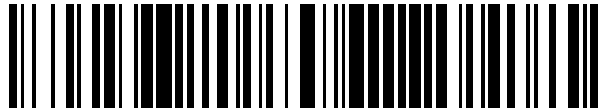


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 887**

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 10181533 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2015 EP 2322663**

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

30 Prioridad:

**04.06.2001 CA 2348042**

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

**29.05.2015**

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 2 536 887 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 v 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 morbimortalidad. Algunas de las infecciones más habituales 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.<sup>a</sup> 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  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -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<sub>scc</sub>*, que es el sitio de integración en el cromosoma bacteriano para el ADN de SCC*mec*). El sitio *attB<sub>scc</sub>* 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 ha 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 SCC*mec* 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 SCC*mec*. Dado que las secuencias nucleotídicas que rodean el sitio de integración de SCC*mec* 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 SCC*mec* (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 SCC*mec* adyacentes al sitio de integración entre los tres tipos de SCC*mec*. El tipo III tiene una secuencia nucleotídica única, mientras que el tipo II tiene una inserción de 102 nucleótidos en el extremo derecho del SCC*mec* 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 SCC*mec* de tipo I como el MREP de tipo i, el SCC*mec* de tipo II como el MREP de tipo ii y el SCC*mec* de tipo III como el MREP de tipo iii. Se debe observar que el método de tipificación de MREP no consigue diferenciar entre el SCC*mec* de tipo II y el nuevo SCC*mec* de tipo IV descrito por Hiramatsu et al. (Ma et al., 2002, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 46: 1147-1152) porque estos dos tipos de SCC*mec* 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 múltiple 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 SCC*mec*-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 SCC*mec*-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 como se define en las reivindicaciones.

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

a) poner en contacto una muestra en la que hay que analizar la presencia de dicha cepa de SARM de MREJ de tipo i, ii, iii y v, incluyendo dicha cepa de SARM un elemento de casete cromosómico estafilocócico de *mec* (SCC*mec*) que contiene un gen *mecA* insertado en el ADN cromosómico, con lo que se genera una secuencia de la unión del extremo derecho polimórfico (MREJ, por su nombre en inglés) de tipo i, ii, iii o v que comprende secuencias de tanto del extremo derecho del elemento SCC*mec* como del ADN cromosómico adjunto a dicho extremo derecho del elemento SCC*mec*, con un primer cebador y un segundo cebador para cada MREJ de tipo i, ii, iii y v,

en donde dicho primer cebador se hibrida con dicho extremo derecho del elemento SCC*mec* de una secuencia de MREJ de tipo i, ii, iii u v seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID n.º 1, 20 a 25, 41 y 199, y complementos de las mismas, para el 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 MREJ de tipo ii, SEQ ID n.º 4 a 16, 104, 184 y 198 y complementos de las mismas, para MREJ de tipo iii, y SEQ ID n.º 47 a 50 y complemento de las mismas, para MREJ de tipo v; y

en donde 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 v está presente en dicha muestra; y

b) detectar la presencia de dicho amplicón o amplicones.

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

- a) un primer conjunto de oligonucleótidos que se hibridan con las secuencias del extremo derecho del elemento SCCmec de MREJ de tipo i, ii, iii y v seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID n.º 1, 20 a 25, 41 y 199 y complementos de las mismas, para el MREJ de tipo i, las SEQ ID n.º 2, 17 a 19, 26, 40, 173 a 183, 185, 186 y 197 y complementos de las mismas, para el MREJ de tipo ii, las SEQ ID n.º 4 a 16, 104, 184 y 198 y complementos de las mismas, para el MREJ de tipo iii, y la SEQ ID n.º 47 a 50 y el complemento de las mismas para el MREJ de tipo v; y
- b) un segundo oligonucleótido que se hibrida con una secuencia cromosómica de *S. aureus*;
- 10 en donde dichos oligonucleótidos de a) y b) permiten generar selectivamente uno o varios amplicones que comprenden secuencias del extremo derecho del elemento SCCmec y del ADN cromosómico adjunto a dicho extremo derecho de dichas cepas de SARM de MREJ de tipo i, ii, iii y v.

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 ácido nucleico de todas las cepas de SARM.

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.

Por lo tanto, se da a conocer un método para detectar la presencia de una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) en una muestra, en donde la cepa de SARM es resistente debido a la presencia de un inserto SCCmec que contiene un gen *mecA*, en donde dicho SCCmec está insertado en ácidos nucleicos bacterianos con lo que genera una unión del extremo derecho polimórfico (MREJ, por su nombre en inglés), en donde el método comprende la etapa de alinear los ácidos nucleicos de la muestra con muchas sondas y/o cebadores, caracterizados por que:

- (i) los cebadores y/o sondas son específicos de las cepas de SARM y capaces de alinearse con los ácidos nucleicos de MREJ polimórficos, en donde el MREJ polimórfico comprende los MREJ de los tipos i a x; y
- (ii) los cebadores y/o sondas juntos pueden alinearse con al menos cuatro tipos de MREJ seleccionados de los MREJ de tipos i a x.

En una realización específica, los cebadores y/o sondas se escogen para que se alineen en las condiciones de alineamiento corrientes e incluso más específicamente, se colocan juntos en el mismo recinto físico.

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 MREJ de tipos i a iii, definidos en una 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 de las MREJ de tipos iv a ix, que tienen 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 pueden hibridarse juntos con dichas SEQ ID n.º de los MREJ de 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

66, 100, 101, 52, 53, 54, 55,  
 40 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  
 32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164  
 45 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,  
 50 103, 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

para la detección de MREJ de tipo iii

67, 98, 102, 107, 108

5 64, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 70,  
103, 130, 132, 158, 159

58,

59, 62

126, 127

10 128, 129, 131, 200, 201

60, 61, 63

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

85, 86, 87, 88, 89

para la detección de MREJ de tipo iv

15 79, 77, 145, 147, 146

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

103, 130, 132, 158, 159

59, 62

126, 127

20 128, 129, 131, 200, 201

60, 61, 63

68

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

85, 86, 87, 88, 89

25 para la detección de MREJ de tipo v

65, 80, 154, 155

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

70, 103, 130, 132, 158, 159

59, 62

30 126, 127

128, 129, 131, 200, 201

60, 61, 63

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

85, 86, 87, 88, 89

35 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

40 126, 127

128, 129, 131, 200, 201

60, 61, 63

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

85, 86, 87, 88, 89

45 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

50 59, 62

126, 127

128, 129, 131, 200, 201

60, 61, 63

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

55 85, 86, 87, 88, 89

para la detección de MREJ de tipo v

115, 116, 187, 188, 207, 208  
64, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 70,  
103, 130, 132, 158, 159

- 5 59, 62  
126, 127  
128, 129, 131, 200, 201  
60, 61, 63  
32, 83, 84, 160, 161, 162, 163, 164  
10 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

- 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

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

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,  
40 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

64/204 para la detección de MREJ de tipo vi

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

- 45 64/115, 64/116 para la detección de MREJ de tipo v

64/109 para la detección de MREJ de tipo ix

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 los tipos i a ix.

En el método más preferido realizado, se pueden utilizar juntos los 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
- 5 iii) SEQ ID n.º 64, 67, 84, 163, 164 para la detección de MREJ de tipo iii
- 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 el tipado de un MREJ de una cepa de SARM, que comprende las etapas de: reproducir el método anterior con cebadores y/o sondas específicos de un tipo de MREJ determinado, y detectar una sonda o cebador alineado como una indicación de la presencia de un tipo de MREJ 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;
- 15 ii) SEQ ID n.º 47, 48, 49, 50 para la secuencia de MREJ de tipo v;
- 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 vi;
- v) SEQ ID n.º 47 a 50 para la secuencia de MREJ de tipo v;
- vi) SEQ ID n.º 168 para la secuencia de MREJ de tipo ix.

- 20 Son también objetos 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 ellas, las parejas de cebadores (o sondas) que tienen las siguientes SEQ ID n.º:

para la detección del MREJ de tipo i

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

- 25 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, 63/53

- 30 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

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

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

- 35 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

- 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
- 5 64/80 para la detección de MREJ de tipo iv  
 64/204 para la detección de MREJ de tipo v  
 64/112, 64/113 para la detección de MREJ de tipo vi  
 64/115, 64/116 para la detección de MREJ de tipo vii  
 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, 162, 163, 164. También son objeto de esta invención las composiciones de interés que comprenden los cebadores y/o sondas que se renaturalizan o se hibridan con una o varios MREJ de los tipos seleccionados entre 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 varios MREJ de los tipos seleccionados entre i a iii. Las composiciones preferidas comprenderían los cebadores que tienen las secuencias 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,
- 20 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
- 25 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,
- 30 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,
- 35 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  
 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 v

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

- 5 Aquí 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;

- 10 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  
15 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.

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

La composición de 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.

- 25 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 reactivos de 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  
30 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  
35 (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  
40 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  
45 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.

- 50 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 tiene 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 isotópico, 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 oligonucleotídicos 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 Oligo™ 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 posición(es) 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 peptidónucleicos (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 más 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), MgCl<sub>2</sub> 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*™ (BD Biosciences, Palo Alto, CA). El anticuerpo *TaqStart*™, 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 que 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 (bdNA), la tecnología de ciclación de sondas (CPT), la amplificación en fase sólida (SPA), la 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 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.

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 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 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%, MgCl<sub>2</sub> 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 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*<sup>TM</sup> (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 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) (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 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 en 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%, MgCl<sub>2</sub> 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*<sup>TM</sup> (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 QIAquick<sup>TM</sup> (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 MgCl<sub>2</sub> 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.

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 *SSCmec* que contiene *mecA* para diez 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 *SSCmec* 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 *SSCmec* de tipo I se podía asociar al MREP de tipo i, los *SSCmec* de tipos II y IV se asocian al MREP de tipo ii, y el *SSCmec* de tipo III se asocia al MREP de tipo iii. 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, v 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.

Las secuencias que están en el extremo derecho de *SSCmec* 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 *SSCmec* adyacente al sitio de integración. Por lo tanto, como las secuencias del extremo derecho de *SSCmec* de estas 6 cepas de SARM eran diferentes de las de *SSCmec* de tipo I de la cepa NCTC 10442, *SSCmec* de tipo II de la cepa N315, *SSCmec* de tipo III de la cepa 85/2082 y *SSCmec* 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 v (SEQ ID n.º 47 a 50). 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 v y, por lo tanto, se

25 denominó 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 v 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 v 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 v 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 v 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 otros 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, v 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 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%, MgCl<sub>2</sub> 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, v, 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, v, ix y x descritos en la presente invención permanecieron indetectables (ejemplo 7). También se diseñaron cebadores específicos para los MREP de tipos vi, v 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 SCC*mec*-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 los ensayos de PCR en tiempo real en el Smart Cycler® para detectar e identificar SARM basándose en los MREP de tipos vi, v 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 descritos en la presente memoria.

La tabla 8 da a conocer información sobre los cebadores para secuenciar la unión en el extremo derecho de *SCCmec*-cromosoma.

La tabla 9 da a conocer información sobre los cebadores 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 realizado en un termociclador estándar.

- 10 La tabla 18 describe la sensibilidad analítica del ensayo de PCR desarrollado en la presente invención que usa la plataforma Smart Cycler<sup>®</sup> 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 fluorescente que está dirigida selectivamente a 5 tipos de secuencias de MREP y realizado en la plataforma Smart Cycler<sup>®</sup>.

- 15 La tabla 20 describe la sensibilidad analítica del ensayo de PCR desarrollado en la presente invención que usa la plataforma Smart Cycler<sup>®</sup> 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 fluorescente que está dirigida selectivamente a 6 tipos de secuencias de MPREP y realizado en la plataforma Smart Cycler<sup>®</sup>.

## 20 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 *SCCmec*-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 unión del extremo derecho de *SCCmec-orfX* para detectar e identificar SARM.

- 25 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 *SCCmec-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.

- 35 Figura 2. Organización esquemática de los MREP de tipos i, ii, iii, iv, v, vi, vii, v y ix, y localización de los cebadores y la sonda fluorescente que están dirigidos selectivamente a todos los tipos de MREP (SEQ ID n.º 20, 64, 66, 67, 79, 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 *SCCmec*-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, v, 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, v 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 *SCCmec* y de *orfX* específicas de los *SCCmec* de los tipos I y II.

- 45 El anexo II ilustra la estrategia para seleccionar las sondas fluorescentes específicas para detectar en tiempo real las uniones en el extremo derecho de *SCCmec-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 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:

**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 *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 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%, MgCl<sub>2</sub> 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 0,5 U de la polimerasa *Taq* (Promega) unida al anticuerpo *TaqStart*<sup>TM</sup> (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%) 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 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. 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 encuentran secuencias de *SCCmec* de otros tipos y 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 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 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 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 SCC*mec*-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

5 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).

### EJEMPLO 3:

10 **Desarrollo de un ensayo de PCR múltiple 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 múltiples 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

15 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 múltiple (tabla 17). De las 20 cepas de SARM que no se detectaron con la PCR múltiple descritas en los ejemplos

20 1 y 2, ahora se detectaron 12 con este ensayo múltiple. 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, v, ix y x descritas en la presente invención permanecieron indetectables.

### 25 EJEMPLO 4:

**Desarrollo de un ensayo de PCR múltiple 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 múltiple 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

30 II). Cada reacción de PCR contenía KCl a 50 mM, Tris-HCl a 10 mM (pH 9,0), Triton X-100 al 0,1%, MgCl<sub>2</sub> a 3,5 mM, 0,4 µM de cada uno de los cebadores específicos de SCC*mec* 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*<sup>TM</sup>. 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

35 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 múltiple (tabla 19). De nuevo, como se observó con los cebadores de Hiramatsu, también se

40 detectaron inespecíficamente 13 cepas de SARM. De las 20 cepas de SARM que no se detectaron con la PCR múltiple descritas en los ejemplos 1 y 2, 12 sí se detectaron con este ensayo múltiple. 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, v, ix y x descritas en la presente invención permanecieron indetectables.

### EJEMPLO 5:

45 **Desarrollo de un ensayo de PCR múltiple 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 múltiple 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

50 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%, MgCl<sub>2</sub> a 3,45 mM, 0,8 µM de cada uno de los cebadores

55 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*<sup>TM</sup> (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

60 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 SARM. 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%, MgCl<sub>2</sub> 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*<sup>TM</sup> (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 SARM 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, v, 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, v, ix.** Tras el análisis de los datos de secuencia de los nuevos MREP de tipos vi, v 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 v (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 v 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%, MgCl<sub>2</sub> 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*<sup>TM</sup>. 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 v 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 <sup>a,b</sup>	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 <sup>c</sup>	24
59	<i>orfX</i>	1664	25
60	<i>orfSA0022</i> <sup>d</sup>	3267	28
61	<i>orfSA0022</i> <sup>d</sup>	3585	27
62	<i>orfX</i>	1389	26
63	<i>orfSA0022</i> <sup>d</sup>	2957	29

<sup>a</sup> Posición hace referencia a la posición del nucleótido del extremo 5' del cebador.

<sup>b</sup> 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.

<sup>c</sup> El cebador es el complemento inverso de la secuencia diana.

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

20 **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 <sup>a</sup>	
ATCC BAA-40 <sup>b</sup>	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 <sup>c</sup>	CCRI-9589	Ontario, Canadá
SE47-1	CCRI-9773	Ontario, Canadá
SE49-1	CCRI-9774	Ontario, Canadá
39795-2	CCRI-1377	Quebec, Canadá

<sup>a</sup> CCRI significa «Collection of the Centre de Recherche en Infectiologie».

<sup>b</sup> Clon portugués.

<sup>c</sup> Clon canadiense EMRSA1.

5 **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 <sup>a</sup>	
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 v
168	14A016	CCRI-9681	MREP de tipo ix
171	4508	CCRI-9208	MREP de tipo vi
172	SE26-1	CCRI-9770	<i>orfSA0021</i> <sup>b</sup> y 75 pb de <i>orfSA0022</i> <sup>b</sup>
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

<sup>a</sup> CCRI significa «Collection of the Centre de Recherche en Infectiologie».

<sup>b</sup> *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).

**5 Tabla 5. Cebadores para PCR desarrollados**

SEQ ID n.º	Diana	ADN de origen	SEQ ID n.º
		Posición <sup>a</sup>	
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 <sup>b</sup>	4
98	MREP de tipo iii	147 <sup>b</sup>	4
102	MREP de tipo iii	251 <sup>b</sup>	4
79	MREP de tipo iv	74 <sup>b</sup>	43
80	MREP de tipo v	50 <sup>b</sup>	47
109	MREP de tipo ix	652 <sup>b</sup>	168
204	MREP de tipo vi	642 <sup>b</sup>	171
112	MREP de tipo vii	503 <sup>b</sup>	165
113	MREP de tipo vii	551 <sup>b</sup>	165
115	MREP de tipo v y ix	514 <sup>b</sup>	167
116	MREP de tipo v	601 <sup>b</sup>	167

<sup>a</sup> Posición usa de referencia la posición del nucleótido del extremo 5' del cebador.

<sup>b</sup> 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 <sup>a</sup>
83	<i>orfX</i>	86 <sup>a</sup>
84	<i>orfX</i>	34 <sup>a,b</sup>
160	<i>orfX</i>	55 <sup>a,b</sup>
161	<i>orfX</i>	34 <sup>a,b</sup>
162	<i>orfX</i>	114 <sup>a</sup>
163	<i>orfX</i>	34 <sup>a,b</sup>
164	<i>orfX</i>	34 <sup>a,b</sup>

5

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

<sup>b</sup> 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 <sup>a</sup>	Longitud del amplicón <sup>a</sup>
59/52 <sup>b</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	2079 (tipo i); 2181 (tipo ii)
59/53 <sup>b</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	1801 (tipo i); 1903 (tipo ii)
59/54 <sup>b</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	1632 (tipo i); 1734 (tipo ii)
59/55 <sup>b</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	1405 (tipo i); 1507 (tipo ii)
59/56 <sup>b</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	804 (tipo i); 906 (tipo ii)

59/57 <sup>d</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	257 (tipo i); 359 (tipo ii)
60/52 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2794 (tipo i); 2896 (tipo ii)
60/53 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2516 (tipo i); 2618 (tipo ii)
60/54 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2347 (tipo i); 2449 (tipo ii)
60/55 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2120 (tipo i); 2222 (tipo ii)
60/56 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	1519 (tipo i); 1621 (tipo ii)
60/57 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	972 (tipo i); 1074 (tipo ii)
61/52 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2476 (tipo i); 2578 (tipo ii)
61/53 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2198 (tipo i); 2300 (tipo ii)
61/54 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2029 (tipo i); 2131 (tipo ii)
61/55 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	1802 (tipo i); 1904 (tipo ii)
61/56 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	1201 (tipo i); 1302 (tipo ii)
61/57 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	654 (tipo i); 756 (tipo ii)
62/52 <sup>d</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	2354 (tipo i); 2456 (tipo ii)
62/53 <sup>d</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	2076 (tipo i); 2178 (tipo ii)
62/54 <sup>d</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	1907 (tipo i); 2009 (tipo ii)
62/55 <sup>d</sup>	<i>orfX</i> /MREP del tipos i y ii	1680 (tipo i); 1782 (tipo ii)
62/56 <sup>d</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	1079 (tipo i); 1181 (tipo ii)
62/57 <sup>d</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	532 (tipo i); 634 (tipo ii)
63/52 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	3104 (tipo i); 3206 (tipo ii)
63/53 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2826 (de tipo i); 2928 (tipo ii)
63/54 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2657 (tipo i); 2759 (tipo ii)
63/55 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	2430 (tipo i); 2532 (tipo ii)
63/56 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	1829 (tipo i); 1931 (tipo ii)
63/57 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipos i y ii	1282 (tipo i); 1384 (tipo ii)
59/58 <sup>d</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo iii	361
60/58 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipo iii	1076
61/58 <sup>d</sup>	<i>orfSA0022</i> /MREP de tipo iii	758
62/58 <sup>d</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo iii	656
63/58 <sup>d</sup>	<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 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	176 (tipo i), 278 (tipo ii)
64/67 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo iii	223
64/79 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo iv	215
64/80 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo v	196
64/97 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo ii	171
64/98 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo iii	163
64/99 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo ii	171
64/100 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	180 (tipo i); 282 (tipo ii)
64/101 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipos i y ii	189 (tipo i); 291 (tipo ii)
64/102 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo iii	263
64/109 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo ix	369

64/204 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo vi	348
64/112 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo vii	214
64/113 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo vii	263
64/115 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo v	227
64/116 <sup>c</sup>	<i>orfX</i> /MREP de tipo v	318

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

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

5 <sup>c</sup> Conjunto de cebadores desarrollados en la presente memoria.

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

**Tabla 8. Otros cebadores desarrollados**

SEQ ID n.º	Diana	ADN de origen	
		Posición <sup>a</sup>	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 <sup>b</sup>	165
117	MREP de tipo ii	856	194
118	MREP de tipo ii	974 <sup>b</sup>	194
119	MREP de tipo vii	404	189
120	MREP de tipo vii	477 <sup>b</sup>	189
123	MREP de tipo vii	551	165
124	MREP de tipo ii	584	170
125	MREP de tipo ii	689 <sup>b</sup>	170
126	<i>orfSA0021</i>	336	231
127	<i>orfSA0021</i>	563	231
128	<i>orfSA0022</i> <sup>d</sup>	2993	231
129	<i>orfSA0022</i> <sup>d</sup>	3467 <sup>b</sup>	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 <sup>b</sup>	51
148	MREP de tipo ix	664	168
149	MREP de tipo ix	849 <sup>b</sup>	168
150	MREP de tipo vii	1117 <sup>b</sup>	165
151	MREP de tipo vii	1473	189

152	IS431mec	1592 <sup>b</sup>	189
154	MREP de tipo v	996 <sup>b</sup>	50
155	MREP de tipo v	935	50
156	<i>tetK</i> del plásmido pT181	1169 <sup>b</sup>	228
157	<i>tetK</i> del plásmido pT181	136	228
158	<i>orfX</i>	2714 <sup>b</sup>	2
159	<i>orfX</i>	2539	2
187	MREP de tipo v	967 <sup>b</sup>	167
188	MREP de tipo v	851	167

<sup>a</sup> Posición usa de referencia la posición del nucleótido del extremo 5' del cebador.

<sup>b</sup> El cebador es el complemento inverso de la secuencia diana.

