattgaacca      60
acgcatgacc caagggcaaaa gcgactttgt tttcgtcatt ggcggatcaa acggcctgca      120
caaggacgctc ttacaacgca gtaactacgc actatcattc agcaaaatga cattcccaca      180
tcaaatgatg cggtgtgtgt taattgaaca agtgtacaga gcatttaaga ttatgcgagg      240
agaagcttat cataagtaat gaggttcattg atttttgaca tagttagcct ccgcagtctt      300
tcattttcaag taaataatag cgaaatatc tttatactga atacttatag tgaagcaaag      360
ttctagcttt gagaaaattc tttctgcaac taaatatagt aaattacggt aaaatataaa      420
taagtacata ttgaagaaaa tgagacataa tatattttat aataggaggg aatttcaaat      480
gatagacaac tttatgcagg tccttaaat aattaaagag aaacgtacca ataagttagt      540
taaaaaatct gattgggata aaggtgatct atataaaact ttagtccatg ataagttacc      600
caagcagtta aaagtgcata taaaagaaga taaatatcca gttgtaggga aggttgctac      660
tggaactat agtaaagttc cttggatttc aatatatgat gagaatata      709
```

<210> 200

<211> 22

5 <212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> cebador PCR para orfSA0022

10

<220>

<221> fuente

<222> (1)..(22)

<223> S. aureus

15

<400> 200

gtgggaaatg gctgtgttg ag

22

20 <210> 201

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial

25 <220>

<223> cebador PCR para orfSA0022

<220>

<221> fuente

30 <222> (1)..(22)

<223> S. aureus

<400> 201

35 ttcttcctt ccattaactg tc

22

<210> 202

<211> 20

<212> DNA

40 <213> Artificial

<220>

<223> cebador PCR para MREP tipo vi

45 <220>

<221> fuente

<222> (1)..(20)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 202
 5 aaaagaaaga cggatgaaggc 20
 <210> 203
 <211> 25
 10 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo vi
 15 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(25)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 20 <400> 203
 cacttcatta tactgttttc ttgc 25
 25 <210> 204
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo vi
 <220>
 <221> fuente
 35 <222> (1)..(22)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 204
 40 tcaccgtctt tctttgacc tt 22
 <210> 205
 <211> 25
 <212> DNA
 45 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo ix
 50 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(25)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 55 <400> 205
 tgagatctgc tggaacaaaa gtgaa 25
 <210> 206
 60 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 65 <223> cebador PCR para MREP tipo ix

<220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(20)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 5 <400> 206
 cggtcgagtt tgctgaagaa 20
 10 <210> 207
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo viii
 <220>
 <221> fuente
 20 <222> (1)..(26)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 207
 25 tcccctaattg atagctggta tatatt 26
 <210> 208
 <211> 27
 <212> DNA
 30 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para MREP tipo viii
 35 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(27)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 40 <400> 208
 tctagggaat caaagaaaag taatagt 27
 <210> 209
 45 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 50 <223> cebador PCR para ccrA
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(32)
 55 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 209
 caacaargrc aatgtgayrt attatgytgt ta 32
 60 <210> 210
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial
 65 <220>

<223> cebador PCR para ccrA

<220>

<221> fuente

5 <222> (1)..(29)

<223> S. aureus resistente a meticilina

<400> 210

10 gataayatwg gmgaacaagt caraaatgg 29

<210> 211

<211> 35

<212> DNA

15 <213> Artificial

<220>

<223> cebador PCR para ccrA

20 <220>

<221> fuente

<222> (1)..(35)

<223> S. aureus resistente a meticilina

25 <400> 211

crrtattgat tgwtracacg rccacartaa ttwgg 35

<210> 212

30 <211> 31

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

35 <223> cebador PCR para ccrA

<220>

<221> fuente

<222> (1)..(31)

40 <223> S. aureus resistente a meticilina

<400> 212

atrrtsartg gttcattttt gaaatagatc c 31

45 <210> 213

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial

50 <220>

<223> cebador PCR para ccrB

<220>

55 <221> fuente

<222> (1)..(32)

<223> S. aureus resistente a meticilina

<400> 213

60 acgtgtcggg atctatgtwc gtgtatcaac rg 32

<210> 214

<211> 30

65 <212> DNA

<213> Artificial

<220>
 <223> cebador PCR para ccrB

5 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(30)
 <223> S. aureus resistente a meticilina

10 <400> 214
 tggtatgrtc tacaaaacaa accgaytagc 30
 <210> 215
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> cebador PCR para ccrB
 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(34)
 25 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 215
 gawtaataat rggggaatgc ttaccttcag ctat 34
 30 <210> 216
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> cebador PCR para ccrB
 <220>
 40 <221> fuente
 <222> (1)..(26)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 <400> 216
 45 ggttttgac tgactgttt ttacg 26
 <210> 217
 <211> 29
 50 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para ccrB

55 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(29)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 60 <400> 217
 tagaaytggt ttttatgatt accrtcttt 29

65 <210> 218
 <211> 26

<212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador PCR para ccrB

5 <220>
 <221> fuente
 <222> (1)..(26)
 <223> S. aureus resistente a meticilina
 10 <400> 218

ggcaaaaaya aagacgaagt gctgag 26

15 <210> 219
 <211> 721
 <212> DNA
 <213> Staphylococcus aureus

20 <400> 219
 tgtagcttta ggtgaagggt taggtccttc aataggggga ataatagcac attatatattca 60
 ttggtctttac ctacttatac ttcctatgat tacaatagta actatacctt ttcttattaa 120
 agtaatggta cctggtaaat caacaaaaaa tacattagat atcgtaggta ttgttttaaat 180
 gtctataagt attatatggt ttatgttatt tacgacaaat tataattgga cttttttaat 240
 actcttcaca atcttttttg tgatttttat taaacatatt tcaagagttt ctaacccttt 300
 tattaatcct aaactagga aaaacattcc gtttatgctt ggtttggttt ctggtgggct 360
 aatattttct atagtagctg gttttatatc aatggtgcct tatatgatga aaactattta 420
 tcatgtaaat gtagcgacaa taggtaatag tgttatTTTT cctggaacca tgagtgttat 480
 tgtttttggt tattttggtg gtttttttagt ggatagaaaa ggatcattat ttgtttttat 540
 tttaggatca ttgtctatct ctataagttt tttaactatt gcattttttg ttgagtttag 600
 tatgtggttg actactttta tgtttatatt tgttatgggc ggattatcct ttactaaaac 660
 agttatatca aaaatagtat caagtagtct ttctgaagaa gaagttgctt ctggaagagt 720
 t 721

25 <210> 220
 <211> 1791
 <212> DNA
 <213> Staphylococcus aureus

30 <400> 220

ES 2 526 518 T3

```

atccggtact gcagaactca aaatgaaaca aggagaaact ggcagacaaa ttgggtggtt      60
tatatcatat gataaagata atccaaacat gatgatggct attaatgtta aagatgtaca      120
agataaagga atggctagct acaatgcca aatctcaggt aaagtgtatg atgagctata      180
tgagaacggt aataaaaaat acgatataga tgaataacaa aacagtgaag caatccgtaa      240
cgatggttgc ttcactgttt tattatgaat tattaataag tgctgttact tctcccttaa      300
atacaatttc ttcattttca ttgtatgttg aaagtgacac tgtaacgagt ccattttctt      360