**Tabla 9. Cebadores desarrollados para amplificación y/o secuenciación**

SEQ ID n.º	Diana	ADN de origen	
		Posición <sup>a</sup>	SEQ ID n.º
85	Cromosoma de <i>S. aureus</i>	197 <sup>b</sup>	35
86	Cromosoma de <i>S. aureus</i>	198 <sup>b</sup>	37
87	Cromosoma de <i>S. aureus</i>	197 <sup>b</sup>	38
88	Cromosoma de <i>S. aureus</i>	1265 <sup>b</sup>	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 <sup>b</sup>	4
108	MREP de tipo iii	153 <sup>b</sup>	4
121	MREP de tipo vii	1150	165
122	MREP de tipo vii	1241 <sup>b</sup>	165
130	<i>orfX</i>	4029 <sup>b</sup>	231
131	Región entre <i>orfSA0022</i> y <i>orfSA0023</i> <sup>d</sup>	3588	231
133	<i>merB</i> del plásmido pl258	262	226
134	<i>merB</i> del plásmido pl258	539 <sup>b</sup>	226
135	<i>merR</i> del plásmido pl258	564	226
136	<i>merR</i> del plásmido pl258	444	227
137	<i>merR</i> del plásmido pl258	529	227
138	<i>merR</i> del plásmido pl258	530 <sup>b</sup>	227
139	<i>rep</i> del plásmido pUB110	796	230
140	<i>rep</i> del plásmido pUB110	761 <sup>b</sup>	230
141	<i>rep</i> del plásmido pUB110	600	230
142	<i>aaaD</i> del plásmido pUB110	1320 <sup>b</sup>	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> <sup>d</sup>	871 <sup>c</sup>	231
201	<i>orfSA0022</i> <sup>d</sup>	1006	231
202	MREP de tipo vi	648	171
203	MREP de tipo vi	883 <sup>b</sup>	171
205	MREP de tipo ix	1180	168
206	MREP de tipo ix	1311 <sup>b</sup>	233
207	MREP de tipo v	1337	167
208	MREP de tipo v	1441 <sup>b</sup>	167
209	<i>ccrA</i>	184	232
210	<i>ccrA</i>	385	232
211	<i>ccrA</i>	643 <sup>b</sup>	232
212	<i>ccrA</i>	1282 <sup>b</sup>	232
213	<i>ccrB</i>	1388	232
214	<i>ccrB</i>	1601	232
215	<i>ccrB</i>	2139 <sup>b</sup>	232
216	<i>ccrB</i>	2199 <sup>b</sup>	232
217	<i>ccrB</i>	2847 <sup>b</sup>	232
218	<i>ccrB</i>	2946 <sup>b</sup>	232

<sup>a</sup> Posición usa de referencia la posición del nucleótido del extremo 5' de cebador.

<sup>b</sup> El cebador es el complemento inverso de la secuencia diana.

<sup>c</sup> El cebador contiene dos discordancias.

5 <sup>d</sup> *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 <sup>a,b</sup>
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>



ES 2 536 887 T3

16	85/3566	Base de datos	AB013483	MREJ de tipo III de SCCmec
17	85/2232	Base de datos	AB014402	MREJ de tipo II de SCCmec
18	85/2235	Base de datos	AB014403	MREJ de tipo II de SCCmec
19	MR108	Base de datos	AB014404	MREJ de tipo II de SCCmec
20	85/9302	Base de datos	AB014430	MREJ de tipo I de SCCmec
21	85/9580	Base de datos	AB014431	MREJ de tipo I de SCCmec
22	85/1940	Base de datos	AB014432	MREJ de tipo I de SCCmec
23	85/6219	Base de datos	AB014433	MREJ de tipo I de SCCmec
24	64/4176	Base de datos	AB014434	MREJ de tipo I de SCCmec
25	64/3846	Base de datos	AB014435	MREJ de tipo I de SCCmec
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 <sup>c</sup>		Cromosoma de <i>S. aureus</i>
40	252	Proyecto Genoma <sup>c</sup>		MREJ de tipo II de SCCmec
41	COL	Proyecto Genoma <sup>d</sup>		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>

<sup>a</sup> 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.

<sup>b</sup> A menos que se especifique de otra manera, todas las secuencias se obtuvieron de cepas de *S. aureus*.

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

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

5 **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 <sup>a</sup> (tipo de MREP)	
13370		CCRI-8894 (I)	5
ATCC 43300		CCRI-175 (II)	2
35290		CCRI-1262 (III)	2

<sup>a</sup> CCRI hace referencia a «Collection of the Centre de Recherche en Infectiologie».

10 **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)

\*Detalles referentes a las cepas de SCN:

SCNRM:	<i>S. caprae</i> (2)
15	<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)
20	<i>S. sciuri</i> (4)
	<i>S. sciuri sciuri</i> (1)
	<i>S. simulans</i> (3)
	<i>S. warneri</i> (3)
SCNSM:	<i>S. cohnii cohnii</i> (1)
25	<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)

- 5 *S. hominis* (1)
- S. lentus* (1)
- S. lugdunensis* (1)
- S. sachharolyticus* (1)
- S. saprophyticus* (5)
- S. simulans* (1)
- S. warneri* (1)
- S. xylosus* (1)

10 **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<sup>a,b</sup>**

Tipo de MREP	i	ii	iii	iv	v	vi	vii	v	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
v									55,2
ix									–

<sup>a</sup> «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.

- 15 <sup>b</sup> 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 <sup>a</sup>
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

ES 2 536 887 T3

	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
	29060	ATCC
	35983	ATCC
SCNRM (n = 4)	35984	ATCC
	2514	LSPQ
	MA 52263	LSPQ
	6538	ATCC
SASM (n = 28)	13301	ATCC
	25923	ATCC
	27660	ATCC
	29213	ATCC

## ES 2 536 887 T3

	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
	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
SCNSM (n = 17)	29974	ATCC
	35539	ATCC
	35552	ATCC
	35844	ATCC
	35982	ATCC
	43809	ATCC
	43867	ATCC
	43958	ATCC
	49168	ATCC

<sup>a</sup> 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).

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

5

**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 <sup>a</sup> (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

<sup>a</sup> CCRI hace referencia a «Collection of the Centre de Recherche en Infectiologie».

10

**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 SCCmec-orfX	
	Positivo (%)	Negativo (%)
SARM – 35 cepas <sup>a</sup>	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)

5 <sup>a</sup> Las cepas de SARM incluyen las 20 cepas recogidas en la tabla 3.

\*Detalles referentes a las cepas de SCN:

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

25 **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.**

Original	Denominación de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> :	Límite de detección (número de copias del genoma)
13370	CCRI <sup>a</sup> (tipo de MREP) 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

<sup>a</sup> 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 <sup>a</sup>	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)

<sup>a</sup> Las cepas de SARM incluyen las 20 cepas recogidas en la tabla 3.

Detalles referentes a las cepas de SCN:

SCNRM:	<i>S. epidermidis</i> (1)
10	<i>S. haemolyticus</i> (5)
	<i>S. simulans</i> (5)
	<i>S. warneri</i> (3)
SCNSM:	<i>S. coхни cohnii</i> (1)
	<i>S. epidermidis</i> (1)
15	<i>S. gallinarum</i> (1)
	<i>S. haemolyticus</i> (1)
	<i>S. lentus</i> (1)
	<i>S. lugdunensis</i> (1)
	<i>S. saccharolyticus</i> (1)
20	<i>S. saprophyticus</i> (2)
	<i>S. xylosus</i> (1)



**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 <sup>a</sup> (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
5 SE-41-1	CCRI-9771 (vii)	2

<sup>a</sup> 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 <sup>a</sup>	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)

<sup>a</sup> Las cepas de SARM incluyen las 20 cepas recogidas en la tabla 3.

Detalles referentes a las cepas de SCN:

SCNRM:	<i>S. capitis</i> (2)
15	<i>S. caprae</i> (1)
	<i>S. cohnii</i> (1)
	<i>S. epidermidis</i> (9)
	<i>S. haemolyticus</i> (5)
	<i>S. hominis</i> (2)
20	<i>S. saprophyticus</i> (1)
	<i>S. sciuri</i> (2)
	<i>S. simulans</i> (1)
	<i>S. warneri</i> (2)
SCNSM:	<i>S. cohni cohnii</i> (1)
25	<i>S. epidermidis</i> (1)
	<i>S. haemolyticus</i> (1)
	<i>S. lugdunensis</i> (1)
	<i>S. saccharolyticus</i> (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 ii.**

5

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 <sup>a</sup>	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
18 <sup>a</sup>	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
19 <sup>a</sup>	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
20 <sup>a</sup>	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
21 <sup>a</sup>	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
22 <sup>a</sup>	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
23 <sup>a</sup>	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
24 <sup>a</sup>	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
25 <sup>a</sup>	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
26	TAT GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATGA TA...	CCT TGTGCAGGCC GTTTGATCCG CC		
33 <sup>c</sup>		CtT gGTGtAaaCC aTTgGAgCCa	CC	
34 <sup>c</sup>		CCT caTGCAtCC aTTTGATC		

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

10 (SEQ ID n.º 66)

**GTCAAAAATC ATGAACCTCA TTACTTATG**

Secuencia seleccionada para el cebador de *orfX*<sup>b</sup>

(SEQ ID n.º 64)

**TGTGCAGGCC GTTTGATCC**

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

15 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.

<sup>a</sup> Estas secuencias son los complementos inversos de las SEQ ID n.º 17-25.

<sup>b</sup> Esta secuencia es el complemento inverso del cebador seleccionado.

<sup>c</sup> Las SEQ ID n.º 33 y 34 se obtuvieron de especies de SCN.

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

SEQ ID NO. :	<u><i>orfX</i></u>			
	327			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 <sup>a,b</sup>	ACcAa GACGT CTTACAACGC AGcAACTAtG	CtttA		
34 <sup>a,b</sup>	AtgAG GACGT CTTACAACGC AGcAACTAcG	CACTt		

Secuencia seleccionada para  
las sondas fluorescibles de *orfX*

(SEQ ID n.º 163)<sup>c</sup> **GACGT CTTACAACGC AGTAACTAtG**

(SEQ ID n.º 164)<sup>c</sup> **GACGT CTTACAACGt AGTAACTACG**

5 (SEQ ID n.º 84)<sup>c</sup> **GACGT CTTACAACGC AGTAACTACG**

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 fluorescibles no se muestra en aras de la claridad. Las posiciones de secuencia usan la referencia de la SEQ ID n.º 165.

<sup>a</sup> Estas secuencias son los complementos inversos de las SEQ ID n.º 33 y 34.

10 <sup>b</sup> Las SEQ ID n.º 33 y 34 se obtuvieron de especies de SCN.

<sup>c</sup> Las secuencias presentadas son el complemento inverso de las sondas fluorescibles 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 cattaaaca tttggtaaac 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 tattttttta ctttgcaaca gaaccgaaaa taatctcttc      480
aatttatttt tatatgaatc ctgtgactca atgattgtaa tatctaaaga tttcagttca      540
tcatagacaa tgttcttttc aacatttttt atagcaaatt gattaaataa attctctaat      600
ttctccggtt tgatttact accatagatt atattatcat tgatatagtc aatgaataat      660
gacaaattat cactcataac agtccaacc ctttatttt gatagactaa ttatcttcat      720
cattgtaaaa caaattacac cttttaaatt taactcaact taaatatcga caaattaaaa      780
aacaataaaa ttacttgaat attattcata atatattaac aactttatta tactgctctt      840
tatatataaa atcattaata attaaacaag ctttaaata tttaactttt ttgtgattat      900
tacacattat cttatctgct ctttatcacc ataaaaatag aaaaaacaag attcctaaag      960

```

# ES 2 536 887 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 gttcctttacc ggaaacatta aatattctta atattaaata tttctgctta	1260
tattcctttca tagcaaacat ttcatttagc gacataaaaa atggttcctc aatactagaa	1320
gatgtagatg ttttaatttc aataaatttt tctacagctt tatctgtatt tgttgatca	1380
aaagctacta aatcatagcc atgaccgtgt tgagagcctg gattatcatt taaaatattc	1440
ctaaactggt ctttcttatac ttcgtctatt ttattatcaa ttagctcatt aaagtaattt	1500
agcgctaatt tttctccaac tttaccgggt aatttattct ctttatttga tttttcaatt	1560
tctgaatcat ttttagtagt ctttgataca ccttttttat attttggat tattccttta	1620
ggtgcttcca cttccttgag tgtcttatct ttttgtgctg ttctaatttc tcoaatttcg	1680
ctgtcttctt gtatttcgtc tatgctattg 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
ctttgtttg cagcattttt atcccggga aacatatcac ttatctttga ccaccttga	2040
ttcaaagata agtatatgcc ttctccttcc ggatgaaaaa gatataccaa ataatatcca	2100
tcctttgttt cttttgttat attctcatca tatattgaaa tccaaggaaac tttactatag	2160
ttcccagtag caaccttccc tacaactgaa tatttatctt cttttatatg cacttttaac	2220
tgcttgggta acttatcatg gactaaagtt ttatatagat cacctttatc ccaatcagat	2280
tttttaacta cattattggt acgtttctct ttaattaatt taaggacctg cataaagttg	2340
tctatcattt gaaattcctt cctattataa aatatattat gtctcatttt cttcaatatg	2400
tacttattta tattttaccg taatttacta tatttagttg cagaaagaat tttctcaaag	2460
ctagaacttt gcttcactat aagtattcag tataaagaat atttcgctat tatttacttg	2520
aatgaaaga ctgctggaggc taactatgtc aaaaatcatg aacctcatta cttatgataa	2580
gcttctcctc gcataatctt aatgctctg tacacttggt caattaacac aaccgcctc	2640
atttgatgtg ggaatgtcat tttgctgaat gatagtgcgt agttactgctg ttgtaagacg	2700
tccttggtgca ggccgtttga tccgccaatg acgaaaacaa agtcgctttg cccttgggtc	2760
atgcgttggg tcaattcttg ggccaatcct tcggaagata gcacttttcc ttgtatttct	2820
aatgtaatga ctgtggattg tggtttgatt ttggctagta ttcgltggcc ttctttttct	2880
tttacttgct caatttcttt gtcactcata ttttctggtg ctttttctgctc tggaaacttct	2940
atgatgtcta tcttggtgta tgggcctaaa cgtttttcat attctgctat ggcttgcttc	3000
caatatttct cttttagttt ccctacagct aaaatggtga ttttcatgct	3050

# ES 2 536 887 T3

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

5

<400> 2

```

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

## ES 2 536 887 T3

atctgtat	ttt	ggtat	caaa	aagctact	aa	atcatag	cca	tgaccgt	ggt	gagagc	ctg	1200
attatc	at	aaaat	attcc	taaact	gttc	tttctt	atct	tcgtct	at	tattat	caat	1260
tagctc	atta	aagta	attta	gcgcta	attt	ttctcca	act	ttaccg	g	ttat	tctc	1320
tttatt	tgat	ttttca	attt	ctgaat	catt	tttagt	agtc	tttgata	cac	cttttt	tata	1380
ttttg	gaatt	attcct	ttag	gtgctt	ccac	ttcctt	gagt	gtctt	at	tttg	tctgt	1440
tcta	at	tttct	tcg	tgtctt	ctcg	tatttc	gtct	atgct	att	ccaag	ctac	1500
atagg	at	tttg	taact	ttgaag	ctaa	ttcatt	aaat	agttct	aaaa	atttct	ttaa	1560
atcctc	tagc	atatct	tctt	ctgtga	atcc	ttcatt	caaa	tcata	at	tgaat	cttat	1620
tgatcc	at	gaata	tctcg	atggata	atc	at	ttttt	taaa	tcata	agat	aatctt	1680
ttctgc	gtaa	taaa	tctt	cagtatt	aaa	ttcatt	tgat	gtaata	at	tattg	agttc	1740
ggaag	ata	gtta	at	gtt	gtt	gc	agcatt	ttt	t	ccgcg	gaa	1800
tatctt	tgac	catcct	tgat	tcaa	agata	gtat	at	gcct	tctcct	ccg	gatg	1860
atata	ccaaa	taata	tccat	ccttt	gtt	ttt	gtt	tata	ttct	cat	atatt	1920
ccaag	gaact	ttact	atag	tccc	agtag	aacctt	ccct	acaact	gaat	attt	atctt	1980
ttttat	atgc	acttt	taact	gctt	ggg	taa	cttat	cat	gg	actaa	agttt	2040
acctt	atcc	caat	cagatt	ttt	taact	ac	attatt	ggta	cgttt	ctctt	taatta	2100
aagg	acct	gc	ataa	agtt	gt	ctat	catt	tg	aaatt	ccctc	ctatt	2160
tctc	at	ttt	caat	at	gt	actt	at	ttt	ac	cg	tttct	2220
agaa	aga	att	ttct	caa	agc	taga	act	ttt	g	ctt	ca	2280
tttc	gct	at	ttt	act	tg	aat	g	at	g	aa	at	2340
acct	catt	ac	ttat	gata	ag	ctt	ctt	aaaa	acata	acagc	aatt	2400
gttct	gata	c	attc	aaa	atc	ccttt	at	gaa	gcg	ctg	aaa	2460
tgctt	ct	cca	aat	ct	t	taa	at	gct	ct	ata	caact	2520
catt	g	at	gt	g	at	gt	g	at	g	at	g	2580
gtcct	gt	g	ag	cc	gtt	g	at	cc	caat	gac	gaata	2640
catg	cg	tt	g	g	cca	atcc	ttc	gga	agat	ag	catctt	2700
taat	g	at	g	at	g	at	g	at	g	at	g	2760
tttt	act	tg	c	at	ttt	ct	g	g	ttt	ct	g	2820
tatg	at	g	at	g	g	ct	ta	ac	g	ttt	t	2880
cca	at	at	ttt	ct	ag	c	ac	g	at	g	at	2940
tcca	aat	g	t	at	ca	act	ttt	cc	ag	tt	atcc	3000
tctt	at	tata	cca	at	ttt	ttt	tg	ca	g	ttt	t	3050

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

10 <400> 3

## ES 2 536 887 T3

ctgcagaggt aattattcca aacaatacca ttgatttcaa aggagaaaga gatgacgtta	60
gaacgcgtga aacaaattta ggaaacgcga ttgcagatgc tatggaagcg tatggcgtta	120
agaatttctc taaaaagact gactttgccg tgacaaatgg tggaggtatt cgtgcctcta	180
tcgcaaaagg taaggtgaca cgctatgatt taatctcagt attaccattt ggaaatacga	240
ttgcgcaaat tgatgtaaaa ggttcagacg tctggacggc tttcgaacat agtttagcg	300
caccaacaac acaaaaggac ggtaagacag tgttaacagc gaatggcggg ttactacata	360
tctctgattc aatccgtggt tactatgata taaataaacc gtctggcaaa cgaattaatg	420
ctattcaaat tttaaataaa gagacaggtg agtttgaaaa tattgattta aaacgtgtat	480
atcacgtaac gatgaatgac ttcacagcat caggtggcga cggatatagt atgttcggtg	540
gtcctagaga agaaggtatt tcattagatc aagtactagc aagttattta aaaacagcta	600
acttagctaa gtatgatagc acagaaccac aacgtatggt attaggtaaa ccagcagtaa	660
gtgaacaacc agctaaagga caacaaggta gcaaaggtag taagtctggt aaagatacac	720
aaccaattgg tgacgacaaa gtgatggatc cagcgaaaa accagctcca ggtaaagttg	780
ttttgttgct agcgcataga ggaactgtta gtagcggtag agaaggttct ggtcgcacaa	840
tagaaggagc tactgtatca agcaagagtg gaaacaatt ggctagaatg tcagtgccta	900
aaggtagcgc gcatgagaaa cagttaccaa aaactggaac taatcaaagt tcaagcccag	960
aagcgatggt tgtattatta gcaggtatag gtttaatcgc gactgtacga cgtagaaaag	1020
ctagctaaaa tatattgaaa ataatactac tgtatttctt aaataagagg tacggtagtg	1080
tttttttatg aaaaaagcg ataaccgttg ataaatattg gatataaaaa cgaggataag	1140
taataagaca tcaaggtggt tatccacaga aatggggata gttatccaga attgtgtaca	1200
atttaaagag aaatacccac aatgcccaca gagttatcca caaatacaca ggttatacac	1260



## ES 2 536 887 T3

taaaaaatcgg gcataaatgt caggaaaata tcaaaaactg caaaaaatat tggataata	1320
agagggaaca gtgtgaacaa gttaataact tgtggataac tggaaagtg ataacaattt	1380
ggaggacca aacgacatgaa aatcaccatt ttagctgtag ggaaactaaa agagaaatat	1440
tggaagcaag ccatagcaga atatgaaaaa cgtttaggcc catacaccia gatagacatc	1500
atagaagttc cagacgaaaa agcaccagaa aatatgagtg acaaagaat tgagcaagta	1560
aaagaaaaag aaggccaacg aatactagcc aaaatcaaac cacaatccac agtcattaca	1620
ttagaatac aaggaaagat gctatcttcc gaaggattgg cccaagaatt gaaccaacgc	1680
atgacccaag ggcaaagcga ctttgtttcc gtcattggcg gatcaaacgg cctgcacaag	1740
gacgtcttac aacgcagtaa ctacgcacta tcatcagca aatgacatt cccacatcaa	1800
atgatcggg ttgtgttaat tgaacaagtg tacagagcat ttaagattat gcgaggagag	1860
gcgtatcata agtaaaacta aaaaattctg tatgaggaga taataatttg gaggtgtta	1920
aatggtggac attaaatcca cgttcattca atatataaga tatatcacga taattgcgca	1980
tataacttaa gttagtagta acagttgaaa ttaggccta tcaaattggg ttatatctaa	2040
aatgattaat atagaatgct tctttttgtc cttattaaat tataaaagta actttgcaat	2100
agaaacagtt atttcataat caacagtcac tgacgtagct aagtaatgat aaataatcat	2160
aaataaaatt acagatattg acaaaaaata gtaaatttc caatgaagtt tcaaagaac	2220
aattccaaga aattgagaat gtaaataata aggtcaaaga attttattaa gatttgaaag	2280
agtatcaatc aagaaagatg tagtttttca ataaactatt tggaaaataa ttatcataat	2340
ttaaaaactg acaatttgcg agactcataa aatgtaataa tggaaataga tgtaaaatat	2400
aattaagggg tgtaatatga agattaatat ttataaatct atttataatt ttcaggaaac	2460
aaatacaaat tttttagaga atctagaatc tttaaattgat gacaattatg aactgcttaa	2520
tgataaagaa cttgttagtg attcaaatga attaaaatta attagtaaag ttatatacag	2580
taaaaagac aaaaaactat tagattggca attattaata aagaatgtat acctagatac	2640
tgaagaagat gacaatttat tttcagaatc cggatcatcat tttgatgcaa tattatttct	2700
caaagaagat actacattac aaaataatgt atatattata ccttttgac aagcatatca	2760
tgatataaat aatttgattg attatgactt cggaattgat tttgcagaaa gagcaatcaa	2820
aatgaagac atagttaata aaaatgttaa tttttttcaa caaacaggc ttaaagagat	2880
tgtaattat agaaggaata gtgtagatta cgttagacct tcagaatctt atatatcagt	2940
ccaaggacat ccacagaatc ctcaaatttt tggaaaaaca atgacttggt gtacaagtat	3000
ttcattgcgt gtaccgaata gaaagcagca attcatagat aaaattagtg tgataatcaa	3060
agaaataaac gctattatta atcttctca aaaaattagt gaatttctca gaatagtaac	3120
tttaaagac ttgaataaaa tagaagtatt agatacttta ttgctaaaaa aactatcgaa	3180
ttc	3183