tttttatgga tttcttattt gtaatttcag cgataacgta caatgtatta cctgggtata      420
caggtttaat aaatttaacg ttattcattt gtgttcctgc tacaacttct tctccgtatt      480
taccttcttc taccataat ttaaatgata ttgaaagtgt atgcatgcca gatgcaatga      540
tacctttaaa tctactttgt tctgcttttt ctttatctat atgcataat tgaggatcaa      600
aagttgttgc aaattggata atttcttctt ctgtaatatg aaggcttttt gttttgaatg      660
tttctcctac tataaaatca tcgtatttca tatatgtctc tctttcttat tcaaattaat      720
tttttagtat gtaacatgtt aaaggtaagt ctaccgtcac tgaaacgtaa gactcacctc      780
taactttcta ttgagacaaa tgcaccattt tatctgcatt gtctgtaaag ataccatcaa      840
ctccccaatt agcaagttgg tttgcacgtg ctggtttgtt tacagtccat acgttcaatt      900
cataaccgcg ttcttttacc atttttactt ttgctttagt aagtttgga tcttcagtgt      960
ttactatttt agcattacag taatctaaaa gtgttctcca gtcttcacga aacgaagttg     1020
tatggaatat aactgctctg ttatattgtg gcatgatttc ttctgcaagt ttaacaagca     1080
caacattaaa gcttgaaatg agcacttctt gattctgatt taagtttggt aattgttctt     1140
ccacttgctt aaccatactt ttagaaagtg ctagtccatt cgggtccagta atacctttta     1200
attctacatt taaattcata ttatattcat ttgctatfff tactacatca tcgaaagttg     1260
gcaaatgttc atctttgaat ttttcaccaa accaagatcc tgcagaagca tctttaattt     1320
catcataatt caattcagtt atttccccgg acatatfffgt agtccgttct aaataatcat     1380
catgaatgat aatcagttgt tcatcttttg taattgcaac atctaactcc aaccagttta     1440
taccttctac ttctgaagca gctttaaatg atgcaattgt attttccgga gctttactag     1500
gtaatcctct atgtccatat acagtttagc tattacctct ccttgcatff ttatfftttt     1560
aattaacgta actgtattat cacattaatc gcactffttt ttccattaaa aagagatgaa     1620
tatcataaat aaagaagtcg atagattcgt attgattatg gagttaatct acgtctcatc     1680
tcatttttaa aaaatcattt atgtcccaag ctccatfffgt taatcaagtc tagtttttct     1740
gtacccttta tctgcaattt tacttaggat tgcttttaac ttacccttta t              1791

```

5 <210> 221
 <211> 600
 <212> DNA
 <213> Staphylococcus aureus

10 <400> 221

ES 2 526 518 T3

aagtgtgac gcctgagga atagtatgtg cgagagacta atggctcgag ccatacccct	60
aggcaagcat gcacgtacaa aatcgtaaga taaaaaata agcatatcac tgtaaaacttt	120
aaaaaatcag tttagtata tgcttattta tttcgagtta ggatttatgt cccaagctca	180
tcaagcacia tcggccacta gtttatttct ctatcttata tgttctgata tggctcttcta	240
tactgtataa gtatactttt gaatatggat cttgtgtcaa ttcacgttcg aaatcaaatt	300
cttgattatc aaatctgtta aagaatgttt cgtattcttc gactgataat tgctctctag	360
attctagcat atttaagtgt ttctctttat ctaatgcttt gtcataatcct ttaacgattg	420
aaccactaaa gatttctcct actgctcctg aaccataact aaatagacat actttctctt	480
ctggttgga tgtgtggttc tgtaataacg aaattaaact taagtataat gatcctgtat	540
aaatgttacc aacatctcta ttccataata cggttctgtt gcaaagttga atttatagta	600

<210> 222

<211> 1640

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 222

gggtggttta tatcatatga taaagataat ccaaacaatga tgatggctat taatgttaaa	60
gatgtacaag ataaaggaat ggctagctac aatgccaaaa tctcaggtaa agtgtatgat	120
gagctatatg agaacggtaa taaaaaatac gatatagatg aataacaaaa cagtgaagca	180
atccgtaacg atggttgctt cactgtttta ttatgaatta ttaataagtg ctgttacttc	240
tcccttaaat acaatttctt cattttcatt gtatgttgaa agtgacactg taacgagtcc	300
10 attttctttt tttatggatt tcttatttgt aatttcagcg ataacgtaca atgtattacc	360

ES 2 526 518 T3

tggtgataca gggttaataa atttaacgtt attcatttgt gttcctgcta caacttcttc	420
tccgtattta ccttcttcta cccataattt aaatgatatt gaaagtgtat gcatgccaga	480
tgcaatgata cctttaaato tactttgttc tgctttttct ttatctatat gcatatattg	540
aggatcaaaa gttgttgcaa attggataat ttcttcttct gtaatatgaa ggctttttgt	600
tttgaatggt tctcctacta taaaatcatc gtatttcata tatgtctctc tttcttattc	660
aaattaattt tttagtatgt aacatgttaa aggttaagtct accgtcactg aaacgtaaga	720
ctcacctcta actttctatt gagacaaatg caccatttta tctgcattgt ctgtaaagat	780
accatcaact ccccaattag caagttgggt tgcacgtgct ggtttggtta cagtccatac	840
gttcaattca taaccgcgtt cttttaccat ttttactttt gctttagtaa gtttggcatc	900
ttcagtggtt actattttag cattacagta atctaaaagt gttctccagt cttcacgaaa	960
cgaagttgta tggaatataa ctgctctggt atattgtggc atgatttctt ctgcaagttt	1020
aacaagcaca acattaaagc ttgaaatgag cacttcttga ttctgattta agtttggtta	1080
ttgttcttcc acttgcttaa ccatactttt agaaagtgtc agtccattcg gtccagtaat	1140
accttttaat totacattta aattcataatt atattcattt gctattttta ctacatcatc	1200
gaaagttggc aaatgttcat ctttgaattt ttcaccaaac caagatcctg cagaagcatc	1260
tttaatttca tcataattca attcagttat ttccccggac atatttgtag tccgttctaa	1320
ataatcatca tgaatgataa tcagttgttc atcttttgta attgcaacat ctaactccaa	1380
ccagtttata ccttctactt ctgaagcagc tttaaatgat gcaattgtat tttccggagc	1440
tttactaggt aatcctctat gtccatatac agtttagcata ttacctctcc ttgcattttt	1500
atttttttta ttaacgtaac tgtattatca cattaatcgc acttttattt ccattaaaaa	1560
gagatgaata tcataaataa agaagtcgat agattcgtat tgattatgga gttaatctac	1620
gtctcatctc atttttaaaa	1640

<210> 223

<211> 592

5 <212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 223

aattcaactt tgcaacagaa ccgtattatg gaatagagat gttggttaaca tttatacagg	60
atcattatac ttaagtttaa tttcgttatt acagaaccac acattccaac cagaagagaa	120
10 agtatgtcta tttagttatg gttcaggagc agtaggagaa atcttttagtg gttcaatcgt	180
taaaggatat gacaaagcat tagataaaga gaaacactta aatatgctag aatctagaga	240
gcaattatca gtccaagaat acgaaacatt ctttaacaga tttgataatc aagaatttga	300
tttcgaacgt gaattgacac aagatccata ttcaaaagta tacttataca gtatagaaga	360
ccatatcaga acatataaga tagagaaata aactagtggc cgattgtgct tgatgagctt	420
gggacataaa tctaactcg aaataaataa gcatatcact aaactgattt tttaaagttt	480
acagtgatat gcttattttt ttatcttacg attttgtacg tgcattgctt cctaggggta	540
tggtctgagc cattagtctc tcgcacatac tattccctca ggctgcagca ct	592

<210> 224
 <211> 2386
 <212> DNA

5 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 224

caccttcata tgacgtctat ccatttatgt atggcatgag taacgaagaa tataataaat	60
taaccgaaga taaaaaagaa cctctgctca acaagttcca gattacaact tcaccaggtt	120
caactcaaaa aatattaaca gcaatgattg ggtaaataa caaacatta gacgataaaa	180
caagttataa aatcgatggg aaaggttggc aaaaagataa atcttggggg ggttacaacg	240
ttacaagata tgaagtggta aatggtaata tcgacttaaa acaagcaata gaatcatcag	300
ataacatttt ctttgctaga gtagcactcg aattaggcag taagaaattt gaaaaaggca	360
tgaaaaaact aggtgttggg gaagatatac caagtgatta tccattttat aatgctcaaa	420
tttcaaacaa aaatttagat aatgaaatat tattagctga ttcaggttac ggacaagggtg	480
aaatactgat taaccagta cagatccttt caatctatag cgcattagaa aataatggca	540
atattaacgc acctcactta ttaaagaca cgaaaaacaa agtttggaag aaaaatatta	600
tttccaaaga aaatatcaat ctattaactg atggtatgca acaagtcgta aataaaacac	660
ataaagaaga tttttataga tcttatgcaa acttaattgg caaatccggg actgcagaac	720
tcaaaatgaa acaaggagaa actggcagac aaattgggtg gtttatatca tatgataaag	780
ataatccaaa catgatgatg gctattaatg ttaaagatgt acaagataaa ggaatggcta	840
gctacaatgc caaatctca ggtaaagtgt atgatgagct atatgagaac ggtaataaaa	900
aatacगतat agatgaataa caaacagtg aagcaatccg taacgatggg tgcttcactg	960
ttttattatg aattattaat aagtgtgtt acttctccct taaatacaat ttcttcattt	1020
tcattgtatg ttgaaagtga cactgtaacg agtccatttt ctttttttat ggatttctta	1080

10

ES 2 526 518 T3

```

tttgaatatt cagcgataac gtacaatgta ttacctgggt atacagggtt aataaattta 1140
acgttattca tttgtgttcc tgctacaact tcttctccgt atttaccttc ttctacccat 1200
aatttaaatt atattgaaag tgtatgcatg ccagatgcaa tgataccttt aaatctactt 1260
tgtttctgct tttctttatc tatatgcata tattgaggat caaaagttgt tgcaaattgg 1320
ataatttctt cttctgtaat atgaaggctt tttgttttga atgtttctcc tactataaaa 1380
tcacgtgatt tcataatagt ctctctttct tattcaaatt aatttttttag tatgtaacat 1440
gttaaaggta agtctaccgt cactgaaacg taagactcac ctctaacttt ctattgagac 1500
aaatgcacca ttttatctgc attgtctgta aagataccat caactcccca attagcaagt 1560
tggtttgcac gtgctggttt gtttacagtc catacgttca attcataacc cgcttctttt 1620
accattttta cttttgcttt agtaagtttg gcactctcag tgtttactat tttagcatta 1680
cagtaatcta aaagtgttct ccagtcttca cgaaacgaag ttgtatggaa tataactgct 1740
ctgttatatt gtggcatgat ttcttctgca agtttaacaa gcacaacatt aaagcttgaa 1800
atgagcactt cttgattctg atttaagttt gtttaattgt cttccacttg ctttaaccata 1860
cttttagaaa gtgctagtcc attcgggtcca gtaatacctt ttaattctac atttaaattc 1920
atattatatt catttgctat ttttactaca tcacgaaag ttggcaaattg ttcatctttg 1980
aatttttcac caaaccaaga tcctgcagaa gcactcttaa tttcatcata attcaattca 2040
gttatttccc cggacatatt tgtagtccgt tctaaataat catcatgaat gataatcagt 2100
tgttcatctt ttgtaattgc aacatctaac tccaaccagt ttataccttc tacttctgaa 2160
gcagctttaa atgatgcaat tgtattttcc ggagctttac taggtaatcc tctatgtcca 2220
tatacagtta gcatattacc tctccttgca tttttatttt tttaattaac gtaactgtat 2280
tatcacatta atcgactttt tatttccatt aaaaagagat gaatatcata aataaagaag 2340
tcgatagatt cgtattgatt atggagttaa tctacgtctc atctca 2386

```

<210> 225

<211> 623

5 <212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 225

```

tgaaaattac aaccgatttt gtaagtgtg acgcctgagg gaatagtatg tgcgagagac 60
taatggctcg agccataccc ctaggcaagc atgcacgtac aaaatcgtaa gataaaaaaa 120
10 taagcatatc actgtaaact ttaaaaaatc agtttagtga tatgcttatt tatttcgagt 180

```

ES 2 526 518 T3

taggatttat gtcccaagct catcaagcac aatcggccac tagtttattt ctctatctta 240
 tatgttctga tatggtcttc tatactgtat aagtatactt ttgaatatgg atcttgtgtc 300
 aattcacggt cgaaatcaaa ttcttgatta tcaaactctgt taaagaatgt ttctgtattct 360
 tcgactgata attgctctct agattctagc atattttaagt gtttctcttt atctaagct 420
 ttgtcatatc ctttaacgat tgaaccacta aagatttctc ctactgctcc tgaaccataa 480
 ctaaatagac atactttctc ttctggttgg aatgtgtggt tctgtaataa cgaaattaaa 540
 cttaagtata atgatcctgt ataaatgtta ccaacatctc tattccataa tacggttctg 600
 ttgcaaagtt gaatttatag tat 623

<210> 226

<211> 651

5 <212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 226

atgaaaaata tttcagaatt ctgagcccaa cttgatcaaa cttttgatca aggggaagcc 60
 gtctctatgg agtggttatt ccgtccgttg ctaaaaatgc tggcggaggg cgatccagtc 120
 cccgttgagg acatcgcggc ggagaccggg aagcccgtcg aggaagttaa gcaagtccta 180
 cagactctac ctagtgtgga acttgatgag cagggccgtg tcgtcggtta tggcctcaca 240
 ctgttccta cccccatcg cttcgagggt gatgggaagc aactatatgc atggtgcgcc 300
 cttgacacac ttatgttccc agcactcacc ggccggacgg tccacatcgc ttgccttgt 360
 cacggcaccg gtaagtccgt ccggttgacg gtggaaccgg accgcgttgt aagcgtcgag 420
 ccttcaacag ccgttgtctc gattgttaca ccagatgaaa tggcctcggg tcggtcggcc 480
 ttctgtaacg acgttcactt tttcagttca ccgagtgcag cccaagactg gcttaaccaa 540
 caccctgagt cgagcgtttt gcccgttgaa gatgcctttg aactgggtcg ccatttggga 600
 10 gcgcgttatg aggagtcagg acctactaat gggctctgtt gtaacattta a 651

<210> 227

<211> 563

<212> DNA

15 <213> Staphylococcus aureus

<400> 227

atgaatcttg aaaaaggga tatagaaagg aaaaacatg gtgtccatgt taatgagtat 60
 ttgcaaagtg taagtaaccc gaatgtctat gcagctggag atgctgcagc aacggatggc 120
 20 ttgccctca cacctgtagc cagtgcagat tctcatgtcg tagcatctaa tttattgaaa 180

ES 2 526 518 T3

gggaacagca aaaaaattga atatcccggtg attccatctg ctgtattttac cgtacctaaa 240
atggcatcgg taggtatgag cgaggaggaa gccaaaaact ctggccggaa tattaagta 300
aagcagaaaa acatctccga ctggtttacg tataaacgga caaatgagga ctttgctgcg 360
tttaaagtgc tgattgacga agatcatgat caaattgttg gtgctcattt gattagtaat 420
gaagccgatg aactgattaa tcattttgca acagccattc gttttgggat ttcaacaaaa 480
gaattgaaac aaatgatatt tgcctatcca acggcagctt cggacattgc acacatgttg 540
taagtttgcg ttttgtgaga tgt 563

<210> 228

<211> 1380

5 <212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 228

ttgttttagtt tatataaaaa atttaaaggt ttgttttata gcgttttatt ttggctttgt 60
attctttcat tttttagtgt attaatgaa atggttttta atgtttcttt acctgatatt 120
gcaaatcatt ttaatactac tcctggaatt acaaaactggg taaacactgc atatatgtta 180
actttttcga taggaacagc agtatatgga aaattatctg attatataaa tataaaaaaa 240
ttgttaatta ttggtattag tttgagctgt cttggttcat tgattgcttt tattggtcac 300
aatcactttt ttattttgat ttttggtagg ttagtacaag gagtaggac tgctgcattc 360
ccttcaactga ttatgggtgtg ttagctaga aatattacaa gaaaaaaca aggcaaagcc 420
tttggtttta taggatcaat ttagcttta ggtgaagggt taggtccttc aataggggga 480
ataatagcac attatattca ttggtcttac ctacttatac ttcctatgat tacaatagta 540
actatacctt ttcttattaa agtaatgta cctggtaaat caacaaaaaa tacattagat 600
atcgtaggta ttgttttaat gtctataagt attatatgtt ttatgttatt tacgacaaat 660
tataattgga cttttttaat actcttcaca atcttttttg tgatttttat taaacatatt 720
tcaagagttt ctaacccttt tattaatcct aaactaggga aaaacattcc gtttatgctt 780
ggtttggttt ctgggtgggt aatatattct atagtagctg gttttatatac aatgggtgcct 840
tatatgatga aaactattta tcatgtaa atagcgacaa taggtaatag tgttattttt 900
cctggaacca tgagtgttat tgtttttggt tatttttggt gttttttagt ggatagaaaa 960
ggatcattat ttgtttttat tttaggatca ttgtctatct ctataagttt ttttaactatt 1020
10 gcattttttg ttgagtttag tatgtggttg actactttta tgtttatatt tgttatgggc 1080
ggattatctt ttactaaaac agttatatca aaaatagtat caagtagtct ttctgaagaa 1140
gaagtgtcct ctggaatgag tttgctaaat ttcacaagtt ttttatcaga gggaacaggt 1200
atagcaattg taggaggttt attgtcacta caattgatta atcgtaaact agttctggaa 1260
tttataaatt attcttctgg agtgatatag aatattcttg tagccatggc tacccttatt 1320
attttatgtt gtcttttgac gattattgta tttaaacgtt ctgaaaagca gtttgaatag 1380

<210> 229

15 <211> 1365

<212> DNA

ES 2 526 518 T3

<213> Staphylococcus aureus

<400> 229

atgagaatag tgaatggacc aataataatg actagagaag aaagaatgaa gattgttcat	60
gaaattaagg aacgaatatt ggataaatat ggggatgatg ttaaggctat tgggtgttat	120
ggctctcttg gtcgtcagac tgatgggccc tattcggata ttgagatgat gtgtgtcatg	180
tcaacagaag aagcagagtt cagccatgaa tggacaaccg gtgagtggaa ggtggaagtg	240
aattttgata gcgaagagat tctactagat tatgcatctc aggtggaatc agattggcct	300
cttacacatg gtcaattttt ctctattttg ccgatttatg attcaggtgg atacttagag	360
aaagtgtatc aaactgctaa atcggtagaa gcccaaaccg tccacgatgc gatttgtgcc	420
cttatcgtag aagagctggt tgaatatgca ggcaaatggc gtaatatctg tgtgcaagga	480
ccgacaacat ttctaccatc cttgactgta caggtagcaa tggcaggtgc catgttgatt	540
ggctctgcatc atcgcatctg ttatacgacg agcgcttcgg tcttaactga agcagttaag	600
caatcagatc ttcttcagg ttatgaccat ctgtgccagt tcgtaatgtc tggccaactt	660
tccgactctg agaaacttct ggaatcgcta gagaatttct ggaatgggat tcaggagtgg	720
acagaacgac acggatatat agtggatgtg tcaaaacgca taccattttg aacgatgacc	780
tctaataatt gttaatcatg ttggttacgt atttattaac ttctcctagt attagtaatt	840
atcatggctg tcatggcgca ttaacggaat aaaggggtgtg cttaaactcg gccattttgc	900
gtaataagaa aaaggattaa ttatgagcga attgaattaa taataaggta atagatttac	960