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

# ES 2 536 887 T3

<400> 4

```
ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca      60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa     120
gtgtacagag catttaagat tatgcggtgga 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 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 tatgcggtgga 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
gaaatataac atgcctacga ttaataaaaag gaagtttatt 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 atcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa     120
gtgtacagag catttaagat tatgcggtgga 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 agatttgtgt tagaaacagt     480
```

<210> 7

<211> 480

25 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

# ES 2 536 887 T3

<400> 7

```

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca      60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa     120
gtgtacagag catttaagat tatgcggtgga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta     180
ggttgtgtat aatttaaaaa ttaaatgaga tgtggaggaa ttacatatat gaaatattgg     240
attatacctt gcaatatcat acgatgttta tagagtgttt aataaacctt ttttcaacta     300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa     360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaaatt 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 e s a, c, g, o t

15 <400> 8

```

ggcggatcaa acggcctgca caaggacgtc ttacaacgca gtaactacgc actatcattc      60
agcaaaatga cattcccaca tcaaatgatg cggggtgtgt taattgaaca agtgtacaga     120
gcatttaaga ttatgcggtg agaagcgtat cataaataaa actaaaaatt aggttgtgta     180
taatttaaaa atctaagtag 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 ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac gcaactatcat      60
tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa caagtgtaca     120
gagcatttaa gattatgctg ggagaagcgt atcataaata aaactaaaaa ttaggttgtg     180
tataatttaa aaatttaatg agatgtggag gaattacata tatgaaatat tggattatac     240
cttgcaatat cacatgatgt ttatagagtg ttaataaac ctttttcaa ctattgatga     300
tctagaatat ataataactg tacaattat attgattatg gaactacaat taaattaaga     360
aattgatgat gaaattttaa atttaacta atggaatcaa gaaagaatga aaggaaatat     420
acaatgccta cgattaataa aaggaagttt attagatttt gtgtagaaa c                   471

```

<210> 10  
 <211> 480  
 30 <212> DNA  
 <213> Staphylococcus aureus

# ES 2 536 887 T3

<400> 10

```
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 aataaacctt 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 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 aataaacctt 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 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 aataaacctt ttttcaacta     300
ttgatgatct agaatatata ataactgtac aaattatatt gattatggaa ctacaattaa     360
attaagaaat tgatgatgaa attttaaatt taaactaatg gaatcaagaa agaatgaaag     420
gaaatataca atgcctacga ttaataaaaag gaagtttatt agattttgtg ttagaaacag     480
```

25

<210> 13

<211> 478

<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

# ES 2 536 887 T3

<400> 13

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca 60  
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa 120  
5 gtgtacagag catttaagat tatgCGtgga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta 180  
ggttgtgtat aatttaaaaa ttaaatgaga 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 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 gggttgtggt aattgaacaa 120  
gtgtacagag catttaagat tatgCGtgga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta 180  
ggttgtgtat aatttaaaaa ttaaatgaga 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  
15 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 e s a, c, g, o t

<400> 15

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

## ES 2 536 887 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 tatgcggtga gaagcgtatc ataaataaaa ctaaaaatta      180
ggttgtgtat aatttaaaaa ttaaatgaga 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 tatgcggtga gaagcatatc ataaatgatg cggttttttc      180
agccgcttca taaaggatt 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 tatgcggtga gaagcatatc ataaatgatg cggttttttc      180
agccgcttca taaaggatt 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 2 536 887 T3

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

5

<400> 19  
 ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca 60  
 ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa 120  
 gtgtacagag catttaagat tatgcggtga 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  
 taaaataata 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 gggttgtggt aattgagcaa 120  
 gtgtatagag catttaagat tatgcggtga gaagcttatc ataagtaatg aggttcatga 180  
 tttttgacat agttagctc cgcagtcttt catttcaagt aaataatagc gaaatattct 240  
 ttatactgaa tactttatagt gaagcaaagt tctagctttg agaaaattct ttctgcaact 300  
 aaatatagta aattacggta aaatataaat aagtacatat tgaagaaaat gagacataat 360  
 atattttata ataggagggga 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 gggttgtggt aattgagcaa 120  
 gtgtatagag catttaagat tatgcggtga gaagcttatc ataagtaatg aggttcatga 180  
 tttttgacat agttagctc cgcagtcttt catttcaagt aaataatagc gaaatattct 240  
 ttatactgaa tactttatagt gaagcaaagt tctagctttg agaaaattct ttctgcaact 300  
 aaatatagta aattacggta aaatataaat aagtacatat tgaagaaaat gagacataat 360  
 atattttata ataggagggga atttc 385

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

## ES 2 536 887 T3

<400> 22

```

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca      60
ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgagcaa      120
gtgtatagag catttaagat tatgctgga gaagcttattc ataagtaatg aggttcatga      180
tttttgacat agttagcctc cgcagtcttt catttcaagt aaataatagc gaaatattct      240
ttatactgaa tacttatagt gaagcaaagt tctagctttg agaaaattct ttctgcaact      300
aaatatagta aattacggta aaatataaat aagtacatat tgaagaaaat gagacataat      360
atattttata ataggagggga 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 gggttgtggt aattgaacaa      120
gtgtacaaag catttaagat tatgctgagga gaagcttattc ataagtaatg aggttcatga      180
tttttgacat agttagcctc cgcagtcttt catttcaagt aaataatagc gaaatattct      240
ttatactgaa tacttatagt gaagcaaagt tctagctttg agaaaattct ttctgcaact      300
aaatatagta aattacggta aaatataaat aagtacatat tgaagaaaat gagacataat      360
atattttata ataggagggga atttc                                           385

```

15

<210> 24

<211> 340

<212> DNA

20 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 24

```

cgcagtaact acgcgctatc attcagcaaa atgacattcc cacatcaaat gatgcggggt      60
gtgttagttg agcaagtgta catagcattt aagattatgc gaggagaagc ttatcataag      120
taatgagggt catgattttt gacatagtta gcctccgcag tctttcattt caagtaaata      180
atagcgaaat attctttata ctgaatactt atagtgaagc aaagttctag ctttgagaaa      240
attctttctg caactaaata tagtaaatta cggtaaaata taaataagta catattgaag      300
aaaatgagac ataatatatt ttataatag agggaatttc                               340

```

25

<210> 25

<211> 369

<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

30

<400> 25



## ES 2 536 887 T3

```
caaacggcct gcacaaggac gtcttacaac gcagtaacta cgcactatca ttcagcaaaa      60
tgacattccc acatcaaatg atgcggggtg tgtaattga acaagtgtac agagcattta      120
agattatgcg aggagaagct tatcataagt aatgagggtc atgatttttg acatagttag      180
cctccgcagt ctttcatttc aagtaaataa tagcgaaata ttctttatac tgaataacta      240
tagtgaagca aagttctagc tttgagaaaa ttctttctgc aactaaatat agtaaattac      300
ggtaaaatat aaataagtac atattgaaga aatgagaca taatatattt tataatagga      360
gggaatttc                                                                    369
```

<210> 26

<211> 3050

5 <212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 26

## ES 2 536 887 T3

aatttggtaa acctcaaaag gtaattacag atcaggcacc ttcaacgaag gtagcaatgg	60
ctaaagtaat taaagctttt aaacttaaac ctgactgtca ttgtacatcg aaatatctga	120
ataacctcat tgagcaagat caccgtcata ttaaagtaag aaagacaagg tatcaaagta	180
tcaatacagc aaagaatact ttaaaaggta ttgaatgtat tcacgctcta tataaaaaga	240
accgcaggtc tcttcagatc tacggatttt cgccatgcca cgaaattagc atcatgctag	300
caagttaagc gaacaactgac atgataaatt agtggttagc tatatttttt taactttgcaa	360
cagaaccgaa aataatctct tcaatttatt tttatatgaa tcctgtgact caatgattgt	420
aatatctaaa gatttcagtt catcatagac aatgttcttt tcaacatfff ttatagcaaa	480
ttgattaaat aaattctcta atttctcccg tttgatttca ctacataga ttatattatc	540
attgatatag tcaatgaata atgacaaatt atcactcata acagtcccaa cccctttatt	600
ttgatagact aattatcttc atcattgtaa aacaaattac accctttaa ttttaactcaa	660
cttaaatatc gacaaattaa aaaacaataa aattacttga atattattca taatatatta	720
acaactttat tatactgctc tttatatata aatcattaa taattaaaca agccttaaaa	780
tatttaactt ttttgtgatt attacacatt atcttatctg ctctttatca ccataaaaat	840
agaaaaaca agattcctaa agaatatagg aatcttgttt cagactgtgg acaaactgat	900
tttttatcag ttagcttatt tagaaagttt tatttaaatt acagtttcta tttttattag	960
atcacaatff tatttttagct cttgttcaag taatcatttt tcgccaaaa ctttatactg	1020
aatagcttct acattaaata cttgtcaatg agatcatcta catctttaa ttcagaataa	1080
ttcgcatatg gatctataaa ataaaattgt ggttctttac cggaaacatt aaatattctt	1140
aatattaaat atttctgctt atattctttc atagcaaaca tttcatttag cgacataaaa	1200
aatggttcct caatactaga agatgtagat gtttaattt caataaattt ttctacagct	1260
llalclglal llglllgalc aaaagclacl aaalcalagc calgaccglg llgagagccl	1320
ggattatcat ttaaaatatt cctaaactgt tctttcttat ctctgtctat tttattatca	1380
attagctcat taaagtaatt tagcgctaatt tttctccaa ctttaccggt taatttatc	1440
tctttatttg atttttcaat ttctgaatca ttttagtag tctttgatac acctttttta	1500
tattttggaa ttattccttt aggtgcttcc acttccttga gtgtcttato tttttgtgct	1560
gttctaattt cttcaatttc gctgtcttcc tgtatttcgt ctatgctatt gaccaagcta	1620

## ES 2 536 887 T3

```

tcataggatg tttttgtaac ttttgaagct aattcattaa atagttctaa aaatttcttt 1680
aaatcctcta gcatatcttc ttctgtgaat ccttcattca aatcataata tttgaatctt 1740
attgatccat gagaatatcc tgatggataa tcatttttta aatcataaga tgaatcttta 1800
ttttctgcgt aataaaatct tccagtatta aattcatttg atgtaatata tttattgagt 1860
tcggaagata aagttaatgc tctttgtttt gcagcatttt tatcccgggg aaacatatca 1920
cttatctttg accatccttg attcaaagat aagtatatgc cttctccttc cggatgaaaa 1980
agatatacca aataatgtcc atcctttgtt tcttttgta tattctcctc atatattgaa 2040
atccaaggaa ctttactata gtcccagta gcaaccttc ctacaactga atattttatct 2100
tcttttatat gcacttttaa ctgcttgggt aacttatcat ggactaaagt tttatataga 2160
tcacctttat cccaatcaga ttttttaact acattattgg tacgittctc ttttaattaat 2220
ttaaggacct gcataaagtt gtctatcatt tgaaattccc tcctattata aaatatatta 2280
tgtctcattt tottcaatat gtacttattt atattttacc gtaatttact atatttagtt 2340
gcagaaagaa ttttctcaaa gctagaactt tgcttacta taagtattca gtataaagaa 2400
tatttcgcta ttatttactt gaaatgaaag actgctggagg ctaactatgt caaaaatcat 2460
gaacctcatt acttatgata agcttcttaa aaacataaca gcaattcaca taaacctcat 2520
atgttctgat acattcaaaa tccttttatg aagcggctga aaaaaccgca tcattttatga 2580
tatgcttctc ctgcataat cttaaagct ctgtacactt gttcaattaa cacaaccgca 2640
atcatttgat gtgggaatgt cttttgtctg aatgatagtg cgtagtact gcgttgtaag 2700
acgtccttgt gcaggccggt tgatccgcca atgacgaaaa caaagtcgct ttgcccttgg 2760
gtcatgcggt ggttcaattc ttgggccaat ccttcggaag atagcatctt tccttgatt 2820
tctaagttaa tgactgtgga ttgtggtttg attttggtta gtattcgttg gccttctttt 2880
tcttttactt gctcaatttc tttgtcactc atattttctg gtgctttttc gtctggaact 2940
tctatgatgt ctatcttgggt gtatggcctt aaacgttttt catattctgc tatggcttgc 3000
ttccaatatt tctcttttag tttccctaca gctaaaatgg tgattttcat 3050

```

<210> 27

<211> 657

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 27

```

10 ccaccttcat atgacgtcta tccatttatg tatggcatga gtaacgaaga atataataaa 60

```

## ES 2 536 887 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
gataacattht 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 aagtttgaa gaaaaatatt      600
atthccaaag 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
caagttataa aatcgatggg aaaggttggc aaaaagataa atcttggggg ggttacaacg      240
ttacaagata tgaagtggta aatggtaata tcgacttaaa acaagcaata gaatcatcag      300
ataacattht ctttgctaga gtagcactcg aattaggcag taagaaattht gaaaaaggca      360
tgaaaaaact aggtgttggg gaagatatac caagtgatta tccatttht aatgctcaaa      420
thtcaaaca aaatthgat aatgaaatat tattagctga thcaggttac ggacaaggtg      480
aaatactgat taaccagta cagatccttht caatctatag cgcattagaa aataatggca      540
atattaacgc acctcactta thaaaagaca cgaaaaaca agthtggag aaaaatatta      600
thtcaaaga aaatatcaat ctattaactg atggtatgca acaagtcgta aataaaacac      660
ataaagaaga ththttaga ththttagca acttaattgg caaatccggg actgcagaac      720
tcaaaatgaa acaaggagaa actggcagac aaatgggtg gthtthtca thtgataaag      780

```

10 at

782

<210> 29

<211> 744

<212> DNA

15 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 29

## ES 2 536 887 T3

```

tatgacgtct atccatttat gtatggcatg agtaacgaag aatataataa attaaccgaa      60
gataaaaaag aacctctgct caacaagttc cagattacaa cttcaccagg ttcaactcaa      120
aaaatattaa cagcaatgat tgggttaa at acaaaacat tagacgataa aacaagttat      180
aaaatcgatg gtaaaggttg gcaaaaagat aaatcttggg gtggttaciaa cgttacaaga      240
tatgaagtgg taaatggtaa tatcgactta aaacaagcaa tagaatcatc agataacatt      300
ttctttgcta gagtagcact cgaattagc agtaagaaat ttgaaaaagg catgaaaaaa      360
ctagggtgtt gtgaagatat accaagtgat tatccatttt ataatgctca aatttcaaac      420
aaaaatthag ataatgaaat attattagct gattcaggtt acggacaagg tgaataactg      480
attaaccag tacagatcct ttcaatctat agcgcattag aaaataatgg caatattaac      540
gcacctcact tattaaaaga cacgaaaaac aaagtttggg agaaaaatat tatttccaaa      600
gaaaaatatca atctattaac tgatggatg caacaagtcg taaataaaac acataaagaa      660
gatatttata gatcttatgc aaacttaatt ggcaaatccg gtactgcaga actcaaaatg      720
aaacaaggag aaactggcag acaa                                             744

```

<210> 30

<211> 652

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 30

```

ccaccttcat atgacgtcta tccatttatg tatggcatga gtaacgaaga atataataaa      60
ttaaccgaag ataaaaaaga acctctgctc aacaagttcc agattacaac ttcaccagg      120
tcaactcaaa aaatattaac agcaatgatt ggggttaaata acaaaacatt agacgataaa      180
acaagttata aaatcgatgg taaaggttgg caaaaagata aatcttgggg tggttacaac      240
gttacaagat atgaagtggg aaatggtaat atcgacttaa aacaagcaat agaatcatca      300
gataacatth tctttgctag agtagcactc gaattaggca gtaagaaatt tgaaaaaggc      360
atgaaaaaac taggtgttgg tgaagatata ccaagtgatt atccatttta taatgctcaa      420
atthcaaaaca aaaatthaga taatgaaata ttattagctg attcaggtta cggacaagg      480
gaaatactga ttaaccagat acagatcctt tcaatctata gcgcattaga aaataatggc      540
10 aatattaacg cacctcactt attaaaagac acgaaaaaca aagtttggaa gaaaaatatt      600
atthcaaaag aaaatatcaa tctattaact gatggatgc aacaagtcgt aa                                             652

```

<210> 31

15 <211> 2436

<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 31

20

## ES 2 536 887 T3

ccaccttcat atgacgtcta tccatthtatg tatggcatga gtaacgaaga atataataaa	60
ttaaccogaag ataaaaaaga acctctgctc aacaagttcc agattacaac ttcaccaggt	120
tcaactcaaa aaatattaac agcaatgatt gggttaaata acaaaacatt agacgataaa	180
acaagttata aaatcgatgg taaaggttgg caaaaagata aatcttgggg tggttacaac	240
gttacaagat atgaagtgg aaatggtaat atcgacttaa aacaagcaat agaatcatca	300
gataacatth tctttgctag agtagcactc gaattaggca gtaagaaatt tgaaaaaggc	360
atgaaaaaac taggtgttgg tgaagatata ccaagtgatt atccatthta taatgctcaa	420
atthcaaaaca aaaatthaga taatgaaata ttattagctg atthcaggth cggacaaggt	480
gaaatactga ttaaccaggt acagatcctt tcaatctata gcgcattaga aaataatggc	540
aatattaacg cacctcactt attaaaagac acgaaaaaca aagthtggaa gaaaaatatt	600
atthccaaag aaaatatcaa tctatthact gatggtatgc aacaagtcgt aaataaaaca	660
cataaagaag atatthtatag atcttatgca aacttaattg gcaaatccgg tactgcagaa	720
ctcaaaatga aacaaggaga aactggcaga caaattgggt ggtthtatatc atatgataaa	780
gataatccaa acatgatgat ggctatthaat gthaaagatg tacaagataa aggaatggct	840
agctacaatg ccaaaatctc aggthaaagtg tatgatgagc tatatgagaa cggthataaa	900
aaatacgata tagatgaata acaaaacagt gaagcaatcc gtaacgatgg thgcttact	960
gthttattht gaattatthaa taagtgtgtg tacttctccc thaaatacaa thtcttcatth	1020
thcatthgtat gthgaaagtg aactgtaac gagthccatth tctthththta tggatthctth	1080
atthgtatth thcagcagataa cgtacaatgt attacctggg thatacaggtth thataaatth	1140
aacgttatthc atthgtgttc ctgctacaac thtctctccg thththacctth cthctaccca	1200
thattthaaat gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctth thaatctact	1260
thgtctgtct ththctthtat ctatatgcat atatthgagga thcaaaagthg thgcaaatthg	1320
gataatthct thctctgthaa thtgaaggct ththgtththg aatgthtctc thactataaa	1380
atcatctgtat thcatatathg thctctctthc thattthcaat thaatththth gthtthtaaca	1440

## ES 2 536 887 T3

```

tgtaaagggt aagtctaccg tcaactgaaac gtaagactca cctctaactt tctattgaga      1500
caaatgcacc attttatctg cattgtctgt aaagatacca tcaactcccc aattagcaag      1560
ttggtttgca cgtgctggtt tgtttacagt ccatacgttc aattcataac cgcgttcttt      1620
taccattttt acttttgctt tagtaagttt ggcatcttca gtggttacta ttttagcatt      1680
acagtaatct aaaagtgttc tccagtcttc acgaaacgaa gttgtatgga atataactgc      1740
tctgttatat tgtggcatga tttcttctgc aagtttaaca agcacaacat taaagcttga      1800
aatgagcact tcttgattct gatttaagtt tgttaattgt tcttccactt gcttaacat      1860
acttttagaa agtgctagtc cattcgggtcc agtaatacct ttttaattcta catttaaatt      1920
catattatat tcatttgcta tttttactac atcatcgaaa gttggcaaat gttcatcttt      1980
gaatttttca ccaaaccaag atcctgcaga agcatcttta atttcatcat aattcaattc      2040
agttattttc cgggacatat ttgtagtccg ttetaaataa tcatcatgaa tgataatcag      2100
ttgttcatct tttgtaattg caacatctaa ctccaaccag tttatacctt ctacttctga      2160
agcagcttta aatgatgcaa ttgtattttc cggagcttta ctaggtaatc ctctatgtcc      2220
atatacagtt agcatattac ctctccttgc atttttatft ttttaattaa cgtaactgta      2280
ttatcacatt aatcgcactt ttatttccat taaaagaga tgaatatcat aaataaagaa      2340
gtcgatagat tcgtattgat tatggagtta atctactgtc catctcattt ttaaaaaatc      2400
atztatgtcc caagetccat 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 gcgggtgtg caagcg 36

20 <210> 33  
 <211> 336  
 <212> DNA  
 <213> Staphylococcus epidermidis

25 <400> 33

```

ctcattactt atgataagct tcttaaaaac ataacagcaa ttcacataaa cctcatatgt      60
tctgatacat tcaaaatccc tttatgaagc ggctgaaaaa accgcatcat ttatgatatg      120
cttcgcctct catgatctta aatgcgcgat aaatttgttc gatcaaatatg acgcgcatat      180
ttgggtgtgg aaggatcatat tgctaaaaga taaagcatag ttgctgcggt gtaagacgtc      240
ttgggtgtaa ccattggagc cacctatgac aatgtaaag tcgctttgac cttgtgtcat      300
gcgtgtttgt agttctttag cgagtccttc tgaaga                                  336

```

## ES 2 536 887 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 atgattttaa atgctctgta tacttgctcg attaagacaa cgcgcatcat 180  
 ttgatgtggg aatgtcattt tactgaatga aagtgcgtag ttgctgcggt gtaagacgtc 240  
 ctcatgcaat ccatttgatc 260  
 10  
 <210> 35  
 <211> 225  
 <212> DNA  
 <213> *Staphylococcus aureus*  
 15 <400> 35  
 ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca 60  
 ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa 120  
 gtgtacagag catttaagat tatgctgga gaggcgtatc acaataaaaa ctaaaaatgg 180  
 agtaactatt aatatagtat aaattcaata tggtgataaa aacag 225  
 20 <210> 36  
 <211> 225  
 <212> DNA  
 <213> *Staphylococcus aureus*  
 25 <400> 36  
 ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca 60  
 ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa 120  
 gtgtacagag catttaagat tatgctgga gaggcgtatc acaataaaaa ctaaaaatgg 180  
 agtaactatt aatatagtat aaattcaata tggtgataaa aacag 225  
 30  
 <210> 37  
 <211> 225  
 <212> DNA  
 <213> *Staphylococcus aureus*  
 35 <400> 37  
 ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgtag taactacgca 60  
 ctatcattca gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa 120  
 gtgtacagag catttaagat tatgctgga gaggcgtatc ataagtaatg aggttcatga 180  
 tttttgacat agttagcctc cgcagtcttt caagtaaata atatc 225  
 40 <210> 38  
 <211> 225  
 <212> DNA  
 <213> *Staphylococcus aureus*



## ES 2 536 887 T3

<400> 38

ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac aaggacgtct tacaacgcag taactacgca	60
ctatcattta gcaaaatgac attcccacat caaatgatgc gggttgtggt 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 ggtaaagtgt tgttgttacc agcgcataga ggaactgtta gtagcggtag	120
agaaggttct gatcgcgcat tagaaggaac tgctgtatca agtaagagtg ggaaacaatt	180
ggctaacatg tcagcgccta aaggtagcgc acatgagaaa cagttaccaa aactggaac	240
tgatcaaagt tcaagcccag cagcgtatgt tgtattagta acaggtatag gtttaatcgc	300
gactgtacga cgtagaaaag cttagctaaa tatattgaaa acaatactac tgtatttctt	360
aaataagagg tacggtagtgt tttttttatg gaaaaaagct 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
tggaaagtgt ataacaatth ggaggaccaa acgacatgaa aatcaccatt ttagctgtag	720
ggaaactaaa agagaaatat tgaagcaag ccatagcaga atatgaaaa cgtttaggcc	780
catacaccia 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 aatcagaag tgagtaacaa tggtaatgta	1260
aatagttagt gcaataattg gaattatagg gatttattga gatgtatgga gatgcggggc	1320
atztatcgag tagattacaa ttagagcatg taggtgattt gcttttcat gcaagtaaaag	1380
ataaactttt aaaaatccta taagaattta gaaactttag aataactaaa tattaaaaa	1440
ataticgtatg aaagtgaaat taggatgaga gaccatagct aaattaataaa ttttagcaaa	1500

15

<210> 40

<211> 1501

<212> DNA

# ES 2 536 887 T3

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 40

ttgcacaacc aattggtaaa gacaaagtga tggatccagc gaaacaacca gcgccaagta 60  
aagttgtatt gttgccagcg catagaggaa ctgttagtag tggtagagaa ggttctgac 120  
gcgcattgga aggaactgct gtatcaagta agagcgggaa acaattggct agcatgtcag 180  
cgcctaaagg tagcacacat gagaagcagt taccaaaaac tggaaactgat caaagttcaa 240  
gcccagcagc gatgtttgta ttagtagcag gtataggttt aattgcgact gtacgacgta 300  
gaaaagctag ctaaaatata ttgaaaacaa tactactgta tttcttaaac aagaggtacg 360  
gtagtgtttt tttatgaaaa aaagctataa ccgttgataa atatgggata taaaaacggg 420  
5 gataagtaat aagacatcaa ggtatttata cacagaaatg gggatagtta tccagaattg 480  
tgtacaatth aaagagaaat acccacaatg cccacagagt tatccacaaa tacacaggtt 540  
atacactaaa aattgggcat gaatgtcaga aaaatatcaa aaactgcaaa gaatattggt 600  
ataataagag ggaacagtgt gaacaagtta ataactgtg gataactgga aagttgataa 660  
caatttgag gaccaaacga catgaaaatc accatthtag ctgtagggaa actaaaagag 720  
aaatattgga agcaagccat agcagaatat gaaaaacgth taggcccata caccaagata 780  
gacatcatag aagthccaga cgaaaaagca ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag 840  
caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata ctagccaaaa tcaaaccaca atcaacagth 900  
attacattag aaatacaagg aaagatgcta tcttccgaag gattggccca agaattgaac 960  
caacgcatga cccaagggca aagcgaacth gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg 1020  
cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac gcactatcat tcagcaaaat gacattccca 1080  
catcaaatga tgcgggttgt gtttaattgaa caagtgtaca gagcattthaa gattatgctg 1140  
ggagaagcat atcataaatg atgctgthttt ttcagccgct tcataaaggg atthttgaaatg 1200  
tatcagaaca tatgaggttht atgtgaattg ctgttatgth tthtaagaagc ttatcataag 1260  
taatgaggtt catgaththtt gacatagthta gcctccgag tctthcattt caagthaaata 1320  
atagcgaaat atththttata ctgaatactt atagthgaagc aaagthtctag cthttgagaaa 1380  
atthththctg caactaaata tagthaaata cggthaaata thaaataagth catattgaaatg 1440  
aaaatgagac athaatatatt thataatagg agggaaththc aatgathaga caactthtatg 1500  
c 1501

<210> 41

10 <211> 2480

<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 41

15

## ES 2 536 887 T3

aaaccgtctg gcaaacgaat taatgctatt caaatTTTTaa ataaagagac aggtaagttt	60
gaaaaatattg atttaaaacg tgtatatcac gtaacgatga atgacttcac agcatcaggt	120
ggcgacggat atagtatggt 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
aaaaaacag ctcCaggtaa agttgtattg ttgctagcgc atagaggaac tgtagtagc	420
ggtagacaag gttctggTcg cacaaataga ggagctactg tatcaagcaa gagTgggaaa	480
caattggcta gaatgtcagt gcctaaaggt agcgcgatg agaaacagtt accaaaaact	540
ggaactaatc aaagttcaag ccCagaagcg atgtttgtat tattagcagg tataggTTta	600
atcgcgactg tacgacgtag aaaagctagc taaaatatat tgaaaataat actactgtat	660
ttcttaata agaggtacgg tagTgttttt ttatgaaaa aagcgataac cgttgataaa	720
tatgggatat aaaaacgagg ataagtaata agacatcaag gtgtttatcc acagaaatgg	780
ggatagttat ccagaattgt gtacaattta aagagaaata ccCacaatgc ccacagagtt	840
accacaaat acacaggtta taaactaaaa atcgggcata aatgtcagga aaatatcaaa	900
aactgcaaaa aatattggta taataagagg gaacagtgtg aacaagttaa taacttTgtg	960
ataactggaa agttgataac aatttgagg accaaacgac atgaaaatca ccatttttagc	1020
tgtagggaaa ctaaaagaga aatattggaa gcaagccata gcagaatatg aaaaacgttt	1080
aggccatac 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 acattcccac atcaaatgat gcgggttTgtg ttaattgaac aagtgtacag	1440
agcatttaag attatgcgag gagaagctta tcataagtaa tgaggttcat gatttttgac	1500
atagttagcc tccgcagtct ttcatttcaa gtaaataata gcgaaatatt ctttatactg	1560
aatacttata gtgaagcaaa gttctagctt tgagaaaatt ctttctgcaa ctaaataatag	1620
taaattacgg taaaatataa ataagtacat attgaagaaa atgagacata atatatttta	1680
taataggagg gaatttcaaa tgatagacaa ctttatgacg gtccttaaat taattaaaga	1740
gaaacgtacc aataatgtag ttaaaaaatc tgattgggat aaaggtgatc tatataaac	1800
tttagtccat gataagttac ccaagcagtt aaaagtgcac ataaaagaag ataaatattc	1860
agttgtaggg aaggttgcta ctgggaacta tagtaaagtt ccttgattt caatatatga	1920
tgagaatata acaaaagaaa caaggatgg atattatttg gtatatcttt ttcacccgga	1980
aggagaaggc atatacttat ctttgaatca aggatggTca aagataagtg atatgtttcc	2040
gcgggataaa aatgctgcaa aacaaagagc attaacttta tcttccgaac tcaataaata	2100

## ES 2 536 887 T3

```
tattacatca aatgaattta atactggaag attttattac gcagaaaata aagattcatc 2160
ttatgattta aaaaatgatt atccatcagg atattotcat ggatcaataa gattcaaata 2220
ttatgatttg aatgaaggat tcacagaaga agatatgcta gaggatttaa agaaatTTTT 2280
agaactatTTT aatgaattag cttcaaaagt tacaaaaaca tcctatgata gcttggTcaa 2340
tagcatagac gaaatacagg aagacagcga aattgaagaa attagaacag cacaaaaaga 2400
taagacactc aaggaagtgg aagcacctaa aggaataatt ccaaaatata aaaaagTgt 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 tattTTtaata ttaaaaagaa gatatgaaat aattattcat accttccacc 240
ttacaataat tagTTTTTcaa tcgaatatta agattattag tagtctTtaa agttaagact 300
tccttatatt aatgacctaa tttattatTTT 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 aatgoccata gtgctacaca tattagcata 600
ataaccgctt cattaagtt ttcataataa atTTTaccba taaaagaatc tggatatagt 660
ggtacatatt tatcccttga aaaaaataag tgaagtaatg acagaaatca taagaccagt 720
gaacgcacct ttttgaacag cgtggaataa ttttttcata gtgagatgga ccattccatt 780
tgTTTTctaac ttcaagtgat caatgtaatt tagattgata atTTctgatt ttgaaatcG 840
cacgaatatt gaaccgacaa gctcttcaat ttggtaaagt cgctgataaa gttTTaaagc 900
tttattatTc attgTtatcg catacctgTt tatcttctac tatgaactgt gcaattTgtt 960
ctagatcaat tgggtaaaca tgatgTtct gttgcaaagt aaaaaaatat agctaaccac 1020
10 taatttatca tgTcagtgtt cgctt 1045
```

<210> 43

<211> 1118

<212> DNA

15 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 43

## ES 2 536 887 T3

```

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

```

<210> 44

<211> 1118

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 44

```

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

```

## ES 2 536 887 T3

```

aataaatagg cgggatagtt atatatagct tattaatgaa agaatatgat tattaattta      240
gtattatatt ttaatattaa aaagaagata tgaataaatt attcatacct tccaccttac      300
aataattagt tttcaatcga atattaagat tattagtagt cttaaaagtt aagacttcct      360
tatattaatg acctaattta ttatttgctt catgaattat ctttttattt ctttgatag      420
tcccaaacca catcgtgata taaactacaa taaatattat gatgaaacta ataatattct      480
caaagttcag atggaaccaa cctgctagaa tagcgagtyg gaagaatagg attatcatca      540
atataaagtg aactacagtc tgttttgtaa tactccaatc ggtatctgta aatatcaaat      600
taccataagt aaacaaaatt ccaatcaatg cccatagtcg tacacatatt agcataataa      660
ccgcttcatt aaagttttca taataaattt taccataaaa agaactctgga tatagtagta      720
catatttata ccttgaaaaa aataagtga gtaatgacag aatcataag accagtgaac      780
gcaccttttt gaacagcgtg gaataatttt ttcatagtga gatggacat tccatttggt      840
tctaacttca agtgatcaat gtaatttaga ttgataattt ctgattttga aatacgcacg      900
aatattgaac cgacaagctc ttcaatttgg taaagtcgct gataaagttt taaagcttta      960
ttatcattg ttatcgata cctgtttata ttctactatg aactgtgcaa tttgttctag     1020
atcaattggg taaacatgat ggttctgttg caaagtaaaa aaatatagct aaccactaat     1080
ttatcatgtc agtgttcgtt taacttgcta gcatgatg                               1118

```

<210> 45

<211> 1113

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 45

```

agcatttaag attatgctg gagaagcgtt ccacaaatga tgcggttttt tatccagttt      60
tttgtttaat gaacaaggta aattacgaga taatatttga agaaaacaat aaagtagaga     120
tggatttcca tatoctcttt agtagcggtt tttatctgta aggtttatta ataattaaat     180
aaataggcgg gatagttata tatagcttat taatgaaaga atatgattat taatttagta     240
ttatatttta atattaaaaa gaagatatga aataattatt cataccttcc accttacaat     300
aattagtttt caatcgaata ttaagattat tagtagtctt aaaagttaag acttccttat     360
attaatgacc taatttatta tttgcctcat gaattatctt tttatttctt tgatatgtcc     420
caaaccacat cgtgatatac actacaataa atattatgat gaaactaata atattctcaa     480
10 agttcagatg gaaccaacct gctagaatag cgagtgggaa gaataggatt atcatcaata     540

```

## ES 2 536 887 T3

```

taaagtgaac tacagtctgt tttgttatac tccaatcggc atctgtaaat atcaaattac      600
cataagtaaa caaaattcca atcaatgccc atagtgtac acatattagc ataataaccg      660
cttcattaaa gttttcataa taaatthttac ccataaaaga atctggatat agtggtagat      720
atthtatccct tgaaaaaaat aagtgaagta atgacagaaa tcataagacc agtgaacgca      780
cctthtttgaa cagcgtggaa taatthtttc atagtgtgat ggaccattcc atthgtthtct      840
aacttcaagt gatcaatgta atthtagattg ataatthtctg atthttgaaat acgcacgaat      900
atthgaaccga caagctcttc aatthtggtaa agtcgctgat aaagthttta agctthatta      960
thcattgtta tcgcatacct gthttatcttc tactatgaac tgtgcaatth gthtctagatc     1020
aatthgggtaa acatgatggt tctgttgcaa agthaaaaaa tatagctaac cactaatthta     1080
tcatgtcagt gthtcgctthaa cthtgctagca tga                                  1113

```

<210> 46

<211> 2153

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 46

```

ctgtagggaa actaaaagag aaatactgga agcaagccat agcagaatat gaaaaacgtt      60
taggccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca ccagaaaata     120
tgagcgacaa agaaatcgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata ctagccaaaa     180
tcaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta tcttccgaag     240
gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgactth gtattcgtca     300
ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac gcactatcat     360
tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gthtaattgaa caagtgtaca     420
gagcattthaa gattatgcgt ggagaagcgt accacaaatg atgcggttht ttatccagtt     480
thttgtthaa tgaacaaggt aaattacgag ataatthttg aagaaaaaaa taaagtagag     540
atggattthc atatcctctt tagtagcggc thttatctgt aaggtthatt aataattthaa     600
thaaataggcg ggatagtht atatagctta thaatgaaag aatatgatta thaatthtagt     660
atthatttht aatattthaa agaagatatg aaataattat tcataccttc cacctthaaa     720
thaatagtht tcaatcgaat athaagatta thtagtagtct thaaagthaa gactthcctta     780
thattaatgac cthattthatt atthgcctca tgaattatct thttatttht thgatatgct     840
10 ccaaaccaca tctgtatata cactacaata aatattatga tgaaactaat aatattctca     900

```

## ES 2 536 887 T3

```

aagttcagat ggaaccaacc tgctagaata gcgagtggga agaataggat tatcatcaat      960
ataaagtgaa ctacagtctg ttttgttata ctccaatcgg tatctgtaaa tatcaaatta      1020
ccataagtaa acaaaattcc aatcaatgcc catagtgcta cacatattag cataataacc      1080
gcttcattaa agttttcata ataaatttta cccataaaag aatctggata tagtgggtaca      1140
tatttatccc ttgaaaaaaaa 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
atcoattggt atcgcatacc tgtttatctt ctactatgaa ctgtgcaatt tgttctagat      1440
caattgggta aacatgatgg ttctgttgca aagtaaaaaa atatagctaa cactaattt      1500
atcatgtcag tgttcgctta acttgctagc atgatgctaa tttcgtggca tggcgaaaat      1560
ccgtagatct gatgagacct gcggttcttt ttatatagag cgtaaataca ttcaatacct      1620
tttaaagtat tctttgctgt attgatactt tgataccttg tctttcttac tttaatatga      1680
cggtgatctt 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 attaattcota      120
gttgatataat tataatgtga aacacaaaat aataatttgt aattgttagt ttataggcat      180
10 ctgtatttgg aattttttgt agactattta aaaaatagtg tatataagta ttgagttcat      240

```



## ES 2 536 887 T3

```

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

```

<210> 48

<211> 1592

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 48

```

aactaaaaga gaaatattgg aagcaagcca tagcagaata tgaaaaacgt ttaggcccac 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 atgctgggtg tgtaattga acaagtgtac agagcattta 420
agattatgcg aggagaagca tatcataaat gatgctggtt tttcagccgt aattttataa 480
tataaagcag agttttattaa attttaatga ttacttttta ttaagaatta attctagtgt 540
atatattata atgtgaaaca caaaataata atttgtaatt gttagtttat aggcactctgt 600
atttggaatt tttttagtagc tatttaaaaa atagtgtata taagtattga gttcatgtat 660
taactgtcct ttttcatcgt tcatcaagta taaggatgta gagatttggt ggataatttc 720
ttcggatggt tttaaaatta tcattaaatt agatggatc tgatcttgag ttttgttttt 780
agtgtatgta tattttaaaa aatttttgat tgttgttatt tgactctctt ttaatttgac 840
accctcatca ataatgtgt taaatatatc ttcatttgta cttaaatcat caaaatttgc 900
10 caacaaatat ttgaacgtct ctaaactcatt atgtttgagt tccgttttgc tattccataa 960

```

## ES 2 536 887 T3

```

ttccaaacca tttggtagaa agcccaagct gtgattttga tctcccata tagctgaatt    1020
taaatcagtg agttgattaa ttttttcaac acagaaatgt aattttggaa tgaggaatcg    1080
aagttgttct tctacttgct gtacttttct tttgttttca ataaaatttc tacaccatac    1140
tgttatcaaa cgcceaatta ttgtgcacaa tcctccaatg attgtagata aaattgacaa    1200
tatattacac acctttctta gaggtttatt aacatctatt tttgaattta aaattattac    1260
tttggtagcg ttataacctt ttttaacagat tagagaaaaa ttgaatgacg gattgaagaa    1320
tttccaaaat accgtcccat atgcggttgaa ggagatttct attttcttct gtattcaaat    1380
ctttggcttt atcctttgct ttattcaata aatcatctga gtttttttca atatttttta    1440
atacatcttt ggcattttgt ttaaatactt taggatcgga 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 actgtctfff ttcacgttcc atcaagtata aggatgtaga gatttgttgg    300
ataatttctt cggatgffff taaaattatc attaaattag atggtatctg atcttgagtt    360
ttgtttttag tgtatgtata ttttaaaaaa tttttgattg ttgttatttg actctctfff    420
aatttgacac cctcatcaat aaatgtgfta aatatactct catttgtact taaatcatca    480
aaatttgcca acaaatatff gaacgtctct aatcattat gtttgagtcc cgttttgcta    540
ttccataatt ccaaaccatt tggtagaaag cccaagctgt gattttgacg tcccataata    600
gctgaattta aatcagtgag ttgatthaat ttttcaacac agaaatgtaa ttttggaatg    660
aggaatcgaa gttgttcttc tacttgctgt acttttctff tgttttcaat aaaatttcta    720
10 caccatactg                                730

```

<210> 50

<211> 1696

<212> DNA

15 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 50

## ES 2 536 887 T3