attagaaaat gaaaggggat tttatgcgtg agaattgttac agtctatccc ggcattgcc	1020
gtcggggata ttaaaaagag tataagtttt tattgcgata aactaggttt cactttgggt	1080
caccatgaag atggattcgc agttctaatt tgtaatgagg ttcggattca tctatgggag	1140
5 gcaagtgatg aaggctggcg ctctcgtagt aatgattcac cggtttgtac aggtgcggag	1200
tcgtttattg ctggtactgc tagttgccgc attgaagtag agggaattga tgaattatat	1260
caacatatta agcctttggg catthttgcac cccaatacat cattaaaaga tcagtgggtg	1320
gatgaacgag actttgcagt aattgatccc gacaacaatt tgatt	1365

<210> 230

10 <211> 831

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 230

15

ES 2 526 518 T3

atggggggttt cttttaatat tatgtgtcct aatagtagca tttattcaga tgaaaaatca	60
agggttttag tggacaagac aaagagtgga aaagtgagac catggagaga aaagaaaatc	120
gctaattgttg attactttga acttctgcat attcttgaat ttaaaaaggc tgaaagagta	180
aaagattgtg ctgaaatatt agagtataaa caaatcgtg aaacaggcga aagaaagtgtg	240
tatcgagtgt ggttttgtaa atccaggctt tgtccaatgt gcaactggag gagagcaatg	300
aaacatggca ttcagtcaca aaaggttggt gctgaagtta ttaacaaaa gccaacagtt	360
cgttggttgt ttctcacatt aacagttaaa aatgtttatg atggcgaaga attaaataag	420
agtttgtcag atatggctca aggatttcgc cgaatgacgc aatataaaaa aattaataaa	480
aatcttggtg gttttatgcg tgcaacggaa gtgacaataa ataataaaga taattcttat	540
aatcagcaca tgcattgtatt ggtatgtgtg gaaccaactt attttaagaa tacagaaaac	600
tacgtgaatc aaaaacaatg gattcaatth tggaaaaagg caatgaaatt agactatgat	660
ccaaatgtaa aagttcaaat gattcgaccg aaaaataaat ataaatcgga tatacaatcg	720
gcaattgacg aaactgcaaa atactctgta aaggatacgg attttatgac cgatgatgaa	780
gaaaagaatt tgtaacgttt gtctgatttg gaggaaggtt tacaccgtaa a	831

<210> 231

<211> 4193

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 231

atgagccgct tgatacgcatt gagtgtatta gcaagtggta gtacaggtaa cgccactttt	60
gtagaaaatg aaaaaggtag tctattagtt gatgttggtt tgactggcaa gaaaatggaa	120
gaattgttta gtcaaattga ccgtaattatt caagatttaa atggatattt agtaaccat	180
10 gaacatattg atcatattaa aggattaggt gttttggcgc gtaaatatca attgccaatt	240

ES 2 526 518 T3

tatgcgaatg aaaagacttg gcaggcaatt gaaaagaaag atagtcgcat ccctatggat	300
cagaaattca tttttaatcc ttatgaaaca aaatctattg caggtttcga tgttgaatcg	360
tttaacgtgt cacatgatgc aatagatccg caattttata ttttccataa taactataag	420
aagtttacga ttttaacgga tacgggttac gtgtctgac gtatgaaagg tatgatacgt	480
ggcagcgatg cgtttatfff tgagagtaat catgacgtcg atatgttgag aatgtgtcgt	540
tatccatgga agacgaaaca acgtatttta ggcgatatgg gtcatgtatc taatgaggat	600
gcgggtcatg cgatgacaga tgtgattaca ggtaacacga aacgtattta cctatcgcat	660
ttatcacaag acaataacat gaaagatttg gcgcgtatga gtgttgacca agtattgaac	720
gaacacgata ttgatacggg aaaagaagta ttgctatgtg atacggataa agctattcca	780
acgccaatat atacaatata aatgagagtc accctataaa gttcggcact gctgtgagac	840
gactttatcg ggtgcttttt tatgttattg gtgggaaatg gctgttggtg gaattaaggt	900
tctatttgaa atgtaaaaaa taattcgata ttaaatgtaa tttataaata atttacataa	960
aatcaatcat tttaatataa ggattatgat aatatattgg tgtatgacag ttaatggagg	1020
gaacgaaatg aaagctttat tacttaaaac aagtgtatgg ctcgttttgc tttttagtgt	1080
gatgggatta tggcaagtct cgaacgcggc tgagcagtat acaccaatca aagcacatgt	1140
agtaacaacg atagacaaag caacaacaga taagcaacaa gtaacgcaa caaaggaagc	1200
ggctcatcaa tttggtgaag aagcggcaac caacgtatca gcatcagcac agggaacagc	1260
tgatgaaata aacaataaag taacatccaa cgcattttct aacaaacat ctacagcagt	1320
ttcaacaaaa gtaaacgaaa cgcacgatgt agatacacia caagcctcaa cacaaaaacc	1380
aactcaatca gcaacattca cattatcaaa tgctaaaaca gcatcacttt caccacgaat	1440
gtttgctgcc aatgtaccac aaacaacaac acataaaata ttacatacaa atgatatcca	1500
tggccgacta gccgaagaaa aaggcggtgt catcggtatg gctaaattaa aaacaataaa	1560
agaacaagaa aagcctgatt taatgttaga cgcaggagac gccttccaag gtttaccact	1620
ttcaaaccag tctaaaggtg aagaaatggc taaagcaatg aatgcagtag gttatgatgc	1680
tatggcagtg ggtaaccatg aatttgactt tggtatcgat cagttgaaaa agttagaggg	1740
tatgttagac ttcccgatgc taagtactaa cgtttataaa gatgggaaac gcgcgtttaa	1800
gccttcaaca attgtaacga aaaatggat tcgttatgga attattggcg taacgacacc	1860
agaaacaaag acgaaaacaa gacctgaggg cattaaaggt gttgaattta gagatccatt	1920
acaaagtgtg acagcagaaa tgatgcgtat ttataaagac gtagatacat ttgttggtat	1980

ES 2 526 518 T3

atcacattta gggattgatc cttcaacaca agaaacatgg cgtggtgatt acttagtgaa	2040
acaattaagt caaaatccac aattgaagaa acgtattaca gtcattgatg gtcattcaca	2100
taccgtactt caaaatggtc aaatttataa caatgatgca ttagcacaaa caggtacagc	2160
acttgccaat atcggtaagg ttacatttaa ttaccgcaat ggagaggat caaatattaa	2220
accgtcattg attaatgtta aagacgttga aaatgtaaca ccgaacaaag cattagctga	2280
acaaattaat caagctgatc aaacatttag agcacaaaca gcagaggtta ttattccaaa	2340
taataccatt gatttcaaag gagaaagaga tgacgttaga acgcgtgaaa caaatttagg	2400
aaacgcgatt gcagatgcta tggaagcgta tggcgtaag aatttctcta aaaagactga	2460
ctttgccgtg acaaatgggtg gaggtattcg tgccctctatc gcaaaaggta aggtgacagc	2520
ctatgattta atctcagtat taccatttgg aaatacgatt gcgcaaattg atgtaaaagg	2580
ttcagacgtc tggacagctt tcgaacatag tttagggtgca ccaacaacac aaaagacgg	2640
taagacagta ttaacagcga atggcggttt actacatatc tctgattcaa ttcgtgttta	2700
ctatgatatg aataaaccgt ctggcaaacg aattaacgct attcaaattt taaataaaga	2760
gacaggtaag tttgaaaata ttgatttaaa acgtgtatat catgtaacga tgaatgactt	2820
cacagcatca ggtggcgacg gatatagtat gttcggtggc octagagaag aaggattttc	2880
attagatcaa gtactagcaa gttatttaaa aacagctaac atagctaagt atgatacgac	2940
agaaccacaa cgtatgttat taggtaaacc agcagtaagt gaacaaccag ctaaaggaca	3000
acaaggtagc aaaggtagtg agtctggtaa agatgtacaa ccaattgggtg acgacaaagc	3060
gatgaatcca gcgaaacaac cagcgacagg taaagttgta ttgttaccaa cgcatagagg	3120
aactgttagt agcggtagag aaggttctgg tcgcacatta gaaggagcta ctgtatcaag	3180
caagagtggg aaccaattgg ttagaatgtc agtgcctaaa ggtagcgcgc atgagaaaca	3240
gttaccaaaa actggaacta atcaaagctc aagcccagca gcgatgtttg tattagtagc	3300
aggtataggt ttaatcgcca ctgtacgacg tagaaaagct agttaaaata tattgaaac	3360
aatactactg tatttcttaa ataagaggta cggtagtggt tttttatgga aaaaagctat	3420
aaacgttgat aaacatggga tataaaaacg gggataagta ataagacatc aagggtgttta	3480
tccacagaaa tggggatagt tatccagaat tgtgtacaat ttaaagagaa ataccacaa	3540
tgcccacaga gttatccaca aatacacaaag ttatacacta aaaattgggc ataaatgtca	3600
ggaaaatatc aaaaactgca aaaaatattg gtataataag agggaacagt gtgaacaagt	3660

ES 2 526 518 T3

taataacttg tggataactg gaaagttgat aacaatttgg aggaccaaac gacatgaaaa	3720
tcaccatttt agctgtaggg aaactaaaag agaatatttg gaagcaagcc atagcagaat	3780
atgaaaaacg tttaggccca tacaccaaga tagacatcat agaagttcca gacgaaaaag	3840
caccagaaaa tatgagcgac aaagaaattg agcaagtaaa agaaaaagaa ggccaacgaa	3900
tactagccaa aattaaacca caatccacag tcattacatt agaaatacaa ggaaagatgc	3960
tatcttccga aggattggcc caagaattga accaacgcat gaccaagggg caaagcgact	4020
ttgtattcgt cattggcgga tcaaacggcc tgcacaagga cgtcttaca cgcagtaact	4080
acgcactatc attcagcaaa atgacattcc cacatcaaat gatgcgggtt gtgttaattg	4140
agcaagtgtg tagagcattt aagattatgc gtggagaagc atatcataaa tga	4193

<210> 232

<211> 2996

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 232

atgaaacgag ccattgggta ttgcgccaa agtacaacga aacaacaatc actcccagct	60
caaaagcaag caatagaatt attagctcca aagcacaata ttcaaatat ccaatacatt	120