```

aaagagaaat attggaagca agccatagca gaatatgaaa aacgtttagg cccatacacc      60
aagatagaca tcatagaagt tccagacgaa aaagcaccag aaaatatgag tgacaaagaa      120
attgagcaag taaaagaaaa agaaggccaa cgaatactag ccaaaatcaa accacaatcc      180
acagtcatta cattagaat acaaggaaag atgctatctt ccgaaggatt ggccaagaa      240
ttgaaccaac gcatgacca agggcaaagc gactttgttt tcgtcattgg cggatcaaac      300
ggcctgcaca aggacgtctt acaacgcagt aactacgcac tatcattcag caaaatgaca      360
ttcccacatc aatgatgcg ggttgtgtta attgaacaag tgtacagagc atttaagatt      420
atgcgaggag aagcatatca taaatgatgc ggttatttca gccgtaattt tataatataa      480
agcagagttt attaaatfff aatgattact ttttattaag aattaattct agttgatata      540
ttataatgtg aaacacaaaa taataatftg taattgttag tttataggca tctgtatttg      600
gaattttttg tagactatftt aaaaaatagt gtatataagt attgagttca tgtattaact      660
gtcttttttc atcgttcatc aagtataagg atgtagagat ttgttggata atttcttcgg      720
atgtttttta aattatcatt aaattagatg gtatctgatac ttgagttttg tttttagtgt      780
atgtatattt taaaaaattt ttgattgttg ttatttgact ctcttttaat ttgacaccct      840
catcaataaa tgtgttaaat atatcttcat ttgtacttaa atcatcaaaa ttgccaaca      900
aatatttgaa cgtctctaaa tcattatgft tgagtccgt tttgctattc cataattcca      960
aaccatttgg tagaaagccc aagctgtgat tttgatctcc ccatatagct gaatttaaat     1020
cagtgagttg attaatfttt tcaacacaga aatgtaattt tggaatgagg aatcgaagtt     1080
gttcttctac ttgctgtact tttcttttft tttcaataaa atttctacac catactgtta     1140
tcaaaccgcc aattattgtg cacaaatctc caatgattgt agataaaatt gacaatatat     1200
tacacacctt tcttagaggt ttattaacat ctatttttga atttaaaatt attactttgg     1260
tagcgttata acctatttaa cagattagag aaaaattgaa tgatcgattg aagaatttcc     1320
aaaataccgt cccatattcg ttgaaggaga tttctatftt 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 aacagtgctc tcaacttgtt gttgtgtgat ttgtttatct     1620
tgattttgft taatatctgc aagttgttct ttaatatctg ctatagaagc atttaagct     1680
tcactctgaat acccat                                             1696

```

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

10 <400> 51

# ES 2 536 887 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 tttttatcc agttttttgt	480
ttaatgaaca aggtaaatta cgagataata tttgaagaaa acaataaagt agagatggat	540
ttccatatcc tcttttagtag cggtttttat ctgtaaggtt tattaataat taaataaata	600
ggcgggatag ttatatatag cttattaatg aaagaatatg attattaatt tagtattata	660
ttttaatatt aaaaagaaga tatgaaataa ttattcatac cttccacctt acaataatta	720
gttttcaatc gaatattaag attattagta gtcttaaaag ttaagacttc cttatattaa	780
tgacctaatt tattatttgc ctcataaatt atctttttat ttctttgata tgcaccaaac	840
cacatcgtga tatacactac aataaatatt atgatgaaac taataatatt ctcaaagtc	900
agatggaacc aacctgctag aatagcgagt gggagaataa ggattatcat caatataaag	960
tgaactacag tctgttttgt tatactccaa tcggtatctg taaatatcaa attaccataa	1020
gtaaacaaaa ttccaatcaa tgccatagt gctacacata ttagcataat aaccgcttca	1080
ttaaagtttt cataataaat ttaccata aaagaatctg gatatagtgg tacatattta	1140
tcccttgaaa aaaataagtg aagtaatgac agaaatcata agaccagtga acgcaccttt	1200
ttgaacagcg tggaaataatt ttttcatagt gagatggacc attccatttg tttctaactt	1260
caagtgatca atgtaattta gattgataat ttctgatttt gaaatacgcga 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 aatccgtag	1560
atctgatgag acctgcgggt ctttttatat agagcgtaaa tacattcaat accttttaa	1620
gtattctttg ctgtattgat actttgatac cttgtcttcc ttactttaat atgacgggta	1680
tcttgctcaa tgaggttatt cagatatttc gatgtacaat gacagtcagg ttttaagttta	1740
aaagctttaa ttactttagc cattgctacc ttcgttgaag gtcctgatc tgtaattacc	1800
ttttgaggtt taccaaattg tttaatgaga cgtttgataa acgcatatgc tgaatgatta	1860
tctcgttgc taccgaacca aatatctaata gtatgtccct ctgcatcaat ggcacgatat	1920
aaatagctcc attttccttt tattttgatg tacgtctcat caatacgcca tttgtaataa	1980
gcttttttat gctttttctt ccaaatgtga tacaaaattg gggcatattc ttgaaccaa	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 ttatcttcat 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 tacatctta 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

aaacgcatg 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 ttattagta 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 taatttggga 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 acatcaaatg 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 gtttggata 60  
 tatttttatg cttcaaaaga taaagaaatt aataacta ttgatgcaat tgaagataaa 120  
 aatttcaaac aagtttataa agatagcagt tatatttcta aaagcgataa tggatgaagta 180  
 gaaatgactg aacgtccgat aaaaatataa aatagtttag gcgttaaaga tataaacatt 240  
 caggatcgta aaataaaaaa agtatctaaa aataaaaaac gagtagatgc tcaatataaa 300

55

## ES 2 536 887 T3

attaaaaaa actacggtaa cattgatcgc aacgttcaat ttaatthttgt taaagaagat	360
ggtagtggtga 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 tegtccact ttaaaaccgt taaaaaatg	660
gatgaatatt taagtgattt cgcaaaaaa tttcatctta caactaatga aacagaaagt	720
cgtaactatc ctctagaaaa agcgaacttca catctattag gttatgttg tcccattaac	780
tctgaagaat taaaacaaaa agaataaaa ggctataaag atgatgcagt tattggtaaa	840
aagggactcg aaaaacttta cgataaaaag ctccaacatg aagatggcta tegtgtcaca	900
atcgttgacg ataatagcaa tacaatcgc catacattaa tagagaaaa 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 ggttgcaaaa aagataaatc ttggggtggt	1320
tacaacgtta caagatatga agtggtaaat ggtaaatcg acttaaaaaa agcaatagaa	1380
tcatcagata acatthttctt tgctagagta gcaactogaat taggcagtaa gaaatthgaa	1440
aaaggcatga aaaaactagg tgttggtgaa gatataccaa gtgattatcc atthttataat	1500
gctcaaatth caaacaaaaa tttagataat gaaatattat tagctgattc aggttacgga	1560
caaggtgaaa tactgattaa ccagtagacg atcctthcaa tctatagcgc attagaaaaat	1620
aatggcaata ttaacgcacc tcaacttatta aaagacacga aaaacaaagt ttggaagaaa	1680
aatattatth ccaagaaaaa tatcaatcta ttaaatgatg gtatgcaaca agtcgtaaat	1740
aaaacacata aagaagatat ttatagatct tatgcaaaact taattggcaa atccggtagt	1800
gcagaactca aatgaaaca aggagaaagt ggcagacaaa ttgggtggtt tatatcatat	1860
gataaagata atccaaacat gatgatggct ataatgtta 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 metilicina

<400> 79  
 caaatattat ctcgtaattt accttggtc 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 ctctgcttta 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  
 attgctgta atatttttg agtgaa 27  
 40 <210> 82  
 <211> 2007  
 <212> DNA  
 <213> Staphylococcus aureus  
 45 <400> 82

## ES 2 536 887 T3

atgaaaaaga taaaaattgt tccacttatt ttaatagttg tagttgtcgg gtttggata	60
tatttttatg cttcaaaaaga taaagaaatt aataatacta ttgatgcaat tgaagataaa	120
aatttcaaac aagtttataa agatagcagt tatatttcta aaagcgataa tggatgaagta	180
gaaatgactg aacgtccgat aaaaatataa aatagtttag gcgttaaaga tataaacatt	240
caggatcgta aaataaaaaa agtatctaaa aataaaaaac gagtagatgc tcaatataaa	300
attaaaaaca actacggtaa cattgatcgc aacgttcaat ttaattttgt taaagaagat	360
ggtagtgga 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 gttatgttg tccattaac	780
tctgaagaat taaaacaaaa agaataaaa ggctataaag atgatgcagt tattggtaaa	840
aagggactcg aaaaacttta cgataaaaag ctccaacatg aagatggcta tcgtgtcaca	900
atcgttgacg ataatagcaa tacaatcgc catacattaa tagagaaaa gaaaaaagat	960
ggcaaagata ttcaactaac tattgatgct aaagtcaaa 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 ggttgcaaa aagataaatc ttggggtggt	1320
tacaacgtta caagatatga agtggtaaat ggtaatatcg acttaaaaca agcaatagaa	1380
tcatcagata acattttctt tgctagagta gcaactgcaat taggcagtaa gaaattttaa	1440
aaaggcatga aaaaactagg tgttggtgaa gatataccaa gtgattatcc attttataat	1500
gctcaaattt caaacaaaaa tttagataat gaaatattat tagctgattc aggttacgga	1560
caaggtgaaa tactgattaa cccagtacag atcctttcaa tctatagcgc attagaaaat	1620
aatggcaata ttaacgcacc tcaacttatta aaagacacga aaaacaaagt ttggaagaaa	1680
aatattattt ccaaagaaaa tatcaatcta ttaactgatg gtatgcaaca agtcgtaaat	1740
aaaacacata aagaagatat ttatagatct tatgcaaact taattggcaa atccggtact	1800
gcagaactca aatgaaaca aggagaaact ggagacaaa ttgggtggtt tatatcatat	1860
gataaagata atccaacat gatgatggct attaatgtta aagatgtaca agataaagga	1920
atggctagct acaatgcaa 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 gcgggtgtg 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 gttactcgt 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 ttatac 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 aataatttg agggt 25

50

<210> 90

<211> 2007

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

55

<400> 90



## ES 2 536 887 T3

atgaaaaaga taaaaattgt tccacttatt ttaatagttg tagttgtcgg gtttggata	60
tatttttatg cttccaaaga taaagaaatt aataatacta ttgatgcaat tgaagataaa	120
aatttcaaac aagtttataa agatagcagt tatatttcta aaagcgataa tggatgaagta	180
gaaatgactg aacgtccgat aaaatataat aatagtttag gcgttaaaga tataaacatt	240
caggatcgta aaataaaaaa agtatctaaa aataaaaaac gagtagatgc tcaatataaa	300
attaaaaaca actacggtaa cattgatcgc aacgttcaat ttaattttgt taaagaagat	360
ggtagtgga 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 ctctaggaaa agcgcacttca catctattag gttatgttg tccattaac	780
tctgaagaat taaaacaaaa agaataaaa ggctataaag atgatgcagt tattggtaaa	840
aagggactcg aaaaacttta cgataaaaag ctccaacatg aagatggcta tcgtgtcaca	900
atcgttgacg ataatagcaa tacaatcgca catacattaa tagagaaaaa gaaaaaagat	960
ggcaaagata ttcaactaac tattgatgct aaagttaaaa agagtattta taacaacatg	1020
aaaaatgatt atggctcagg tactgctatc caccctcaaa caggatgaatt 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 ggttgcaaaa aagataaatc ttggggtggt	1320
tacaacgtta caagatatga agtggtaaat ggtaaatatcg acttaaaaca agcaatagaa	1380
tcatcagata acattttctt tgctagagta gcaactogaat taggcagtaa gaaattttaa	1440
aaaggcatga aaaaactagg tgttgggtgaa gatataccaa gtgattatcc attttataat	1500
gctcaaattt caaacaacaaa tttagataat gaaatattat tagctgattc aggttacgga	1560
caaggtgaaa tactgattaa ccagtacag atcctttcaa tctatagcgc attagaaaat	1620
aatggcaata ttaacgcacc tcaacttatta aaagacacga aaaacaaagt ttggaagaaa	1680
aatattattht ccaaagaaaa tatcaatcta ttaactgatg gtatgcaaca agtcgtaaat	1740
aaaacacata aagaagatat ttatagatct tatgcaaact taattggcaa atccgggtact	1800
gcagaactca aatgaaaca aggagaaact ggcagacaaa ttgggtggtt tatatcatat	1860
gataaagata atccaacat gatgatggct attaatgtta aagatgtaca agataaagga	1920
atggctagct acaatgcaa aatctcaggt aaagtgtatg atgagctata tgagaacggt	1980
aataaaaaat acgatataga tgaataa	2007

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

## ES 2 536 887 T3

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 91

	atgaaaaaga taaaaattgt tccacttatt ttaatagttg tagttgtcgg gtttggata	60
5	tatTTTTatg cttcaaaaga taaagaaatt aataacta ttgatgcaat tgaagataaa	120
	aatttcaaac aagtttataa agatagcagt tatatttcta aaagcgataa tggatgaagta	180
	gaaatgactg aacgtccgat aaaaatataa aatagtttag gcgttaaaga tataaacatt	240
	caggatcgtg aaataaaaaa agtatctaaa aataaaaaac gagtagatgc tcaatataaa	300
	atataaaca 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 caaacaaca	600
	atggatcaaa agtgggtaca agatgatacc ttcgttccac ttaaaaccgt taaaaaatg	660
	gatgaatatt taagtgattt cgcaaaaaa tttcatctta caactaatga aacagaaagt	720
	cgtaactatc ctctagaaaa agcgacttca catctattag gttatgttgg tcccattaac	780
	tctgaagaat taaaacaaaa agaataaaa 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 taaataaca aacattagac	1260
	gataaaaca gttataaaat cgatggtaaa ggttggcaaa aagataaatc ttggggtggt	1320
	tacaacgtta caagatatga agtggtaaat ggtaatatcg acttaaaaca agcaatagaa	1380
	tcatcagata acatTTTctt tgctagagta gcaactcgaat taggcagtaa gaaatttgaa	1440
	aaaggcatga aaaaactagg tgttggtgaa gatatacaca gtgattatcc atTTTataat	1500
	gctcaaatTT caaacaAAAA tttagataat gaaatattat tagctgattc aggttacgga	1560
	caaggtgaaa tactgattaa ccagctacag atcctttcaa tctatagcgc attagaaaat	1620
	aatggcaata ttaacgcacc tcacttatta aaagacacga aaaacaaagt ttggaagaaa	1680
	aatattattt ccaagaaaa tatcaatcta ttaactgatg gtatgcaaca agtcgtaaat	1740
	aaaacacata aagaagatat ttatagatct tatgcaaac taattggcaa atccggtact	1800

## ES 2 536 887 T3

gcagaactca aaatgaaaca aggagaaact ggcgacaaa ttgggtggtt tatatcatat 1860  
gataaagata atccaaacat gatgatggct attaatgta 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 aaggatgta tcaactgtagc cgttggttac 60  
tatctaagat atacattgag ttatcgtgat atatctgaaa tattaagga acgtggtgta 120  
aacgttcac attcaacggt ctaccgttg gttcaagaat atgcccacat tttgtatcaa 180  
at ttggaaga aaaagcataa aaaagcttat tacaatggc gtattgatga gacgtacatc 240  
aaaataaaag gaaaatggag ctatttatat cgtgccattg atgcagaggg acatacatta 300  
gatatttggg tgcgtaagca acgagataat cattcagcat atgcgtttat caaacgtctc 360  
attaacaat ttggtaaacc tcaaaaggta attacagatc aggcaccttc aacgaaggta 420  
gcaatggcta aagtaattaa agcttttaaa cttaaacctg actgtcattg tacatcgaaa 480  
tatctgaata acctcattga gcaagatcac cgtcatatta aagtaagaaa gacaaggat 540  
caaatgatca atacagcaaa gaatacttta aaaggattg aatgtattta cgctctatat 600  
aaaaagaacc gcaggctctc tcagatctac ggattttcgc catgccacga aattagcatc 660  
10 atgctagcaa gttaa 675

<210> 93

<211> 675

<212> DNA

15 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 93

atgaactatt tcagatataa acaatttaac aaggatgta tcaactgtagc cgttggttac 60  
tatctaagat atacattgag ttatcgtgat atatctgaaa tattaagga acgtggtgta 120  
aacgttcac attcaacggt ctaccgttg gttcaagaat atgcccacat tttgtatcaa 180  
at ttggaaga aaaagcataa aaaagcttat tacaatggc gtattgatga gacgtacatc 240  
aaaataaaag gaaaatggag ctatttatat cgtgccattg atgcagaggg acatacatta 300  
gatatttggg tgcgtaagca acgagataat cattcagcat atgcgtttat caaacgtctc 360  
20 attacaat ttggtaaacc tcaaaaggta attacagatc aggcaccttc aacgaaggta 420  
gcaatggcta aagtaattaa agcttttaaa cttaaacctg actgtcattg tacatcgaaa 480  
tatctgaata acctcattga gcaagatcac cgtcatatta aagtaagaaa gacaaggat 540  
caaatgatca atacagcaaa gaatacttta aaaggattg aatgtattta cgctctatat 600  
aaaaagaacc gcaggctctc tcagatctac ggattttcgc catgccacga aattagcatc 660  
atgctagcaa gttaa 675

# ES 2 536 887 T3

<210> 94  
<211> 675  
<212> DNA

5 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 94

```
atgaactatt tcagatataa acaatttaac aaggatgtta tcaactgtagc cgttggttac      60
tatctaagat atacattgag ttatcgtgat atatctgaaa tattaaggga acgtggtgta     120
aacgttcattc attcaacggt ctaccgttgg gttcaagaat atgcccattt tttgtatcaa     180
at ttggaaga aaaagcataa aaaagcttat tacaatggc gtattgatga gacgtacatc     240
aaaataaaag gaaaatggag ctatttatat cgtgccattg atgcagaggg acatacatta     300
gatatttggg tgcgtaagca acgagttaat cattcagcat atgcgtttat caaacgtctc     360
attaaacaat ttggtaaacc tcaaaaggta attacagatc aggcaccttc aacgaaggta     420
gcaatgggcta aagtaattaa agcttttaaa cttaaacctg actgtcattg tacatcgaaa     480
tatctgaata acctcattga gcaagatcac cgtcatatta aagtaagaaa gacaaggat      540
caaagtatca atacagcaaa gaatacttta aaaggattg 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 cgttggttac      60
tatctaagat atacattgag ttatcgtgat atatctgaaa tattaaggga acgtggtgta     120
aacgttcattc attcaacggt ctaccgttgg gttcaagaat atgcccattt tttgtatcaa     180
at ttggaaga aaaagcataa aaaagcttat tacaatggc gtattgatga gacgtacatc     240
aaaataaaag gaaaatggag ctatttatat cgtgccattg atgcagaggg acatacatta     300
gatatttggg tgcgtaagca acgagataat cattcagcat atgcgtttat caaacgtctc     360
attaaacaat ttggtaaacc tcaaaaggta attacagatc aggcaccttc aacgaaggta     420
gcaatgggcta aagtaattaa agcttttaaa cttaaacctg actgtcattg tacatcgaaa     480
tatctgaata acctcattga gcaagatcac cgtcatatta aagtaagaaa gacaaggat      540
caaagtatca atacagcaaa gaatacttta aaaggattg 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 gtaaagtga 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

<400> 102  
 45 ctctataaac atcgtatgat attgc 25

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

<220>  
 <223> cebador PCR para orfX

55 <220>  
 <221> fuente  
 <222> (1)..(20)  
 <223> S. aureus

60 <400> 103  
  
 accaaacgac atgaaatca 20

65 <210> 104  
 <211> 1256

ES 2 536 887 T3

<212> DNA  
<213> Staphylococcus aureus

<400> 104

5 ttcagaaaaa tgattaatgt gtttcaataa aatctctcct tctttgtgaa catattcatt 60  
 tttatactaa ttaatataat ttccaaaaaa gtttctgttt aaaagtgaaa aatattattt 120  
 accgtttgac ttaaactctc 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  
 actaattcac aatcattttt acttccattt acaaaaacat ccaactgttc taacacaaaa 480  
 tctaataaac ttccttttat taatcgtagg cattgtatat ttcctttcat tctttcttga 540  
 ttcoattagt 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 acacttggtc aattaacaca 840  
 acccgcatca tttgatgtgg gaatgtcatt ttgctgaatg atagtgcgta gttactgcgt 900  
 tgtaagacgt ccttgtgcag gccgtttgat ccgccaatga cgaatacaaa gtogctttgc 960  
 ccttgggtca tgcggttggt caattcttgg gccaatcctt cgggaagatag catctttcct 1020  
 tgtatttcta atgtaatgac tgttgattgt ggtttgattt tggctagtat tcgttggcct 1080  
 tctttttctt ttacttgctc 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 cattacttat gataagt 27

<210> 106  
<211> 27  
<212> DNA

30 <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 gatatg 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  
  
 cctaatttt agttttatt 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 cacaacctaa ttttagttt tattatgat 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 ttcattcacc 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

15 <210> 111  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> cebador PCR

25 <220>  
 <221> fuente  
 <222> (1)..(24)  
 <223> Desconocida

<400> 111  
  
 atgggagtcc ttcgctattc tgtg 24

30 <210> 112  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

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

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

45 <400> 112  
  
 cacttttat tctcaaaga ttgagc 27

50 <210> 113  
 <211> 28  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

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

60 <220>  
 <221> fuente  
 <222> (1)..(28)  
 <223> S. aureus resistente a meticilina

<400> 113  
  
 atggaaattc ttaatcttta cttgtacc 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 v  
  
 <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 v  
 40  
 <220>  
 <221> fuente  
 <222> (1)..(27)  
 <223> S. aureus resistente a meticilina  
 45  
 <400> 116  
  
 acaaacttgg 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 catgattct 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 cgatgatttt 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 atgcagggtcc 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 ttcgatgtg 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

tgacccatat 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  
 gttgatccg 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

40 ggcataaatg tcaggaaaat atc 23  
 <210> 132  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> cebador PCR para orfX

50 <220>  
 <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  
 ttcgaggttg 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 gccttga 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  
 tttgcaaca 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  
  
 cgtttgctg 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 ttcttcac atcggcata 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 cataaccattt 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  
 atgtctggtc 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 ctgtaaataat 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 tttg 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  
  
 agtttgatt 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 aaaactgtg 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 gcaaaaatta 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 cgcgagg 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 cgcgagg 37

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

60 <220>  
<223> Sonda para orfX

65 <220>  
<221> fuente

ES 2 536 887 T3

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

<400> 164

5 cccgcgcgta gttactacgt tgtaagacgt cccgcggg 37

<210> 165  
 <211> 1282

10 <212> DNA  
 <213> Staphylococcus aureus

<400> 165

accatnttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60  
 gaaaaacgtt taggccata 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 tcttacaacg cagtaactat 360  
 15 gcactatcat ttagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcggggtgt gttaattgaa 420  
 caagtgtata gagcatttaa gattatgctg ggagaagcgt accacaaata aactaaaaa 480  
 atatgagaaa attattaaat tagctcaaat ctttgaagaa taaaaagtga atattaagtt 540  
 tgataattta ggtacaagta aagattaaga atttccatta tttatacat ggtgtgtaaa 600  
 tgcacttctt tttgtattag atgtttgcag taagcgtatg aaagaagatg ctaataaata 660  
 tgtgaggaat gattacgata ctagataagc ggctaataa attttttaa gtacatatat 720  
 agacatattt ttcatttagt aaaatnttga atttacttt gctaagacta gtgtctagaa 780  
 atttataatg atttattaac acctatnttga aacttaagta taataaatga ttcggatntt 840  
 atntttaaata aagacaaact tgaacgtagc aaagtagntt ttatgataaa taataagntt 900  
 taataatgtg acgctnttat ataagcacat tattatgaac aatgtgaatt gagcatctac 960  
 aattacatta ataaatatat aaatgatgat ttaaattcac atatnttat aatacacata 1020  
 ctatatgaaa gntttgatta tccgaataaa tgctaaaatt aataaaataa ttaaaggaat 1080  
 catacttatt atacgtatac gnttagctac tgaactactg gattcatttg gagattctag 1140  
 tagntctntt tcaatctcta aatctaaatc agntttgtaa taaccattaa ttctaatct 1200  
 ttcacttagc tctgtactnt tttcatcatt tttatctntg ttgatatgnt ccattnttctc 1260  
 gcctctnttt aatcaagtag aa 1282

<210> 166  
 <211> 1108

20 <212> DNA  
 <213> Staphylococcus aureus

<400> 166

25

## ES 2 536 887 T3

```

accatTTtag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat      60
gaaaaacgtt taggccata 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 gacattcca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa      420
caagtgtata gagcatttaa gattatgctg ggagaagcgt accacaaata aactaaaaa      480
atatgagaaa attattaaat tagctcaaat ctttgaagaa taaaagtga atattaagtt      540
tgataattta ggtacaagta aagattaaga atttccatta tttaatacat ggtgtgtaaa      600
tcgacttctt tttgtattag atgtttgcag taagcgatgt aaagaagatg ctaataaata      660
tgtgaggaat gattacgata ctagataagc ggctaataga attttttaa gtacatatat      720
agacatattt ttcatttagt aaaatttga 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 2 536 887 T3