agtgataagc aatcaggcag aacagataat cgaacaggct atcaacaagt caccgaacgc	180
atccaacaaa gacaatgtga cgtattatgt tgttatcgct tgaatcgact tcatcgcaac	240
ttgaaaaatg cattaaaact catgaaactc tgtcaaaaat atcatgttca tattctaagt	300
gttcatgatg gctattttga tatggataaa gcgtttgatc gcctaaaact caatatatc	360
atgagtctgg ctgaacttga atccgataat attggagaac aagtcaaaaa tggacttaga	420
gaaaaggcaa aacaaggtaa actcataacg acccatgcgc ctttcgggta tcactatcaa	480
aatggtactt tcatcattaa taatgatgaa tcacctaccg tcaaagctgt attcaattat	540
tatcttcaag gatatggcta caagaagatt gcacaatatt tagaagacga taataaactt	600
attacccgca agccttatca ggtacgaaat ataattatga acccaaatta ttgtggtcgt	660
gtcatcaatc aatatgggta atataacaat atggtaccac ctattgtttc ggcaacgaaa	720
tatgaacatg ctcaagcaat ccgtaataag aagcaacttc actgtatacc ttcagagaat	780
cagctgaaac aaaagatcaa atgtccttgt tgtgactcaa cactgacaaa tatgacaata	840
agaaaaaac atacattgcg atattatatt tgcctaaaa atatgaatga atctcgcttt	900
10 gtctgttcat tcaaaggaat aaatgcacaa aaattagaag ttcaagtctt agctacatgt	960

ES 2 526 518 T3

cagaacttct ttcaaaacca acagctctat tcaaaaatta ataatgcaat tcatcaacgc 1020
ctcaaaaaac aaagagtgat agaagctaaa agtacgctaa ctcaagaaca actgatagat 1080
aaacttgcca aaggtatgat tgatgctgaa tcattcagaa aacagactca tttgatgaat 1140
caaaagcaca aaaccatatt ctccataagt gataatcagt tacaacatc actacaaaag 1200
gttatacaga aaagtttcac gttaaacatg ctgcatccct atattgatga aattcgcatt 1260
acaaaaaata aagcccttgt tgggatctat ttcaaaaatg aaccattgaa cattgtgaac 1320
caaacctcgc aatcatcgat tgcttaataca gaaaggatga aaaaatcatg caacaactca 1380
aacaanaacg tgcgggtatc tatgttcgtg tatcaacgga aatccaaagt actgaaggct 1440
atagtatcga tggacaaatc aatcaaattc gagaatattg tgatttcaat aactttgttg 1500
ttgtagatgt atacgcggat agaggtatct ctggaaaatc tatgaaccga ccagaactac 1560
aacgtttgtt aaaagatgcg aacgaaggtc agattgattc tgttatggtc taaaaaaca 1620
accgactagc acgtaacact tctgacttac tcaaaattgt tgaagacctt catcgtcaaa 1680
atgtcgaatt cttcagctta tctgagcgtg tggaaagtcaa tacaagcagt ggtaaattga 1740
tgctacaaat tctagcagat ttttcagaat ttgaaagaaa taatattgtc gaaaatgtat 1800
tcatgggtca aaccgcagc gctcaagaag gctattatca aggcaatttg ccgctgggct 1860
atgacaaaat accggatagc aagcatgaac tcatgataaa ccaacatgaa gcgaatattg 1920
tcaaatatat atttgagtca tatgctaaag gccacggata tcgtaaaatt gcgaatgcac 1980
tcaatcacia aggatacgtg actaaaaaag gaaagccttt cagtattggt tcagtgcct 2040
atatcttatt taatccattc tatgttggtg aaattcaatt cgcaaagtac aaagattgga 2100
atgaaaagcg tcgtaaaggg ctgaatgata aaccaataat agctgaagggt aagcattccc 2160
ctattattat tcaagactta tgggataaag tccaattacg taaaaaaca gtcagtcaaa 2220
aacctcaagt ccacggtaaa ggaactaatc tattaacagg tatcgttcat tgtccacaat 2280
gtggtgcacc aatggcagct agtaacacia cgaacacatt gaaagatggt accaagaagc 2340
gaatacgtta ttattcttgc agtaacttcc gaaacaaagg ctcaaaagta tgttctgcga 2400
atagcgttag agctgatgtg attgagaaat acgtcatgga tcaaatatc gaaattgtca 2460
aaagtataa agtcattaac caagtcttag aacgtgtcaa tcaagaaaat aaagtcgata 2520
ttggtgcatt gaaccacgat atcgttata aacaacaaca atacgatgaa gtcagcggga 2580
aactccataa tttagttaaa accattgaag ataattccga cctaaccatc gcattgaaag 2640
caactattca tcaatatgaa acacaactca atgacattac aatcaaatg aatcaactca 2700
aacagcaaca aatcaagag aaactatctt atgatacga acaaatcgt gccctattac 2760
aacgaatatt tcaaatata gaatcaatgg ataaagcaca actcaaagca ttatatctta 2820
cagtcattga ccgtattgat attcgtaaag acggtaatca taaaaaacag ttctacgtta 2880
cactaaaact caataatgaa attattaaac aacttttcaa taataccct ctcgacgaag 2940
tgctcctcag cacttcgtct ttatttttgc ctcaaacgct ctttcttcaa atctaa 2996

ES 2 526 518 T3

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 233

5
gctgtaggga aactaaaaga gaaatattgg aagcaagcca tagcagaata tgaaaaacgt 60
ttaggcccac acaccaagat agacatcata gaagttccag acgaaaaagc accagaaaat 120
atgagcgaca aagaaattga gcaagtaaaa gaaaaagaag gccaacgaat actagccaaa 180
attaaaccac aatccacagt cattacatta gaaatacaag gaaagatgct atcttccgaa 240
ggattggccc aagaattgaa ccaacgcatg acccaagggc aaagcgactt tgtattcgctc 300
attggcggat caaacggcct gcacaaggac gtcttacaac gcagtaacta cgcactatca 360
ttcagcaaaa tgacattccc acatcaaatg atgcgggttg tgttaattga gcaagtgtat 420
agagcattta agattatgcg tggagaagca tatcataaat gatgcggttt tttcagccgc 480
ttcataaagg gatthttgaat gtatcagaac atatgagggtt tatgtgaatt gctgttatgt 540
ttttaagaag catatcataa gtgatgcggt ttttattaat tagttgctaa aaaatgaagt 600
atgcaatatt aattattatt aaatthttgat atatthtaag aaagattaag tttaggggtga 660
atgaatggct tatcaaagtg aatatgcatt agaaaatgaa gtacttcaac aacttgagga 720
attgaactat gaaagagtaa atatacataa tattaatta gaaattaatg aatatctcaa 780
agaactagga gtgttgaaaa atgaataagc agacaatac tccagaacta agatttccag 840
agthttgatga ggaatggaaa aaaaggaaat taggtgaagt agtaaattat aaaaatggtg 900
gttcatttga aagthttagt aaaaaccatg gtgtatataa actcataact cttaaatctg 960
ttaatacaga aggaaagttg tgtaattctg gaaaatatat cgatgataaa tgtgttgaaa 1020
cattgtgtaa tgatacttta gtaatgatac tgagcgagca agcaccagga ctagttggaa 1080
tgactgcaat tatacctaataaataatgagt atgtactaaa tcaacgagta gcagcactag 1140
tgcctaaaca atthtatagat agtcaatthc tatctaagtt aattaataga aaccagaaat 1200
atthtcagtgt gagatctgct ggaacaaaag tgaaaaatat ttctaaagga catgtagaaa 1260
actthtaattt thtatctoct aattacactg aacaacaaaa aataggtaat thcttcagca 1320
aactcgaccg ccagattgag ttagaagaag agaaacttga actcttatag caacaaaagc 1380
gtggatatat ttcagaagat thttctcaag 1410

10

REIVINDICACIONES

1. Método para detectar la presencia de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) con MREJ de tipos i, ii, iii y ix, que comprende:
 - a) poner en contacto una muestra en la que hay que analizar la presencia de dichas cepas de SARM con MREJ de tipos i, ii, iii y ix, en donde cada una de dichas cepas de SARM incluyen un elemento de casete cromosómico estafilocócico de *mec* (SCC*mec*) que contiene un gen *mecA* insertado en el ADN cromosómico, mediante lo cual se genera una unión en el extremo derecho (MREJ, por su nombre en inglés) polimórfica de tipos i, ii, iii o ix que comprende secuencias procedentes del extremo derecho del elemento SCC*mec* y del ADN cromosómico adjunto a dicho extremo derecho del elemento SCC*mec*, con un primer y un segundo cebador para cada una de dichas MREJ de tipos i, ii, iii y ix,
 - en donde dicho primer cebador se hibrida con dicho extremo derecho del elemento SCC*mec* de una secuencia de MREJ de tipos i, ii, iii o ix seleccionado del grupo que consiste en: SEQ ID n.º 1, 20 a 25, 41 y 199, y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo i, SEQ ID n.º 2, 17 a 19, 26, 40, 173 a 183, 185, 186 y 197, y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo ii, SEQ ID n.º 4 a 16, 104, 184 y 198, y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo iii y SEQ ID n.º 168, y el complemento de la misma, para la MREJ de tipo ix; y en donde cada dicho segundo cebador se hibrida con una secuencia cromosómica de *S. aureus* para generar específicamente uno o varios amplicones si tal cepa de SARM con MREJ de tipos i, ii, iii o ix está presente en dicha muestra; y
 - b) detectar la presencia de dicho uno o varios amplicones.