```

ttagctgtag ggaactaaa agagaaatat tggaagcaag ccatagcaga atatgaaaa    60
cgtttaggcc catacaccia gatagacatc atagaagttc cagacgaaaa agcaccagaa    120
aatatgagcg acaaagaaat tgagcaagta aaagaaaaag aaggccaacg aatactagcc    180
aaaatcaaac cacaatccac agtcattaca ttagaaatac aaggaaagat gctatcttcc    240
gaaggattgg cccaagaatt gaaccaacgc atgaccaag ggcaaagcga cttgtattc     300
gtcattggcg gatcaaacgg cctgcacaag gacgtcttac aacgcagtaa ctatgacta     360
tcatttagca aaatgacatt cccacatcaa atgatgcggg ttgtgtaaat tgaacaagtg     420
tatagagcat ttaagattat gcgtggagaa gcatatcata aatgatgcgg ttttttcagc     480
cgcttcataa aggggggtga tcatatcgga acgtatgagg tttatgagaa ttgctgctat     540
gtttttatga agcgtatcat aaatgatgca gtttttgata attttttctt taccagagat     600
tttactaaaa atcccctcaa agtttgtttt tttcaacttc aactttgaag ggaataaata     660
aggaacttat ttatatatat cttttatctc attaatatct atttttttat taataatatt     720
ataaatatta aattctttag aaaagtcact atcactctta ttcttcatac taaacgttat     780
taatctaata atatcagcta ctatttcttt aaattctatt gcatcttctt tttataagt     840
agcgcctgta 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 tcactttttt tgatagatga atactgatct tcttctatct ttccaggcat    1260
gtcaatcatg aaaatactca tctcttttat atttccatct atagtatata ttatataata    1320
tggaatactt aatatatccc ctaatgatag ctggtatata ttatgatact gatatttaac    1380
gctaataatt ttaataagat tatttagaca 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 2 536 887 T3

gctgtaggga aactaaaaga gaaatattgg aagcaagcca tagcagaata tgaaaaacgt	60
ttaggcccat 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 atgcggggtg tgttaattga gcaagtgtat	420
agagcattta agattatgcg tggagaagca tatcataaat gatgcggttt tttcagccgc	480
ttcataaagg gatthtgaat gtatcagaac atatgaggtt tatgtgaatt gctgttatgt	540
ttttaagaag catatcataa gtgatgcggt ttttattaat tagttgctaa aaaatgaagt	600
atgcaatatt aattattatt aaatthtgat atattttaaag aaagattaag tttaggggtga	660
atgaatggct tatcaaagtg aatatgcatt agaaaatgaa gtacttcaac aacttgagga	720
attgaactat gaaagagtaa atatacataa tattaaatta gaaattaatg aatatctcaa	780
agaactagga gtgthtgaaaa atgaataagc agacaaatac tccagaacta agatttccag	840
agthttagta ggaatgaaa aaaaggaaat taggtgaagt agtaaattat aaaaatggtg	900
gthcatttga aagthtagtg aaaaaccatg gtgtatataa actcataact cthaaatctg	960
thaaatacaga aggaaagtht tgtaattctg gaaaatatac cgatgataaa thgtthtga	1020
cattgtgtaa tgatacttht gtaatgatac tgagcgagca agcaccagga ctagthtgaa	1080
tgactgcaat tatacctaath aataatgagth atgtactaaa tcaacgagta gcagcactag	1140
thcctaacaath atthtagath agthcaathc thcthaagth aathaataga aaccagaath	1200
atthcagthg gagathctgct ggaacaaaag thaaaaatath thcthaagga cathga	1256

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

10 <400> 169

## ES 2 536 887 T3

ttacattaga aatacaagga aagatgctat cttccgaagg attggcccaa gaattgaacc 60  
aacgcatgac ccaagggcaa agcgactttg ttttcgtcat tggcggatca aacggcctgc 120  
acaaggacgt cttacaacgc agtaactacg cactatcatt cagcaaaatg acattcccac 180  
atcaaatgat gcggggttg ttaattgaac aagtgtacag agcatttaag attatgcgag 240  
gagaagctta tcataagtaa tgaggttcat gatttttgac atagttagcc tccgcagtct 300  
ttcatttcaa gtaaataata gcgaaatatt ctttatactg aatacttata gtgaagcaaa 360  
gttctagctt tgagaaaatt ctttctgcaa ctaaataatag taaattacgg taaaatataa 420  
ataagtacat attgaagaaa atgagacata atatatttta 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 ccttggatth 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 2 536 887 T3

```

cattagaaat acaaggaaag atgctatcct cgaaggatt ggccaagaa ttgaaccaac      60
gcatgaccca agggcaaagc gactttgtat tcgtcattgg cggatcaaac ggctgcaca      120
aggacgtcctt acaacgcagt aactatgcac tatcatttag caaaatgaca tccccacatc      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
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
cttgatttc aatatatgat gagaatataa caaagaaac aaaggatgga tattatttgg      840
tatatctttt tcatccgaa ggagaaggca tatacttatac tttgaatcaa ggatggtaa      900
agataagtga tatgtttccg cgggataaaa atgctgcaaa acaaagagca ttaactttat      960
cttccgaact caataaatat attacatcaa atgaatttaa tactggaaga ttttattacg      1020
cagaaaataa agattcatct tatgatttaa aaaatgatta tccatcagga tattctcatg      1080
gatcaataag attcaaatat tatgatttga atgaaggatt cacagaagaa gatatgctag      1140
aggatttaaa gaaattttta gaactattta atgaattagc ttcaaaagtt acaaaaacat      1200
cctatgatag cttggccaat 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 taggccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca      120
10 ccagaaaata tgaactacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata      180

```

ES 2 536 887 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 ataatttgtt atgaggataa 960  
tattaaagaa ccactttcaa cgataaaata c 991

<210> 172

<211> 748

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 172

atcgtttaac gtgtcacatg atgcgataga tccgcaattt tatattttcc ataataacta 60  
taagaagttt acgattttaa cagatacggg ttacgtgtct gatcgtatga aaggatgat 120  
acgtggcagc gatgcattta tttttgagag taatcatgac gtcgatatgt tgagaatgtg 180  
tcgttatcca tggaagacga aacaacgcat tttagggcat atgggtcatg tatctaata 240  
ggatgcgggt catgcgatga cagacgtgat tacaggtaac acgaaacgta tttacttacc 300  
gcatttatca caagataata atatgaaaga tttggcgcgt atgagtgttg gccaaagtatt 360  
gaacgaacac gatattgata cggaaaaaga agtattgcta tgtgatcgg 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  
agtgatgatg gattatggca tgtctcga 748

<210> 173

15 <211> 917

<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 173

20

## ES 2 536 887 T3

```

aaatacaagg aaagatgcta tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga      60
cccaagggca aagcgacttt gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg      120
tcttacaacg tagtaactac gcactatcat tcagcaaaat gacattcca catcaaatga      180
tgcgggttgt gttaattgag caagtgtata gagcatttaa gattatgctg ggagaagcat      240
atcataaatg atgctggttt ttcagccgct tcataaaggg attttgaatg tadcagaaca      300
tatgagggtt atgtgaattg ctggttatgtt ttaagaagc ttatcataag taatgaggtt      360
catgatTTTT gacatagtta gcctccgag tctttcattt caagtaaata atagcgaat      420
attctttata ctgaataactt atagtgaagc aaagtcttag ctttgagaaa attctttctg      480
caactaaata tagtaaatta cggtaaaata taaataagta catattgaag aaaatgagac      540
ataatatatt ttataatagg aggaatttc aatgataga caactttatg caggtcctta      600
aattaattaa agagaaacgt accaataatg tagttaaaaa atctgattgg gataaaggtg      660
atctatataa aactttagtc catgataagt tacccaagca gttaaaagtg catataaaag      720
aagataaata ttcagttgta gggaaggttg ctactgggaa ctatagtaa gttccttgga      780
tttcaatata tgatgagaat ataacaaaag aaacaaagga tggatattat ttggtatata      840
ttttcatcc ggaaggagaa ggcataact tatctttgaa tcaaggatgg tcaaagataa      900
gtgatatggt tccgcgg                                     917

```

<210> 174

<211> 1132

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 174

```

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

```

## ES 2 536 887 T3

```

ggattggccc aagaattgaa ccaacgcatg acccaagggc aaagcgactt tgtattcgtc      300
attggcggat caaacggcct gcacaaggac gtcttacaac gtagtaacta cgcactatca      360
ttcagcaaaa tgacattccc acatcaaatg atgcggggtg tgttaattga gcaagtgtat      420
agagcattta agattatgcg tggagaagca tatcataaat gatgcggttt tttcagccgc      480
ttcataaagg gatthttgaat gtatcagaac atatgagggtt tatgtgaatt gctgttatgt      540
ttttaagaag cttatcataa gtaatgaggt tcatgatttt tgacatagtt agcctccgca      600
gtctttcatt tcaagtaaat aatagcgaaa tattctttat actgaatact tatagtgaag      660
caaagtctta 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 ctttttcatc 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
tttaggcccc 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 cacatcaaat gatgcgggtt gtgttaattg agcaagtgt      420
tagagcattt aagattatgc gtggagaagc atatcataaa tgatgcgggt tttcagccg      480
cttcataaag ggatthttgaa tgtatcagaa catatgaggt ttatgtgaat tgctgttatg      540
10 tttttaagaa gcttatcata agtaatgagg ttcattgatt ttgacatagt tagcctccgc      600

```

## ES 2 536 887 T3

```

agtccttcat ttcaagtaaa taatagcgaa atattcttta tactgaatac ttatagttaa      660
gcaaagtctt agctttgaga aaattctttc tgcaactaaa tatagtaaat tacggtaaaa      720
tataaataag tacatattga agaaaatgag acataatata ttttataata ggaggggaatt      780
tcaaagtata gacaacttta tgcaggtcct taaattaatt aaagagaaac gtaccaataa      840
tgtagttaa aaatctgatt gggataaagg tgatctatat aaaactttag tccatgataa      900
gttaccacaag cagttaaaag tgcatataaa agaagataaa tattcagttg tagggaaggt      960
tgctactggg aactatagta aagttccttg gatttcaata tatgatgaga atataacaaa     1020
agaaacaaag gatggatatt atttggtata tcttttcat 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 gaaaaacggt 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 ttggcggatc     300
aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg tagtaactac gcactatcat tcagcaaaat     360
gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gtttaattgag caagtgtata gagcgtttaa     420
gattatgctg ggagaagcat atcataaatg atgcggtttt ttcagccgct tcataaaggg     480
atthtgaatg tatcagaaca tatgaggttt atgtgaattg ctgttatggt ttttaagaagc     540
ttatcataag taatgaggtt catgattttt gacatagtta gcctccgag tctttcattt     600
caagtaaaata atagcgaat attctttata ctgaataactt atagtgaagc aaagttctag     660
ctttgagaaa attctttctg caactaaata tagtaaatga cggtaaaata taaataagta     720
catattgaag aaaatgagac ataatatatt ttataatagg agggaatttc aatgataga     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
tgatattat ttggtatctc tttttcatcc ggaaggagaa ggcataact tatctttgaa     1080
tcaagga                                           1087

```

<210> 177

15 <211> 903

<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 177

20



## ES 2 536 887 T3

```

caaggaaaga tgctatcttc cgaaggattg gcccaagaat tgaaccaacg catgacccaa      60
gggcaaagcg actttgtatt cgtcattggc ggatcaaacg gcctgcacaa ggacgtctta      120
caacgtagta actacgcact atcattcagc aaaatgacat tcccacatca aatgatgcgg      180
gttgtgttaa ttgagcaagt gtatagagca ttaaagatta tgcgtggaga agcatatcat      240
aatgatgcg gttttttcag ccgcttcata aagggatttt gaatgtatca gaacatatga      300
ggtttatgtg aattgctggt atgtttttaa gaagcttata ataagtaatg aggttcatga      360
tttttgacat agttagcctc cgcagtcttt catttcaagt aaataatagc gaaatattct      420
ttatactgaa tacttatagt gaagcaaagt tctagctttg agaaaattct ttctgcaact      480
aaatatagta aattacggtc aaatataaat aagtacatat tgaagaaaat gagacataat      540
atattttata ataggaggga atttcaaatg atagacaact ttatgcaggt ccttaaatta      600
attaaagaga aacgtaccaa taatgtagtt aaaaaatctg attgggataa aggtgatcta      660
tataaaactt tagtccatga taagttacc cagcagttaa aagtgcatat aaaagaagat      720
aaatattcag ttgtagggaa ggttgctact gggaaactata gtaaagttcc ttggatttca      780
atatatgatg agaatataac 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 2 536 887 T3

```

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

```

<210> 179

<211> 1121

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 179

```

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

```

## ES 2 536 887 T3

```

agggatTTTTg aatgtatcag aacatatgag gtttatgtga attgctgtta tgtttttaag      540
aagcttatca taagtaatga gttcatgat ttttgacata gttagcctcc gcagtctttc      600
atttcaagta aataatagcg aaatattcctt tatactgaat acttatagtg aagcaaagtt      660
ctagctttga gaaaattcctt tctgcaacta aatatagtaa attacggtaa aatataaata      720
agtacatatt gaagaaaatg agacataata tttttataa taggagggaa tttcaaatga      780
tagacaactt tatgcaggtc cttaaattaa ttaaagagaa acgtaccaat aatgtagtta      840
aaaaatctga ttgggataaa ggtgatctat ataaaacttt agtccatgat aagttacca      900
agcagttaaa agtgcataata aaagaagata aatattcagt tgtagggaag gttgctactg      960
ggaactatag taaagttcct tggatttcaa tatatgatga gaatataaca aaagaacaaa     1020
aggatggata ttatttggtg tatctttttc atccggaagg agaaggcata tacttatctt     1080
tgaatcaagg atggtcaaag ataagtgata tgtttccgcg g                               1121

```

<210> 180

<211> 1121

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 180

```

tagctgtagg gaaactaaaa gagaaatatt ggaagcaagc catagcagaa tatgaaaaac      60
gtttaggccc atacaccaag 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 acgtcttaca acgcagtaac tatgcactat     360
catttagcaa aatgacattc ccacatcaaa tgatgcgggt tgtgttaatt gaacaagtgt     420
atagagcatt taagattatg cgtggagaag catatcataa atgatgcggg tttttcagcc     480
gcttcataaa gggatTTTgA atgtatcaga acatatgagg tttatgtgaa ttgctgttat     540
gtttttaaga agcttatcat aagtaatgag gttcatgatt tttgacatag ttagcctccg     600
cagtctttca tttcaagtaa ataatagcga aatattcctt aactgaata cttatagtga     660
agcaaagttc tagctttgag aaaattcctt ctgcaactaa atatatgtaa ttacggtaaa     720
atataaataa gtacatattg aagaaaatga gacataatat attttataat aggagggaa     780
10 ttcAAatgat agacaacttt atgcaggTcc ttaaattaat taaagagaaa cgtaccaata     840
atgtagttaa aaaatctgat tgggataaag gtgatctata taaaacttta gtocatgata     900
agttacccaa gcagttaaaa gtgcatataa aagaagataa atattcagtt gtagggaagg     960
ttgctactgg gaactatagt aaagttcctt ggatttcaat atatgatgag aatataacaa     1020
aagaacaaa ggatggatat tatttggtat atctttttca tccggaagga gaaggcatat     1080
acttatcttt gaatcaagga tggTcaaaga taagtgatat g                               1121

```

<210> 181

15 <211> 1131

<212> DNA

# ES 2 536 887 T3

<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
gagcatttaa gattatgctg ggagaagcat atcataaatg atgcggtttt ttcagccgct      480
tcataaaggg attttgaatg tatcagaaca tatgaggttt atgtgaattg ctggttatgtt      540
ttaaagaagc ttatcataag taatgaggtt catgatTTTT gacatagtta gcctccgag      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 aactttagtc catgataagt      900
tacccaagca gttaaaagtg catataaaag aagataaata ttcagttgta gggaagggtg      960
ctactgggaa ctatagtaaa gttccttgga tttcaatata tgatgagaat ataacaaaag     1020
aaacaaagga tggatattat ttggtatata tttttcatcc ggaaggagaa ggcataact     1080
5  tatctttgaa tcaaggatgg tcaaagataa gtgatatggt tccgcgggat a           1131
```

<210> 182

<211> 896

<212> DNA

10 <213> Staphylococcus aureus

<400> 182

## ES 2 536 887 T3

```

cattagaaat acaaggaag atgctatctt ccgaaggatt ggcccaagaa ttgaaccaac      60
gcatgaccca agggcaaagc gactttgtat tcgtcattgg cggatcaaac ggctgcaca      120
aggacgtctt acaacgcagt aactatgcac tatcathtag caaaatgaca ttoccacatc      180
aatgatgctg ggttgtgtta attgaacaag tgtatagagc atttaagatt atgctggag      240
aagcatatca taaatgatgc ggttttttca gccgcttcat aaaggattt  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 ttgaagaaa      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
cttggatctt aatatatgat gagaatataa caaaagaaac aaaggatgga tattatcttg      840
tatatctttt tcatccggaa ggagaaggca tatacttatc tttgaatcaa ggatgg      896

```

<210> 183

<211> 1125

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 183

```

ggaaactaaa agagaaatat tgaagcaag ccatatcaga atatgaaaa 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 atgaccaag ggcaaagcga ctttgtattc gttattggcg      300
gatcaaacgg cctgcacaag gacgtcttac aacgcagtaa ctatgacta tcattcagca      360
aatgacatt tccacatcag atgatgcggg ttgtgttaat tgagcaagtg tatagagcat      420
10 ttaagattat gcgtggggaa gcatatcata aatgatgcgg ttttttcagc cgcttcataa      480

```

## ES 2 536 887 T3

```

agggatTTTTg aatgtatcag aacatatgag gtttatgtga attgctgtta tgtttttaag      540
aagcttatca taagtaatga ggttcatgat ttttgacata gtttagcctcc gcagtctttc      600
atltcaagta aataatagcg aaatattcct tatactgaat acttatagtg aagcaaagtt      660
ctagctttga gaaaattcct tctgcaacta aatatagtaa attacggtaa aatataaata      720
agtacatatt gaagaaaatg agacataata tttttataa taggaggga tttcaaataga      780
tagacaactt tatgcaggtc cttaaattaa ttaaagagaa acgtaccaat aatgtagtta      840
aaaaatctga ttgggataaa ggtgatctat ataaaacttt agtccatgat aagttacca      900
agcagttaaa agtgcataata aaagaagata aatattcagt tgtaggaag gttgctactg      960
ggaactatag taaagttcct tggatttcaa tatatgatga gaatataaca aaagaaaca      1020
aggatggata ttattttgta tatctttttc atccggaag agaaggcata tacttatcct      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
tttgaggac 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 tggccaaga attgaaccaa      360
cgcatgacct aagggcaaag cgactttgta ttcgtcattg ggggatcaaa cggcctgcac      420
aaggacgtct tacaacgcag taactatgca ctatcattta gcaaaatgac attcccacat      480
caaatgatgc gggttgtggt aattgaacaa gtgtatagag catttaagat tatgcgtgga      540
gaggcttata ataaataaaa ctaaaatta 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 2 536 887 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 ctttgatttc 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
atltcaagta aataatagcg aaatattcct tatactgaat acttatagtg aagcaaagtt      660
ctagctttga gaaaattcct tctgcaacta aatatagtaa attacgtaa aatataaata      720
agtacatatt gaagaaaatg agacataata tttttataa taggaggga tttcaaataga      780
tagacaactt tatgcaggtc cttaaattaa ttaaagagaa acgtaccaat aatgtagtta      840
aaaaatctga ttgggataaa ggtgatctat ataaaacttt agtccatgat aagttacca      900
agcagttaaa agtgcataa aaagaagata aatattcagt tgtaggaag gttgctactg      960
ggaactatag taaagttcct tggatttcaa tatatgatga gaatataaca aaagaaaca      1020
aggatggata ttattttgta tatctttttc atccggaag agaaggcata tacttatcct      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 attcgctatt ggcgatcaa acggcctgca      120
caaggacgtc ttacaacgca gtaactatgc actatcattt agcaaatga cattcccaca      180
10 tcaaatgatg cgggttgtgt taattgaaca agtgtataga gcatttaaga ttatgcgtgg      240

```

## ES 2 536 887 T3

```

agaagcatat cataaatgat gcggtttttt cagccgcttc ataaagggat ttgfaatgta      300
tcagaacata tgaggtttat gtgaattgct gttatgtttt taagaagctt atcataagta      360
atgaggttca tgatTTTTga catagttagc ctccgcagtc tttcatttca agtaaataat      420
agcgaataat tctttatact gaatacttat agtgaagcaa agttctagct ttgagaaaat      480
tctttctgca actaaatata gtaaattacg gtaaaatata aataagtaca tattgaagaa      540
aatgagacat aatatTTTT ataataggag ggaatttcaa atgatagaca actttatgca      600
ggtccttaaa ttaattaaag agaaacgtac caataatgta gttaaaaaat ctgattggga      660
taaaggatgat ctatataaaa ctttagtcca tgataagtta cccaagcagt taaaagtgca      720
tataaaagaa gataaatatt cagttgtagg gaaggttgct actgggaact atagtaaagt      780
tccttgatt tcaatatatg atgagaatat aacaaaagaa acaaaggatg gatattattt      840
ggtatatcct 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 v
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 v

<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 2 536 887 T3

cggtaataaa aaatacgata tagatgaata acaaaacagt gaagcaatcc gtaacgatgg	60
ttgcttcaact gttttattat gaattattaa taagtgctgt tacttctccc ttaaatacaa	120
tttcttcatt ttcattgtat gttgaaagtg aactgtaac gagtccattt tcttttttta	180
tggatttctt atttgtaatt tcagcgataa cgtacaatgt attacctggg tatacaggtt	240
taataaattt aacgttattc atttgtgttc ctgctacaac ttcttctccg tatttacctt	300
cttctacca taatttfaat gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt	360
taaatctact ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaagttg	420
ttgcaaattg gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct ttttgttttg aatgtttctc	480
ctactataaa atcatcgtat ttcataatag tctctcttctc ttattcaaat taatttttta	540
gtatgtaaca tgtaaaggt aagtctaccg tcaactgaaac gtaagactca cctctaactt	600
tctattgaga caaatgcacc attttatctg cattgtctgt aaagatacca tcaactcccc	660
aattagcaag ttggtttgca cgtgctgggt 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
gcttaacat acttttagaa agtgctagtc cattcgggtcc agtaatacct ttaatttcta	1020
catttaaatt catattatat tcatttgcta tttttactac atcatcgaaa gttggcaaat	1080
gttcatcttt gaatttttca ccaaaccaag atcctgcaga agcatcttta atttcatcat	1140
aattcaattc agttatttcc cggacatat ttgtagtccg ttctaataaa tcatcatgaa	1200
tgataatcag ttgttcatct tttgtaattg caacatctaa ctccaaccag tttatacctt	1260
ctacttctga agcagcttta aatgatgcaa ttgtatttctc cggagcttta ctaggtaatc	1320
ctctatgtcc atatacagtt agcatattac ctctccttgc atttttattt ttttaattaa	1380
cgtaactgta ttatcacatt aatcgactt ttatttccat taaaagaga tgaatatcat	1440

## ES 2 536 887 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 tgcccaatt ttgtatcaaa tttggaagaa 1800
aaagcataaa aaagcttatt acaaatggcg tattgatgag acgtacatca aaataaaagg 1860
aaaatggagc tatttatatc gtgccattga tgcagaggga catacattag atatttggtt 1920
gcgtaagcaa cgagataatc attcagcata tgcgtttatc aaacgtctca ttaaacaatt 1980
tggtaaacct caaaaggtaa ttacagatca ggcaacctca acgaaggtag caatggctaa 2040
agtaattaa gcttttaaac ttaaacctga ctgtcattgt acatcgaat 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 ttoaccaggt 120
tcaactcaaa aatattaac agcaatgatt gggtaaata acaaacatt 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
atttcaaag aaaatatcaa tctattaact gatggtatgc aacaagctgt aaataaaaca 660
cataaagaag atatttatag atcttatgca aacttaattg gcaaatccgg tactgcagaa 720
10 ctcaaaatga aacaaggaga aactggcaga caaattgggt ggtttatatc atatgataaa 780

```

## ES 2 536 887 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
atltgtaatt tcagcgataa cgtacaatgt attacctggg tatacagggt taataaattt     1140
aacgttattc atltgtgttc ctgctacaac ttcttctcog tatttacctt cttctaccca     1200
taatttaaam gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt taaatctact     1260
ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaaagttg ttgcaaatg     1320
gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct tttgttttg aatgtttctc ctactataaa     1380
atcatcgat  tcatatatg tctctcttcc ttattcaaam taatttttta gtatgtaaca     1440
tgttaaaggt aagtctaccg tcaactgaaac gtaagactca cctctaactt tctattgaga     1500
caaatgcacc atlttatctg cattgtctgt aaagatacca tcaactcccc aattagcaag     1560
ttggtttgca cgtgctggtt tgtttacagt ccatacgttc aattcataac ccgcttcttt     1620
taccatlttt actlttgctt tagtaagttt ggcatcttca gtgtttacta ttttagcatt     1680
acagtaatct aaaagtgttc tccagtcttc acgaaacgaa gttgtatgga atataactgc     1740
tctgttatat tgtggcatga tttctctctgc aagtlttaaca agcacaacat taaagcttga     1800
aatgagcact tcttgattct gatttaagtt tgttaattgt tcttccactt gettaacat     1860
actlttagaa agtgctagtc cattcggtcc agtaatacct ttttaatteta catttaaatt     1920
catattatat tcaattgcta ttttactac atcatcgaaa gttggcaaat gttcatcttt     1980
gaatttttca ccaaaccaag atcctgcaga agcatcttta atltcatcat aattcaattc     2040
agttatlttc ccggacatat ttgtagtccg ttctaaataa tcatcatgaa tgataatcag     2100
ttgttcatct tttgtaattg caacatctaa ctccaaccag tttatacctt ctacttctga     2160
agcagcttta aatgatgcaa ttgtatlttc cggagcttta ctaggtaatc ctctatgtcc     2220
atatacagtt agcatattac ctctccttgc atltttatltt ttttaattaa cgtaactgta     2280
ttatcacatt aatcgactt ttatlttccat taaaagaga tgaatatcat aaataagaa     2340
gtcgatagat tcgtattgat tatggagtta atctacgtct catctcattt ttaaaaaatc     2400
atltatgtcc                                     2410

```

<210> 191

<211> 1858

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 191

## ES 2 536 887 T3

```

caccttcata tgacgtctat ccatttatgt atggcatgag taacgaagaa tataataaat      60
taaccgaaga taaaaaagaa cctctgctca acaagttcca gattacaact tcaccaggtt      120
caactcaaaa aatattaaca gcaatgattg ggtaaataa caaacatta gacgataaaa      180
caagttataa aatcgatggt aaaggttggc aaaaagataa atcttggggg gttacaacg      240
ttacaagata tgaagtggta aatggtaata tcgacttaaa acaagcaata gaatcatcag      300
ataacatttt ctttgctaga gtagcactcg aattaggcag taagaaatth gaaaaggca      360
tgaaaaaact aggtgttggg gaagatatac caagtgatta tccattttat aatgctcaaa      420
tttcaaacaa aaatttagat aatgaaatat tattagctga ttcaggttac ggacaaggtg      480
aaatactgat taaccagta cagatccttt caatctatag cgcattagaa aataatggca      540
atattaacgc acctcactta ttaaagaca cgaaaaacaa agtttggag aaaaatatta      600
tttccaaaga aaatatcaat ctattaactg atggtatgca acaagtcgta aataaacac      660
ataaagaaga ttttataga tcttatgcaa acttaattgg caaatccggt actgcagaac      720
tcaaaatgaa acaaggagaa actggcagac aaattgggtg gtttatatca tatgataaag      780
ataatccaaa catgatgatg gctattaatg ttaaagatgt acaagataaa ggaatggcta      840
gctacaatgc caaaatctca 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
tttgaatth cagcgataac gtacaatgta ttacctgggt atacaggtht aataaattta     1140
acgttattca tttgtgttcc tgctacaact tcttctccgt atttaccttc ttctacccat     1200
aatttaaag atattgaaag tgtatgcatg ccagatgcaa tgatacctth aatctactt     1260
tgttctgctt tttctttatc tatatgcata tattgaggat caaaagtgtg tgcaaattgg     1320
ataatthctt cttctgtaat atgaaggctt tttgttttga atgtttctcc tactataaaa     1380
tcatcgtatt tcatatatgt ctctctttct tattcaaatt aatthtttag tatgtaacat     1440
gttaaaggta agtctaccgt cactgaaacg taagactcac ctctaactth ctattgagac     1500
aaatgcacca ttttatctgc attgtctgta aagataccat caactccca attagcaagt     1560
tggtttgcac gtgctggtt gtttacagtc catacgttca attcataacc cgcttcttht     1620
accatthtta cttttgctth agtaagtht gcatcttcag tgtttactat tttagcatta     1680
cagtaatcta aaagtgttct ccagtcttca cgaaacgaag ttgtatggaa tataactgct     1740
ctgttatatt gtggcatgat tcttctgca agtttaacaa gcacaacatt aaagcttgaa     1800
atgagcactt cttgattctg atttaagtht gttaatgtt cttccacttg cttaacca     1858

```

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

10 <400> 192

## ES 2 536 887 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 aatcctgggg tggttacaac      240
gttacaagat atgaagtggg aaatggtaat atcgacttaa aacaagcaat agaatcatca      300
gataaacattt 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 aagtttgaa 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
atltgtaatt tcagcgataa cgtacaatgt attacctggg tatacagggt taataaattt     1140
aacgttatcc atltgtgttc ctgctacaac ttcttctccg tatttacctt ctctaccaca     1200
taatttaaas gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt taaatctact     1260
ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaaagttg ttgcaaattg     1320
gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct ttttgttttg aatgtttctc ctactataaa     1380
atcatcgtat tcatatatg tctctcttcc ttattcaaas taatttttta gtatgtaaca     1440
tgttaaaggt 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 tgtaattgt tcttccactt gcttaacat     1860
a                                                                                   1861

```

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

10 <400> 193

ES 2 536 887 T3

ccaccttcat atgacgtcta tccatttatg tatggcatga gtaacgaaga atataataaa 60  
 ttaaccgaag ataaaaaaga acctctgctc aacaagttcc agattacaac ttcaccaggt 120  
 tcaactcaaa aatatattaac agcaatgatt gggttaaata acaaaacatt agacgataaa 180  
 acaagttata aatcggatgg taaaggttgg caaaaagata aatcttgggg tggttacaac 240  
 gttacaagat atgaagtggg aatggtaat atcgacttaa aacaagcaat agaatcatca 300  
 gataacattt tctttgctag agtagcactc gaattaggca gtaagaaatt tgaaaaaggc 360  
 atgaaaaaac taggtgttgg tgaagatata ccaagtgatt atccatttta taatgctcaa 420  
 atttcaaaca aaaatrtaga taatgaata ttattagctg attcaggtta cggacaaggt 480  
 gaaatactga ttaaccagc acagatcctt tcaatctata ggcattaga aaataatggc 540  
 aatattaacg cacctcactt attaaaagac acgaaaaaca aagtttggaa gaaaaatatt 600  
 atttccaag aaaatatcaa tctattaact gatggatgc aacaagtcgt aaataaaca 660  
 cataaagaag atatttatag atcttatgca aacttaattg gcaaatccgg tactgcagaa 720  
 ctcaaaatga aacaaggaga aactggcaga caaattgggt ggtttatatac atatgataaa 780  
 gataatccaa acatgatgat ggctattaat gttaaagatg tacaagataa aggaatggct 840  
 agctacaatg ccaaaatctc aggtaaagtg tatgatgagc tatatgagaa cgtaataaa 900  
 aaatacgata tagatgaata acaaacagc gaagcaatcc gtaacgatgg ttgcttact 960  
 gttttattat gaattattaa taagtgtgt 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  
 taatttaaat gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt taaatctact 1260  
 ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaaagttg ttgcaaatg 1320  
 gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct ttttgttttg aatgtttctc ctactataaa 1380  
 atcatcgtat ttcatatatg tctctctttc ttattcaaat taatttttta gtatgtaaca 1440  
 tgttaaaggc 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 tttctctctgc aagttaaca agcacaacat taaagcttga 1800  
 aatgagcact tcttgattct gatttaagtt tgtaattgt tcttccactt gcttaacat 1860  
 a 1861

5

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

10

## ES 2 536 887 T3

**<400> 194**

```

cggtaataaa aaatacgata tagatgaata acaaaacagt gaagcaatcc gtaacgatgg      60
ttgcttcact gttttattat gaattattaa taagtgtgt tacttctccc ttaaatacaa      120
tttcttcatt ttcattgtat gttgaaagtg aactgtaac gagtccattt tcttttttta      180
tggatttctt atttgtaatt tcagcgataa cgtacaatgt attacctggg tatacaggtt      240
taataaattt aacgttattc atttgtgttc ctgctacaac ttcttctccg tatttacctt      300
cttctaccca taattttaat gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt      360
taaatctact ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaaagttg      420
ttgcaaattg gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct ttttgttttg aatgtttctc      480
ctactataaa atcatcgtat ttcatatatg tctctcttcc ttattcaaat taatttttta      540
gtatgtaaca tgttaaaggt 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
ttttagcatt acagtaatct aaaagtgttc tccagtcttc acgaaacgaa gttgtatgga      840
atataactgc tctgttatat tgtggcatga tttctctctc aagtttaaca agcacaacat      900
taaagcttga aatgagcact tcttgattct gatttaagtt tgttaattgt tcttccactt      960
gcttaacat acttttagaa agtgctagtc cattcggctc agtaatacct ttaattcta     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 ccaggttcaa      120
ctcaaaaaat attaacagca atgattgggt taaataacaa aacattagac gataaaacaa      180
gttataaaat cgatggtaaa ggttggcaaa aagataaatc ttgggggtgt tacaacgta      240
caagatatga agtggtaaat ggtaatatcg acttaaaaca agcaatagaa tcatcagata      300
acattttctt tgctagagta gcaactgcaat taggcagtaa gaaattttaa aaaggcatga      360
aaaaactagtg tgttggtaaa gatataccaa gtgattatcc attttataat gctcaaattt      420
caaacaaaaa ttagataat gaaatattat tagctgattc aggttacgga caagtgaaa      480
tactgattaa ccagtacag atcctttcaa tctatagcgc attagaaaat aatggcaata      540
ttaacgcacc tcaattatta aaagacacga aaaacaaagt ttggaagaaa aatattattt      600
ccaaagaaaa tatcaatcta ttaactgatg gtatgcaaca agtcgtaaat aaaacacata      660
aagaagatat ttatagatct tatgcaaact taattggcaa atccggtact gcagaactca      720

```

15

## ES 2 536 887 T3

aatgaaaca 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
ttgtatggtg aaagtgcac tgtaacgagt ccattttctt tttttatgga tttcttattt	1080
gtaatttcag cgataacgta caatgtatta cctgggtata caggtttaat aaatttaacg	1140
ttattcattt gtgttcctgc tacaacttct tctccgtatt taccttcttc taccataat	1200
ttaaagata ttgaaagtgt atgcatgcca gatgcaatga tacctttaa tctactttgt	1260
tctgcttttt ctttatctat atgcatatat tgaggatcaa aagttgttgc aaattggata	1320
attttctctt ctgtaatatg aaggcttttt gttttgaatg tttctcctac tataaaatca	1380
tcgtatttca tatatgtctc tctttcttat tcaaattaat tttttagtat gtaacatggt	1440
aaagtaagt ctaccgtcac tgaacgtaa gactcacctc taactttcta ttgagacaaa	1500
tgcaccattt tatctgcatt gtctgtaaag ataccatcaa ctcccaatt agcaagttgg	1560
tttgacgtg ctggtttggt tacagtccat acgttcaatt cataaccgc ttcctttacc	1620
atttttactt ttgctttagt aagtttgga tcttcagtgt ttactatfff agcattacag	1680
taatctaaaa gtgttctcca gtcttcacga aacgaagttg tatggaatat aactgctctg	1740
ttatattgtg gcatgatttc ttctgcaagt ttaacaagca caacattaa gcttgaaatg	1800
agcaattctt gattctgatt taagtttgtt aattgttctt ccacttgctt aaccatactt	1860
ttagaaagtg ctagtccatt cgggtccagta atacctttta attctacatt taaattcata	1920
ttatattcat ttgctatfff tactacatca tcgaaagttg gcaaagtgtc atctttgaat	1980
ttttcaccaa accaagatcc tgcagaagca tctttaatff catcataatt caattcagtt	2040
atttccccgg acatatttgt agtccgttct aaataatcat catgaatgat aatcagttgt	2100
tcattctttg taattgcaac atctaactcc aaccagttta taccttctac ttctgaagca	2160
gctttaaatg atgcaattgt attttccgga gctttactag gtaatcctct atgtccatat	2220
acagttagca tattacctct ccttgcatff ttattttfff aattaacgta actgtattat	2280
cacattaatc gcacttttat ttccattaaa aagagatgaa tatcataaat aaagaagtcg	2340
atagattcgt attgattatg gagttaatct acgtctcatc tcatttttaa aaaatcattt	2400
atgtcccaag ctccattttg taatcaagtc tagttttctg gttctgttgc aaagttgaat	2460



## ES 2 536 887 T3

```

ttatagtata attttaacaa aaaggagtct tctgtatgaa ctatttcaga tataaacaat      2520
ttaacaagga tgttatcact gtagccgttg gctactatct aagatataca ttgagttatc      2580
gtgatataatc tgaaatatta agggaacgtg gtgtaaactg tcatcattca acggtctacc      2640
gttgggttca agaatatgcc ccaatthttgt atcaaatttg gaagaaaaag cataaaaaag      2700
cttattacaa atggcgtatt gatgagacgt acatcaaaat aaaaggaaaa tggagctatt      2760
tatatcgtgc cattgatgca gagggacata cattagatat ttggttgcgt aagcaacgag      2820
ataatcattc agcatatgcg tttatcaaac gtctcattaa acaatttggg aaacctcaaa      2880
aggtaattac agatcaggca cttcaacga aggtagcaat ggctaaagta attaaagctt      2940
ttaaacttaa acctgactgt cattgtacat cgaatatct gaataacctc attgagcaag      3000
atcacctgca tattaagta agaaagacaa ggtatcaaag tatcaatata gcaaagaata      3060
ctttaaaggt tattgaatgt atttacgctc tatataaaaa g                          3101

```

<210> 196

<211> 3506

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 196

```

ccaccttcat atgacgtcta tccatthtatg tatggcatga gtaacgaaga atataataaa      60
ttaaccgaag ataaaaaaga acctctgctc aacaagttcc agattacaac ttcaccaggt      120
tcaactcaaa aaatattaac agcaatgatt gggtaaaata acaaaacatt agacgataaa      180
acaagttata aaatcgatgg taaaggttgg caaaaagata aatcttgggg tggttacaac      240
gttacaagat atgaagtggg aaatggtaat atcgacttaa aacaagcaat agaatcatca      300
gataacattht tctthtctag agtagcactc gaattaggca gtaagaaatt tgaaaaaggc      360
atgaaaaaac taggtgttgg tgaagatata ccaagtgatt atccatthta taatgctcaa      420
atthcaaaaca aaaatthtaga taatgaaata ttattagctg atthcaggta cggacaaggt      480
gaaatactga ttaaccaggt acagatcctt tcaatctata gcgcattaga aaataatggc      540
aatattaacg cacctcactt attaaaagac acgaaaaaca aagthttggaa gaaaaatatt      600
atthccaaag aaaatatcaa tctatthact gatggtatgc aacaagctgt aaataaaaca      660
cataaagaag atatthtatag atctthtgca aactthattg gcaaatccgg tactgcagaa      720
ctcaaaatga aacaaggaga aactggcaga caaattgggt ggtthtatatc atatgataaa      780
10 gataatccaa acatgatgat ggctatthaat gthaaagatg tacaagataa aggaatggct      840

```

## ES 2 536 887 T3

agctacaatg ccaaaatctc aggtaaagtg tatgatgagc tatatgagaa cgtaataaaa	900
aaatacagata tagatgaata acaaaacagt gaagcaatcc gtaacgatgg ttgcttcaact	960
gttttattat gaattattaa taagtgctgt tacttctccc ttaaatacaa tttcttcatt	1020
ttcattgtat gttgaaagtg aactgtaac gagtccatctt tcttttttta tggatttctt	1080
atgtgtaatt tcagcgataa cgtacaatgt attacctggg tatacagggt taataaattt	1140
aacgttattc atttgtgttc ctgctacaac ttcttctccg tatttacctt cttctacca	1200
taatttaaat gatattgaaa gtgtatgcat gccagatgca atgatacctt taaatctact	1260
ttgttctgct ttttctttat ctatatgcat atattgagga tcaaaagtgt ttgcaaattg	1320
gataatttct tcttctgtaa tatgaaggct tttgttttg aatgtttctc ctactataaa	1380
atcatcgtat ttcatatatg tctctctttc ttattcaaat taatttttta gtatgtaaca	1440
tgttaaaggt aagtctaccg tcaactgaaac gtaagactca cctctaactt tctattgaga	1500
caaatgcacc attttatctg cattgtctgt aaagatacca tcaactcccc aattagcaag	1560
ttggtttgca cgtgctgggt tgtttacagt ccatacgttc aattcataac ccgcttcttt	1620
taccattttt acttttgctt tagtaagttt ggcactctca gtgtttacta ttttagcatt	1680
acagtaatct aaaagtgttc tccagtcttc acgaaacgaa gttgtatgga atataactgc	1740
tctgttatat tgtggcatga tttcttctgc aagtttaaca agcacaacat taaagcttga	1800
aatgagcaact tcttgattct gatttaagtt tgttaattgt tcttccactt gcttaacat	1860
acttttagaa agtgcctagtc cattcgggtcc agtaatacct ttttaattcta catttaaatt	1920
catattatat tcatttgcta tttttactac atcatcgaaa gttggcaaat 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 ttgtattttc cggagcttta ctaggtaatc ctctatgtcc	2220
atatacagtt agcatattac ctctccttgc atttttattt ttttaattaa cgtaactgta	2280
ttatcacatt aatcgcaactt ttattttccat taaaaagaga tgaatatcat aaataaagaa	2340
gtcgatagat tcgtattgat tatggagtta atctacgtct catctcattt ttaaaaaatc	2400
atztatgtcc caagctccat tttgtaatca agtctagttt ttctgtacce cttatctgca	2460
attttactta ggattgcttt taacttacc cttatcagca attttactga gaactgcttt	2520

ES 2 536 887 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  
 ataaaaatga aaattacaac cgattttgta agtgctgacg cctgaggaa tagtatgtgc 2940  
 gagagactaa tggctcgagc cataccccta ggcaagcatg cacgtacaaa atcgtaagat 3000  
 aaaaaaataa gcatatcact gtaaacctta aaaaatcagt ttagtgatat gcttatttat 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 ttaagtgtt tctctttatc 3300  
 taatgctttg tcatatcctt taacgattga accactaaag atttctccta ctgctcctga 3360  
 accataacta aatagacata ctttctcttc tggttggaat gtgtggttct gtaataacga 3420  
 aattaaactt aagtataatg atcctgtata aatgttacca acatctctat tccataatac 3480  
 ggttctgttg caaagttgaa tttata 3506

<210> 197

<211> 928

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 197

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

## ES 2 536 887 T3

tctttctgca actaaatata gtaaattacg gtaaaatata aataagtaca tattgaagaa 540  
aatgagacat aatatatfff ataataggag ggaatttcaa atgatagaca actttatgca 600  
ggtccttaaa ttaattaaag agaaacgtac caataatgta gttaaaaaat ctgattggga 660  
taaaggtgat ctatataaaa ctttagtcca tgataagtta cccaagcagt taaaagtgca 720  
tataaaagaa gataaatatt cagttgtagg gaaggttgct actgggaact atagtaaagt 780  
tccttgatt tcaatatatg atgagaatat aacaaaagaa acaaaggatg gatattatff 840  
ggtatatcft tttcatccgg aaggagaagg catatactta tctttgaatc aaggatggtc 900  
aaagataagt gatatgtffc cgcgggat 928

<210> 198

<211> 782

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 198

caatgcccac agagttatcc acaaatacac aggttataca ctaaaaattg ggcatgaatg 60  
tcagaaaaat atcaaaaact gcaaagaata ttgttataat aagagggaac agtgtgaaca 120  
agttaataac ttgtgataa ctggaaagtt gataacaatt tggaggacca aacgacatga 180  
aatcaccat tttagctgta gggaaactaa aagagaaata ttggaagcaa gccatagcag 240  
aatatgaaaa acgttttaggc ccatacacca agatagacat catagaagtt ccagacgaaa 300  
aagcaccaga aaatatgagc gacaaaagaaa ttgagcaagt aaaagaaaaa gaaggccaac 360  
gaatactagc caaaatcaaa ccacaatcaa cagtcattac attagaaata caaggaaaga 420  
tgctatcttc cgaaggattg gcccaagaat tgaaccaacg catgacccaa gggcaaagcg 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 aatatcatac gatgtttata gagtgtttaa taaaccatff 780  
10 tt 782