2. Método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha secuencia cromosómica de *S. aureus* es *orfX*.
3. Método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde dicho método comprende el uso de al menos un cebador y/o sonda seleccionado entre las siguientes SEQ ID n.º: 109, 148, 149, 205, 206, 64, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 70, 103, 130, 132, 158, 159, 59, 62, 126, 127, 128, 129, 131, 200, 201, 60, 61, 63, 32, 83, 84, 160, 161, 162, 163 y 164 para la detección de MREJ de tipo ix.
4. Método de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende el uso de una pareja de cebadores que consiste en las SEQ ID n.º 64 y 109 o 64 y 149 o 64 y 206.
5. Método de acuerdo con la reivindicación 4, que además comprende el uso de al menos una sonda que tiene una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID n.º 32, 83, 84, 160, 161, 162, 163 y 164.
6. Método de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dichos cebadores y sondas tienen las siguientes secuencias nucleotídicas: SEQ ID n.º 64, 109, 84, 163 y 164 para detectar la MREJ de tipo ix.
7. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que se utilizan juntos varios cebadores y/o sondas en el mismo confinamiento físico.
8. Kit para detectar la presencia de las cepas de SARM con MREJ de tipos i, ii, iii y ix en una muestra, que comprende:
 - a) un primer conjunto de oligonucleótidos que se hibridan con el extremo derecho del elemento SCC*mec* de las secuencias de MREJ de tipos i, ii, iii y ix seleccionadas del grupo que consiste en: SEQ ID n.º 1, 20 a 25, 41 y 199, y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo i, SEQ ID n.º 2, 17 a 19, 26, 40, 173 a 183, 185, 186 y 197, y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo ii, SEQ ID n.º 4 a 16, 104, 184 y 198, y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo iii, y SEQ ID n.º 168, y el complemento de la misma, para la MREJ de tipo ix; y
 - b) un segundo oligonucleótido que se hibrida con una secuencia cromosómica de *S. aureus*;
- en donde dichos oligonucleótidos de a) y b) permiten generar selectivamente uno o varios amplicones que comprende secuencias del extremo derecho del elemento SCC*mec* y del ADN cromosómico adjunto a dicho extremo derecho de dichas cepas de SARM con MREJ de tipos i, ii, iii y ix.
9. Kit de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicha secuencia específica del ADN cromosómico de *S. aureus* es *orfX*.
10. Kit de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, en el que dicho segundo oligonucleótido en b) comprende una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID n.º: 32, 59, 60 a 64, 70 a 76, 83, 84, 103, 126 a 132, 160 a 164, 200 y 201.
11. Kit de acuerdo con las reivindicaciones 8 o 9, que comprende una pareja de oligonucleótidos que consiste en las SEQ ID n.º 64 y 109 o 64 y 149 o 64 y 206.
12. Kit de acuerdo con una de las reivindicaciones 8 a 11, que además comprende al menos una sonda seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID n.º 32, 83, 84, 160, 161, 162, 163 y 164.

13. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o kit de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12, en donde dicho segundo cebador tiene una secuencia como la presentada en la SEQ ID n.º 64.

14. Kit de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13, que comprende cebadores y sondas que tienen
5 las secuencias que se presentan en las SEQ ID n.º 64, 109, 84, 163 y 164.

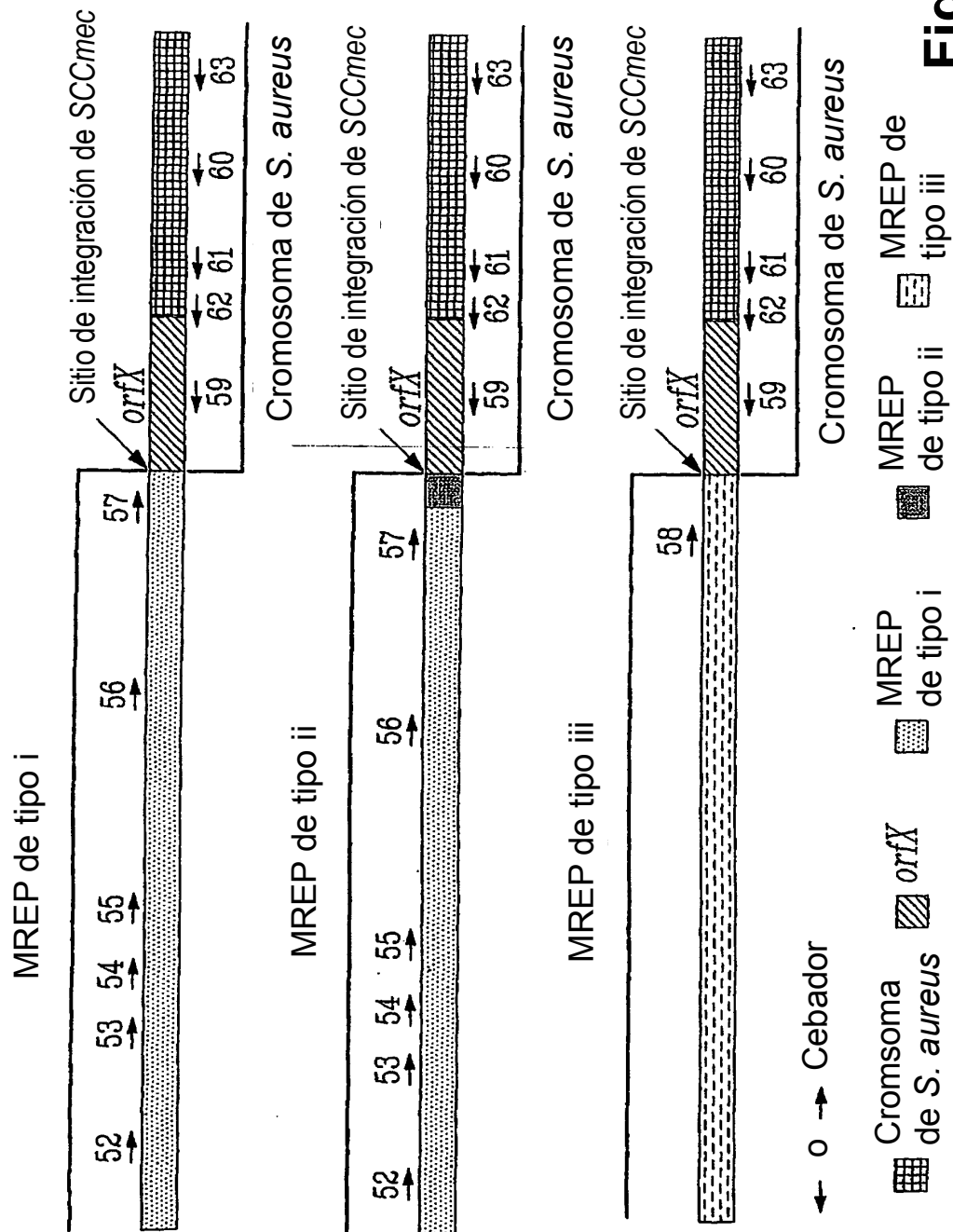


Figura 1

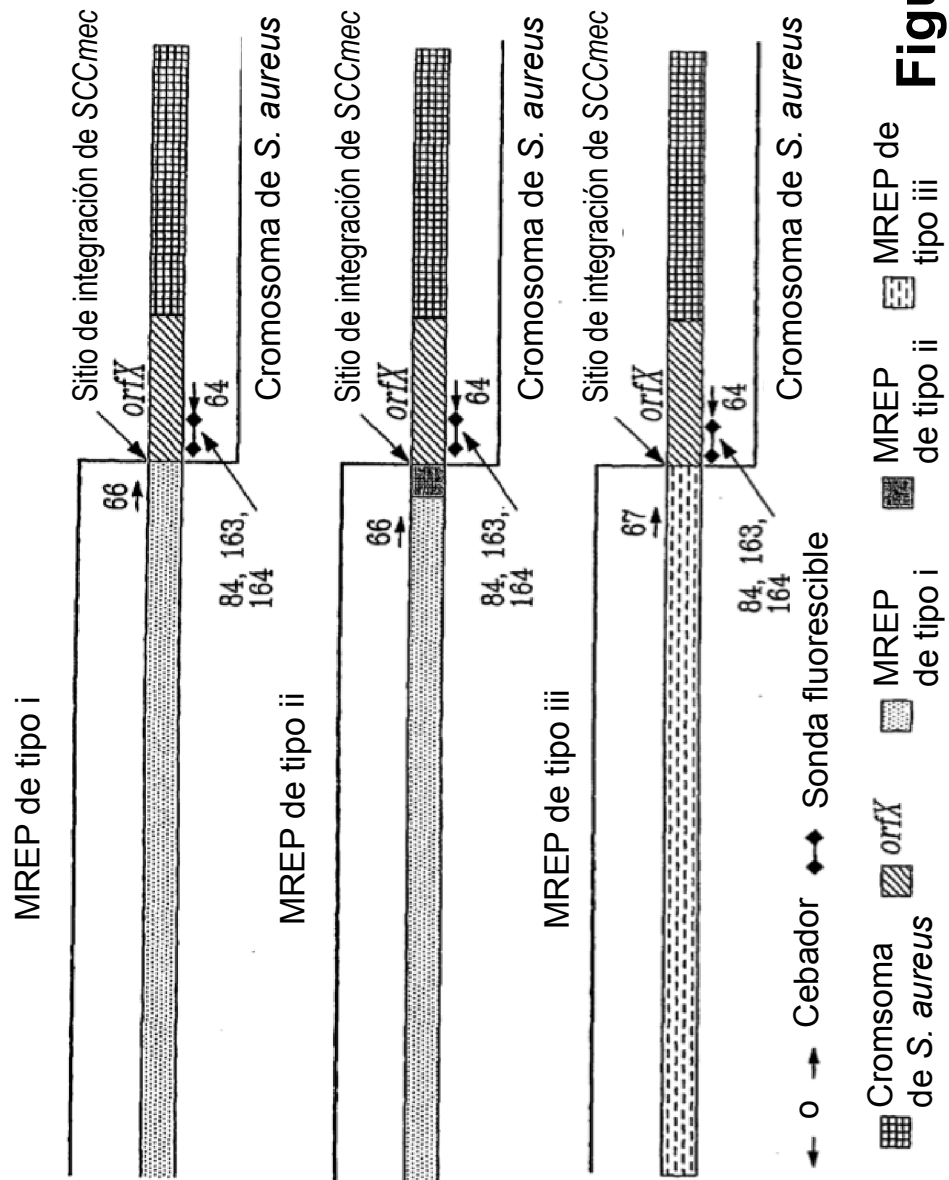


Figura 2A

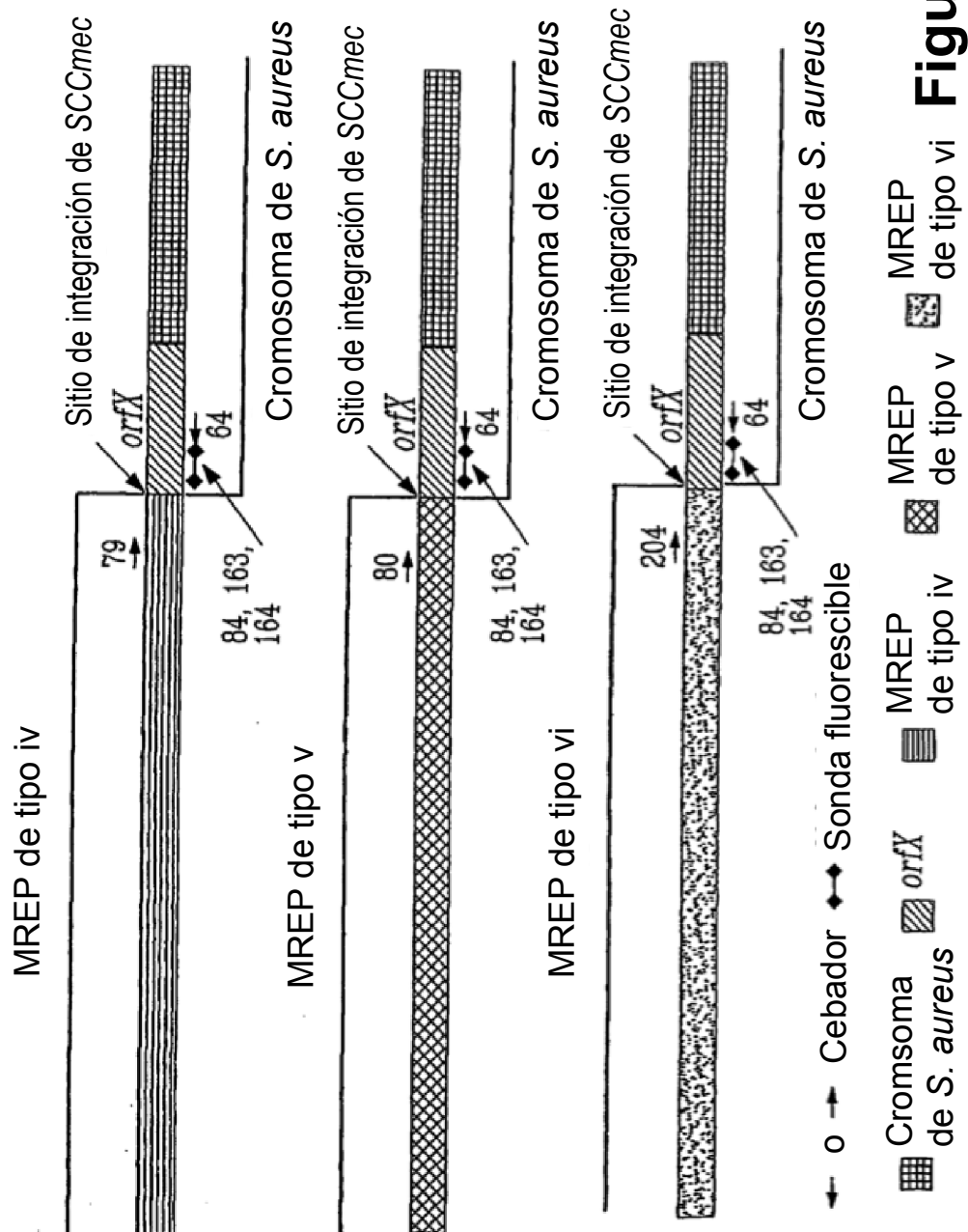


Figura 2B

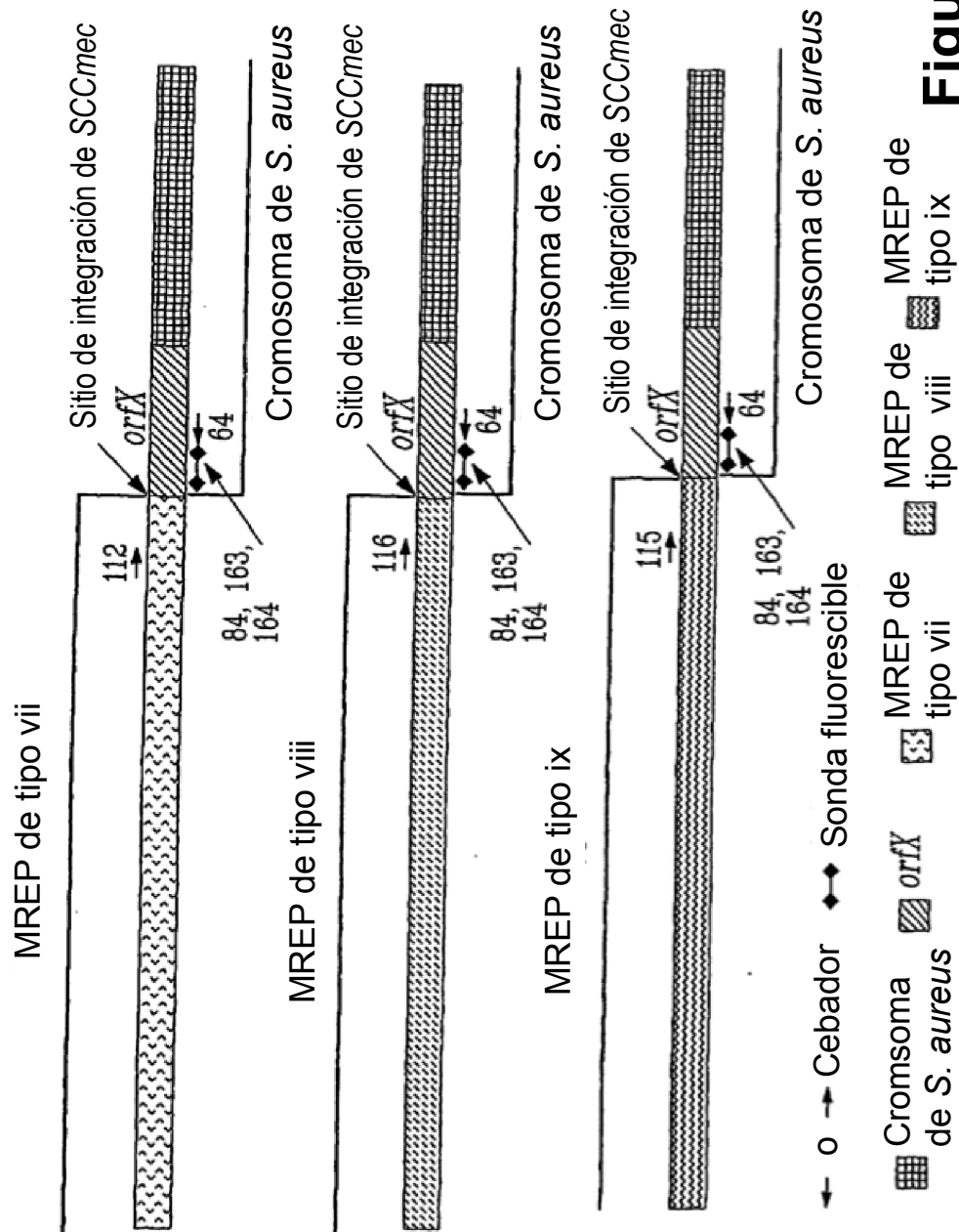


Figura 2C

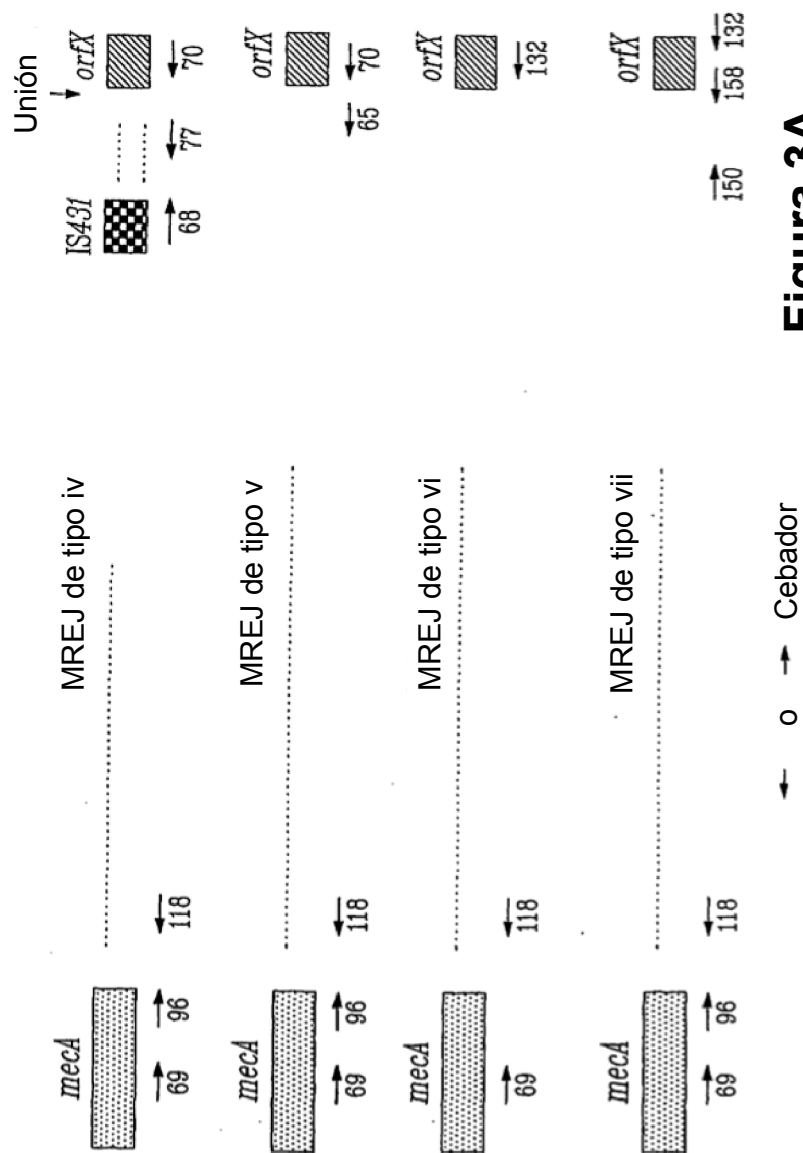
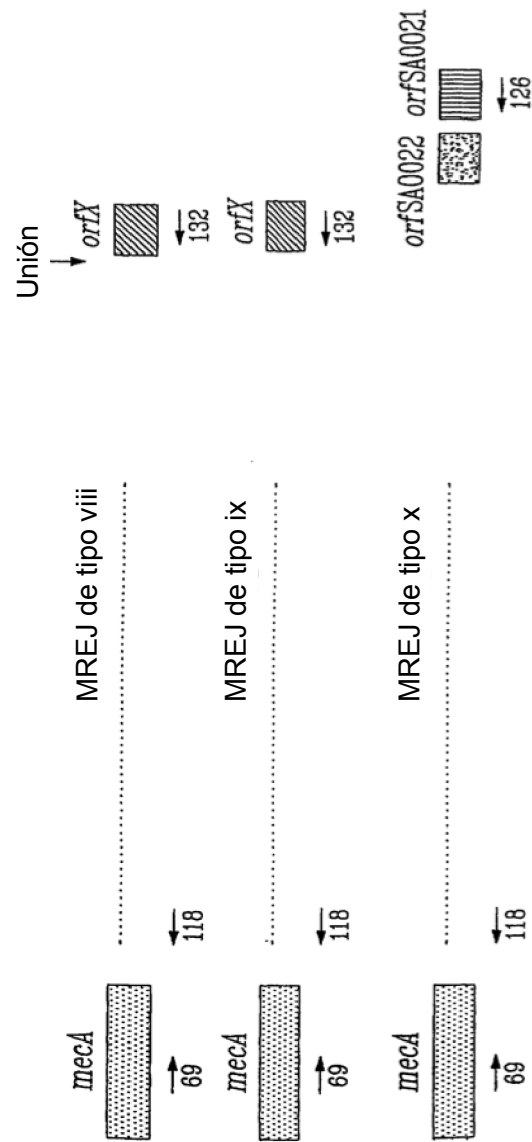


Figura 3A



→ 0 → Cebador

Figura 3B

Sitio de integración de SCCmec



Figura 4A

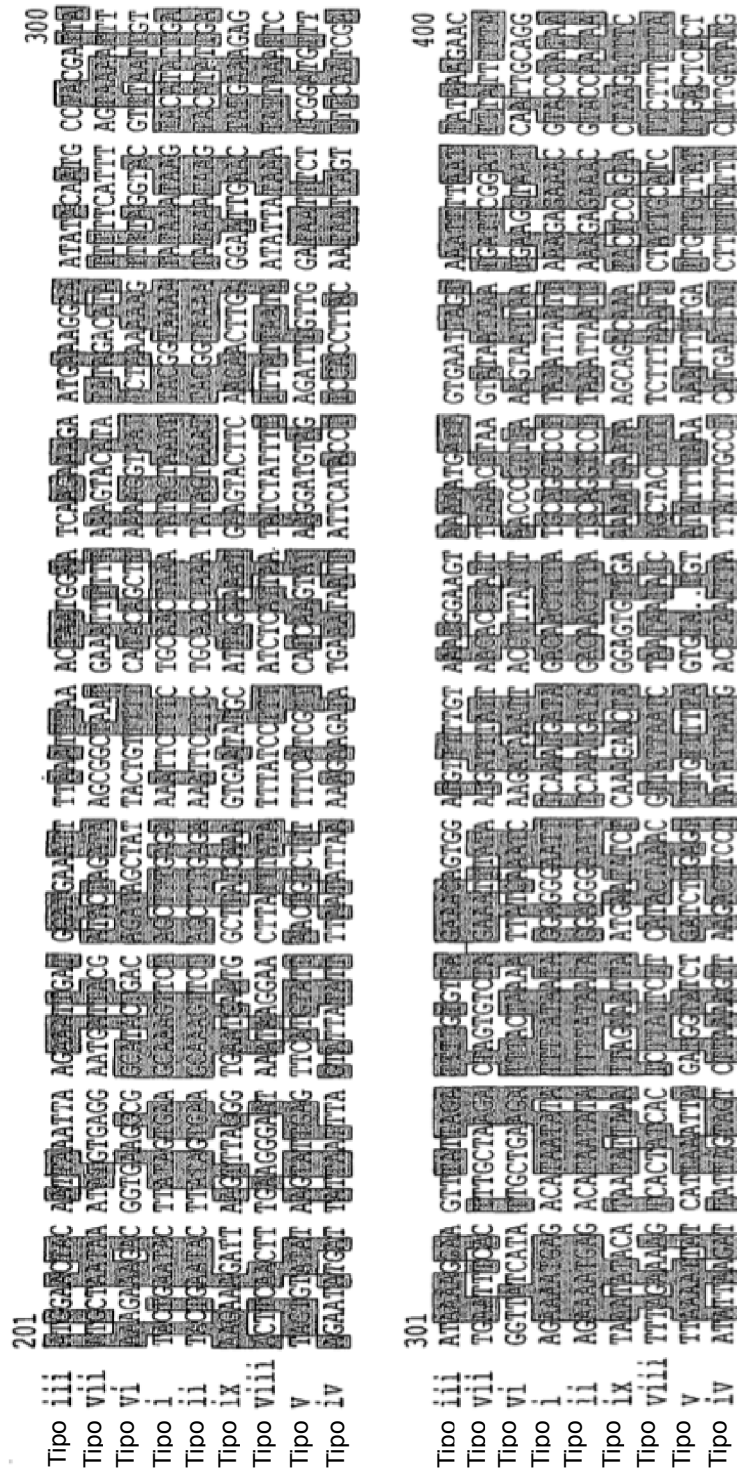


Figura 4B

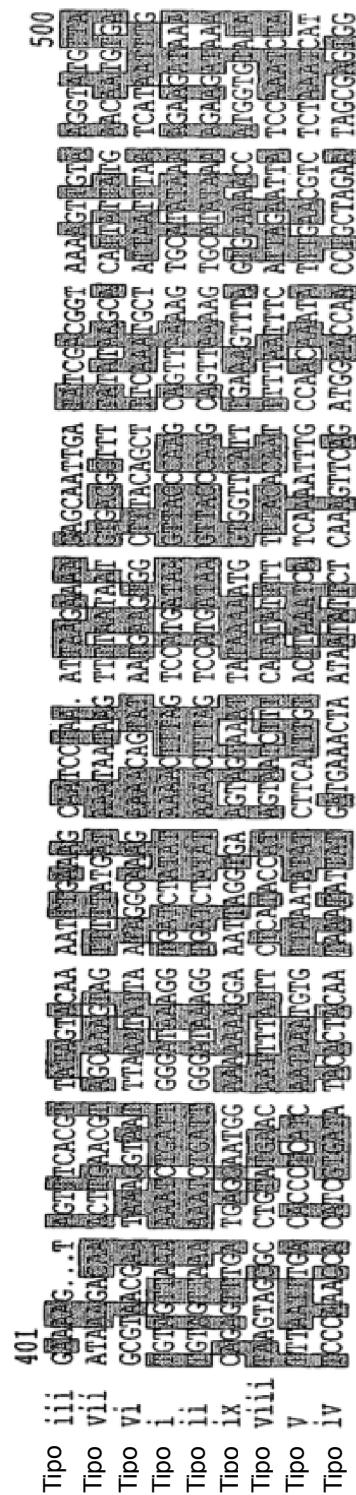


Figura 4C