<210> 199

<211> 709

<212> DNA

15 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 199

# ES 2 536 887 T3

```

tacattagaa atacaaggaa agatgctatc ttccgaagga ttggcccaag aattgaacca      60
acgcatgacc caagggcaaaa gcgactttgt tttcgtcatt ggcggatcaa acggcctgca      120
caaggacgtc ttacaacgca gtaactacgc actatcattc agcaaaatga cattcccaca      180
tcaaatgatg cgggttggtg taattgaaca agtgtacaga gcatttaaga ttatgcgagg      240
agaagcttat cataagtaat gaggttcatg atttttgaca tagttagcct ccgcagtott      300
tcatttcaag taaataatag cgaaatattc tttatactga atacttatag tgaagcaaag      360
ttctagcttt gagaaaattc tttctgcaac taaatatagt aaattacggt aaaatataaa      420
taagtacata ttgaagaaaa tgagacataa tatattttat aataggaggg aatttcaaat      480
gatagacaac tttatgcagg tccttaaatt aattaaagag aaacgtacca ataatgtagt      540
taaaaaatct gattgggata aaggtgatct atataaaact ttagtccatg ataagttacc      600
caagcagtta aaagtgcata taaaagaaga taaatattca gttgtaggga aggttgctac      660
tgggaactat 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

ggggaaatg gctgtgttg ag 22

20 <210> 201  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

25 <220>  
 <223> cebador PCR para orfSA0022

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

<400> 201

35 ttcgtccct 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 ttgac                     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 tcttttgacc 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 tgaacaaaa 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 v  
 <220>  
 <221> fuente  
 20 <222> (1)..(26)  
 <223> S. aureus resistente a meticilina  
 <400> 207  
 25 tcccctaatg atagctggta tatatt 26  
 <210> 208  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 30 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> cebador PCR para MREP tipo v  
 35 <220>  
 <221> fuente  
 <222> (1)..(27)  
 <223> S. aureus resistente a meticilina  
 40 <400> 208  
 tctagggaaat 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  
 ccrtattgat 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 acgtgtcggat 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

15 <210> 215  
 <211> 34  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> cebador PCR para ccrB

25 <220>  
 <221> fuente  
 <222> (1)..(34)  
 <223> S. aureus resistente a meticilina

30 <400> 215  
 gawtaataat rggggaatgc ttacctcag ctat 34

35 <210> 216  
 <211> 26  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

40 <220>  
 <223> cebador PCR para ccrB

45 <220>  
 <221> fuente  
 <222> (1)..(26)  
 <223> S. aureus resistente a meticilina

50 <400> 216  
 ggttttgac tgactgttt ttacg 26

55 <210> 217  
 <211> 29  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

60 <220>  
 <223> cebador PCR para ccrB

65 <220>  
 <221> fuente  
 <222> (1)..(29)  
 <223> S. aureus resistente a meticilina

70 <400> 217  
 tagaaytggt ttttatgatt accrccttt 29

75 <210> 218  
 <211> 26

# ES 2 536 887 T3

<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 attatattca 60  
ttggtcttac ctacttatac ttcctatgat tacaatagta actatacctt ttcttattaa 120  
agtaatggta cctggtaaat caacaaaaaa tacattagat atcgtaggta ttgttttaat 180  
gtctataagt attatatggt ttatggtatt tacgacaaat tataattgga cttttttaat 240  
actcttcaca atcttttttg tgatttttat taaacatatt tcaagagttt ctaacccttt 300  
tattaatcct aaactaggga aaaacattcc gtttatgctt ggtttgtttt ctggtgggct 360  
aatattttct atagtagctg gttttatatac aatgggtgcct tatatgatga aaactattta 420  
tcatgtaaat gtagcgacaa taggtaatag tgttatTTTT cctggaacca tgagtgttat 480  
tgTTTTTggT tattttTggT gttttttagT ggatagaaaa ggatcattat ttgtttttat 540  
tttaggatca ttgtctatct ctataagttt ttaactatt 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 2 536 887 T3

```

atccggtact gcagaactca aaatgaaaca aggagaaact ggcagacaaa ttgggtggtt      60
tatatcatat gataaagata atccaaacat gatgatggct attaatgtta aagatgtaca      120
agataaagga atggctagct acaatgcaa 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
tacctttaa tctactttgt tctgcttttt ctttatctat atgcatatat tgaggatcaa      600
aagttgttgc aaattggata atttcttctt ctgtaatatg aaggcttttt gttttgaatg      660
tttctctac tataaaatca tcgtatttca tatatgtctc tctttcttat tcaaattaat      720
tttttagtat gtaacatggt aaaggtaagt ctaccgtcac tgaaacgtaa gactcacctc      780
taactttcta ttgagacaaa tgcaccattt tatctgcatt gtctgtaaag ataccatcaa      840
ctcccaatt agcaagttgg tttgcacgtg ctggtttggt tacagtccat acgttcaatt      900
cataaccgc 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 cgggccagta atacctttta     1200
attctacatt taaattcata ttatattcat ttgctatfff tactacatca tcgaaagttg     1260
gcaaagtffc atctttgaat ttttcacaa accaagatcc tgcagaagca tctttaattt     1320
catcataatt caattcagtt atttcccgg acatatttgt agtccgttct aaataatcat     1380
catgaatgat aatcagttgt tcatcttttg taattgcaac atctaactcc aaccagttta     1440
taccttctac tctgaaagca gctttaaagtg atgcaattgt attttccgga gctttactag     1500
gtaatcctct atgtccatat acagttagca tattacctct ccttgcatff ttatfttttt     1560
aattaacgta actgtattat cacattaatc gcacttttat ttccattaaa aagagatgaa     1620
tatcataaat aaagaagtcg atagattcgt attgattatg gagttaatct acgtctcatc     1680
tcatttttaa aaaatcattt atgtcccaag ctccattttg taatcaagtc tagtttttct     1740
gtaccctta tctgcaattt tacttaggat tgcttttaac ttaccctta t                    1791

```

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

10 <400> 221

## ES 2 536 887 T3

aagtgctgac gcctgagggg atagtatgtg cgagagacta atggctcgag ccatacccct 60  
aggcaagcat gcacgtacaa aatcgtaaga taaaaaata agcatatcac tgtaaacttt 120  
aaaaaatcag tttagtgata tgcttattta tttcgagtta ggatttatgt cccaagctca 180  
tcaagcacia tcggccacta gtttatttct ctatcttata tgttctgata tggctcttca 240  
tactgtataa gtatactttt gaatatggat cttgtgtcaa ttcacgttcg aaatcaaatt 300  
cttgattatc aaatctgtta aagaatgttt cgtattcttc gactgataat tgctctctag 360  
attctagcat atttaagtgt ttctctttat ctaatgcttt gtcatatcct ttaacgattg 420  
aaccactaaa gatttctoct actgctcctg aaccataact aaatagacat actttctctt 480  
ctggttgaa tgtgtggttc tgtaataacg aaattaaact taagtataat gatcctgtat 540  
aaatgttacc aacatctcta ttccataata cggttctggt gcaaagttga atttatagta 600

<210> 222

<211> 1640

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 222

gggtggttta tatcatatga taaagataat ccaaacatga 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 gtatggtgaa agtgacactg taacgagtcc 300  
10 attttctttt tttatggatt tcttatttgt aatttcagcg ataacgtaca atgtattacc 360

## ES 2 536 887 T3

tgggtataca ggtttaataa atttaacgtt attcatttgt gttcctgcta caacttcttc	420
tccgtattta ccttcttcta cccataattt aaatgatatt gaaagtgtat gcatgccaga	480
tgcaatgata cctttaaatc tactttgttc tgcttttctt ttatctatat gcatatattg	540
aggatcaaaa gttgttgcaa attggataat ttcttcttct gtaatatgaa ggctttttgt	600
tttgaatggt totcctacta taaaatcadc gtatttcata tatgtctctc tttcttattc	660
aaattaattht tttagtatgt aacatgttaa aggtaagtct accgtcactg aaacgtaaga	720
ctcacctcta actttctatt gagacaaatg caccatttta tctgcattgt ctgtaaagat	780
accatcaact ccccaattag caagttgggt tgcaactgct ggtttggtta cagtccatac	840
gttcaattca taaccgcgtt cttttaccat ttttactttt gcttttagtaa gtttgcatc	900
ttcagtgtht actatthtag cattacagta atctaaaagt gttctccagt cttcacgaaa	960
cgaagttgta tggaatataa ctgctctggt atattgtggc atgatttctt ctgcaagtht	1020
aacaagcaca acattaaagc ttgaaatgag cacttcttga ttctgattta agthttgttaa	1080
ttgttcttcc acttgcttaa ccatacttht agaaagtgct agtccattcg gtccagtaat	1140
acctthtaat tctacattta aattcatatt atattcattt gctatthtta ctacatcadc	1200
gaaagttggc aaatgttcat cthttgaattt tccaccaaac caagatcctg cagaagcadc	1260
thtaatttca tcaataattca attcagttat ttccccggac atatthttag tccgttctaa	1320
ataatcatca tgaatgataa tcagttgttc atctthttgta attgcaacat ctaactcca	1380
ccagthtata ccttctactt ctgaagcagc thtaaatgat gcaattgtat thtccggagc	1440
thtactaggt aatcctctat gtccatatac agtttagcata ttacctctcc thgcatttht	1500
atthththta thaacgtaac tgtattatca cattaatcgc actthththt ccattaaaa	1560
gagatgaata tcaataataa agaagtcgat agattcgtat tgattatgga gthaatctac	1620
gtctcatctc atthththaaa	1640

<210> 223

<211> 592

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 223

aattcaactt tgcaacagaa ccgtattatg gaatagagat gttggttaaca thtatacagg	60
atcattatac thaaagthta thtctgttatt acagaaccac acattccaac cagaagagaa	120
10 agtatgtcta thtagttatg gttcaggagc agtaggagaa atctthtagtg gttcaatcgt	180
thaaagatata gacaaagcat tagataaaga gaaacactta aatatgctag aatctagaga	240
gcaattatca gtccaagaat acgaaacatt cthtaacaga thtgataatc aagaatttga	300
thtccaactg gaattgacac aagatccata thcaaaagta tacttataca gtatagaaga	360
ccatatacaga acatataaga tagagaaata aactagtggc cgattgtgct tgatgagctt	420
gggacataaa tcttaactcg aaataaataa gcatatcact aaactgattt ththaaagtht	480
acagtgatata gctthththt thatctttag atthttgtacg tgcattgctg cctaggggta	540
tggtctgagc cattagtctc tccacatac thtccctca ggcgtcagca ct	592

ES 2 536 887 T3

<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 ggttaaataa caaaacatta gacgataaaa     180
caagttataa aatcgatggt aaaggttggc aaaaagataa atcttggggg ggttacaacg     240
ttacaagata tgaagtggta aatggtaata tcgacttaaa acaagcaata gaatcatcag     300
ataacatfff ctttgctaga gtagcactcg aattaggcag taagaaatff gaaaaaggca     360
tgaaaaaact aggtgttggg gaagatatac caagtgatta tccatfffat aatgctcaaa     420
tttcaaaaca aaatfftagat aatgaaatat tattagctga ttcaggttac ggacaagggt     480
aaatactgat taaccagta cagatcfff cfaatctatag cgcattagaa aataatggca     540
atattaacgc acctcactta ttaaaagaca cgaaaaaca agfffggag aaaaatatta     600
tttcaaaga aaatatcaat ctattaactg atggtatgca acaagtcgta aataaaacac     660
ataaagaaga tfffataga tfftatgcaa acttaattgg caaatccggg actgcagaac     720
tcaaaatgaa acaaggagaa actggcagac aaattgggtg gfftatatca tatgataaag     780
ataatccaaa catgatgatg gctatffatg ttaaagatgt acaagataaa ggaatggcta     840
gctacaatgc caaaatctca ggtaaagtgt atgatgagct atatgagaac ggtaataaaa     900
aatacgatat agatgaataa caaaacagtg aagcaatccg taacgatggt tgcttactg     960
ttffattatg aatffaat aagtgctgff acttctccct taaatacaat tffffcattf    1020
tcattgtatg ttgaaagtga cactgtaacg agtccatfff cffffffat ggatffctta    1080

```

10

## ES 2 536 887 T3

```

tttgaatth cagcgataac gtacaatgta ttacctgggt atacaggtht aataaattht 1140
acgttattca tttgtgttcc tgctacaact tcttctccgt atttaccttc ttctacctat 1200
aatttaaag atattgaaag tgtatgcatg ccagatgcaa tgatacctth aatctactt 1260
tgtctgctt tttctttatc tatatgcata tattgaggat caaaagttgt tgcaaattgg 1320
ataatthctt cttctgtaat atgaaggctt tttgthttga atgthttctc tactataaaa 1380
tcatcgtatt tcatatatgt ctctctthct tattcaaatt aatthtttag tatgtaacat 1440
gttaaaggta agtctaccgt cactgaaacg taagactcac ctctaactth ctattgagac 1500
aatgaccca thttatctgc attgtctgta aagataccat caactcccca attagcaagt 1560
tggthtgac gtgctgtht gthtacgtc catacgttca attcataacc cgctthctth 1620
accatthth cthttgctth agtaagtht gcactthcag tghthtactat thtagcatta 1680
cagtaatcta aaagtthct ccagtcttca cgaaacgaag thgtatggaa tataactgct 1740
ctgthtatatt gtggcatgat thcttctgca agthtaacaa gcacaacatt aaagcttgaa 1800
atgagcactt ctgattctg atthaaagth gthaatgth ctthcacttg cthaacata 1860
ctthtagaaa gtgctagtcc atthcgtcca gthaacctt thaatctac atthaaatc 1920
atattatatt catttgctat thttactaca tcatcgaaag thggcaaatg thcatctthg 1980
aatthttcac caaaccaaga thctgcagaa gcactthta ththcatcata atthcaattca 2040
gthattthcc cggacatatt tgtagtccgt thtaataat catcatgaat gataatcagt 2100
tghthcatct thgtaattgc aacatctaac thcaaccagt thtaccttc tactthtgaa 2160
gcagctthta atgatgcaat tgtatthtcc ggagctthac taggthaatcc thtatgtcca 2220
tatacagth gcatattacc thctcttgca ththththth ththaatthac gthactgtat 2280
tatcacatta atcgactth thththcatt aaaaagagat gaatatcata aataaagaag 2340
tcatagatt cgtattgatt atggagthaa thctacgtct atctca 2386

```

<210> 225

<211> 623

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 225

```

tgaaaattac aaccgattth gthagtgtg acgctgagg gaatagtatg tgcgagagac 60
thattggctg agccataccc ctaggcaagc atgcacgtac aaaatcgth gataaaaaa 120
10 thagcatatc actgthaaact thaaaaatc agthtagth tatgctthatt thththcagt 180

```

## ES 2 536 887 T3

```

taggatttat gtcccaagct catcaagcac aatcgccac tagtttattt ctctatctta      240
tatgttctga tatggtcttc tatactgtat aagtatactt ttgaatatgg atcttgtgtc      300
aattcacggtt cgaaatcaaa ttcttgatta tcaaactctgt taaagaatgt ttcgtattct      360
tcgactgata attgctctct agattctagc atatttaagt gtttctcttt atctaagct      420
ttgtcatatc ctttaacgat tgaaccacta aagatttctc ctactgctcc tgaaccataa      480
ctaaatagac ataccttctc ttctggttgg aatgtgtggt tctgtaataa cgaaattaa      540
cttaagtata atgatcctgt ataaatgta 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 agtgggttatt ccgtccgttg ctaaaaatgc tggcggaggg cgatccagtc      120
cccgttgagg acatcgcggc ggagaccggg aagcccgtcg aggaagttaa gcaagtccta      180
cagactctac ctagtgtgga acttgatgag cagggccgtg tcgctcggtta tggcctcaca      240
ctgttcctca cccccatcg cttcgagggt gatgggaagc aactatatgc atggtgcgcc      300
cttgacacac ttatgttccc agcactcacc ggccggacgg tccacatcgc ttcgccttgt      360
cacggcaccg gtaagtccgt ccggttgacg gtggaaccgg accgcgttgt aagcgtcgag      420
ccttcaacag cgttgtctc gattgttaca ccagatgaaa tggcctcggg tcggtcggcc      480
ttctgtaacg acgttcactt tttcagttca ccgagtgcag cccaagactg gcttaaccaa      540
cacctgagt cgagcgtttt gcccgttgaa gatgcctttg aactgggtcg ccatttggga      600
10 gcgcgttatg aggagtcagg acctactaat gggctctggt gtaacattta a          651

```

<210> 227

<211> 563

<212> DNA

15 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 227

```

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

```



## ES 2 536 887 T3

```

gggaacagca aaaaaattga atatcccgctg attccatctg ctgtatttac cgtacctaaa      240
atggcatcgg taggtatgag cgaggaggaa gccaaaaact ctggccggaa tattaaagta      300
aagcagaaaa acatctccga ctggtttacg tataaacgga caaatgagga ctttgctgcg      360
tttaaagtgc tgattgacga agatcatgat caaattgctg gtgctcattt gattagtaat      420
gaagccgatg aactgattaa tcattttgca acagccattc gttttgggat ttcaacccaaa      480
gaattgaaac aatgatatt tgcctatcca acggcagctt cggacattgc acacatgctg      540
taagtttgcg ttttgtgaga tgt                                     563

```

<210> 228

<211> 1380

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 228

```

ttgtttagtt tatataaaaa atttaaaggt ttgttttata gcgttttatt ttggctttgt      60
attctttcat tttttagtgat attaaatgaa atggttttaa 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 gagtaggata tgctgcattc      360
ccttcaactg ttatgggtgt ttagctaga aatattacaa gaaaaaaaca aggcaaagcc      420
tttggtttta taggatcaat ttagcttta ggtgaagggt taggtccttc aataggggga      480
ataatagcac attatattca ttggtcttac ctacttatac ttcctatgat tacaatagta      540
actatacctt ttcttattaa agtaatggtc cctggtaaat caacaaaaaa tacattagat      600
atcgtaggta ttgttttaat gtctataagt attatagtt ttatgttatt taogacaaat      660
tataattgga cttttttaat actcttcaca atcttttttg tgatttttat taaacatatt      720
tcaagagttt ctaacccttt tattaatcct aaactagga aaaacattcc gtttatgctt      780
ggtttgtttt ctgggtggct aatatcttct atagtagctg gttttatatac aatgggtgctt      840
tatatgatga aaactattta tcatgtaa atgtagcaca taggtaatag ttttattttt      900
cctggaacca tgagtgttat tgtttttggt ttttttggtg gttttttagt ggatagaaaa      960
ggatcattat ttgtttttat tttaggatca ttgtctatct ctataagttt ttttaactatt      1020
10 gcattttttg ttgagtttag tatgtggttg actactttta tgtttatatt tgttatgggc      1080
ggattatcct ttactaaaac agttatatca aaaatagtat caagtagtct ttctgaagaa      1140
gaagtgtcct ctggaatgag tttgctaaat ttcacaagtt ttttatcaga ggaacaggt      1200
atagcaattg taggaggttt attgtcacta caattgatta atcgtaaact agttctggaa      1260
tttataaatt attcttctgg agtgatagat aatattcttg tagccatggc tacccttatt      1320
attttatggt gtcttttgac gattattgta tttaaacgct ctgaaaagca gtttgaatag      1380

```

<210> 229

15 <211> 1365

<212> DNA

# ES 2 536 887 T3

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 229

```

atgagaatag tgaatggacc aataataatg actagagaag aaagaatgaa gattgttcat      60
gaaattaagg aacgaatatt ggataaatat ggggatgatg ttaaggctat tgggtttat      120
ggctctcttg gtcgtcagac tgatgggcc  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 gcccaaactg tccacgatgc gatttgtgcc      420
cttatcgtag aagagctggt tgaatatgca ggcaaatggc gtaatatcog tgtgcaagga      480
ccgacaacat ttctaccatc cttgactgta caggtagcaa tggcaggtgc catgttgatt      540
ggctctgcatc atcgcatctg ttatacgacg agcgcttcgg tcttaactga agcagttaag      600
caatcagatc tccttcagg ttatgacat ctgtgccagt tcgtaatgtc tggtaactt      660
tccgactctg agaaacttct ggaatcgcta gagaatttct ggaatgggat tcaggagtgg      720
acagaacgac acggatatat agtggatgtg tcaaaacgca taccattttg aacgatgacc      780
tctaataatt gtaaatcatg ttggttacgt atttattaac ttctcctagt attagtaatt      840
atcatggctg tcatggcgca ttaacggaat aaaggggtgt cttaaatcgg gccattttgc      900
gtaataagaa aaaggattaa ttatgagcga attgaattaa taataaggta atagatttac      960
attagaaaat gaaaggggat tttatgcgtg agaatgttac agtctatccc ggcattgcc      1020
gtcggggata ttaaaaagag tataggtttt tattgcgata aactaggttt cactttggtt      1080
caccatgaag atggattcgc agttctaatt tgtaatgagg ttcggattca tctatgggag      1140
5 gcaagtgatg aaggctggcg ctctcgtagt aatgattcac cggtttgtac agtgcgagg      1200
tcgtttattg ctggactcgc tagttgccgc attgaagtag agggaattga tgaattatat      1260
caacatatta agcctttggg cttttgcac cccaatacat cattaaaaga tcagtgggtg      1320
gatgaacgag actttgcagt aattgatccc gacaacaatt tgatt      1365

```

<210> 230

10 <211> 831

<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 230

15

## ES 2 536 887 T3

```

atggggggtt cttttaatat tatgtgtcct aatagtagca tttattcaga tgaaaaatca      60
aggggttttag tggacaagac aaagagtgga aaagtgagac catggagaga aaagaaaatc      120
gctaattgtg attactttga acttctgcat attcttgaat ttaaaaaggc tgaagagta      180
aaagattgtg ctgaaatatt agagtataaa caaaatcgtg aaacaggcga aagaaagtg      240
tatcgagtgt ggttttgtaa atccaggctt tgtccaatgt gcaactggag gagagcaatg      300
aaacatggca ttcagtcaca aaaggttggt gctgaagtta ttaacaaaa gccaacagtt      360
cgttggttgt ttctcacatt aacagttaa aatgtttatg atggcgaaga attaaataag      420
agtttgtcag atatggctca aggatttgcg cgaatgacgc aatataaaaa aattaataaa      480
aatcttgttg gttttatgcg tgcaacggaa gtgacaataa ataataaaga taattcttat      540
aatcagcaca tgcattgatt ggtatgtgtg gaaccaactt attttaagaa tacagaaaac      600
tacgtgaatc aaaaacaatg gattcaattt tggaaaaagg caatgaaatt agactatgat      660
ccaaatgtaa aagttcaaat gattcgaccg aaaaataaat ataaatcgga tatacaatcg      720
gcaattgacg aaactgcaa atatcctgta 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 ccgtaatatt caagatttaa atggatattt agtaaccat      180
10 gaacatattg atcatattaa aggattaggt gttttggcgc gtaaatatca attgccaatt      240

```

## ES 2 536 887 T3

tatgcgaatg aaaagacttg gcaggcaatt gaaaagaaag atagtcgcat ccctatggat	300
cagaaattca tttttaatcc ttatgaaaca aaatctattg caggtttoga tgttgaatcg	360
tttaacgtgt cacatgatgc aatagatccg caattttata ttttccataa taactataag	420
aagtttacga ttttaacgga tacgggttac gtgctgatc gtatgaaagg tatgatacgt	480
ggcagcgatg cgtttatfff tgagagtaat catgacgtcg atatgttgag aatgtgtcgt	540
tatccatgga agacgaaaca acgtatffta ggcgatatgg gtcatgtatc taatgaggat	600
gcgggtcatg cgatgacaga tgtgattaca ggtaacacga aacgtatffa cctatcgcat	660
ttatcacaag acaataacat gaaagatttg gcgcgatga gtggtggcca agtattgaac	720
gaacacgata ttgatacggg aaaagaagta ttgctatgtg atacggataa agctattcca	780
acgccaatat atacaatata aatgagagtc accctataaa gttcggcact gctgtgagac	840
gactttatcg ggtgctffff tatgttattg gtgggaaatg gctgttgttg gaattaaggt	900
tctatffgaa atgtaaaaaa taattcgata ttaaagttaa tttataaata atttacataa	960
aatcaatcat tttaatataa ggattatgat aatatattgg tgtatgacag ttaatggagg	1020
gaacgaaatg aaagctffat tacttaaaac aagtgtatgg ctcgffffgc tfffftagtgt	1080
gatgggatta tggcaagtct cgaacgcggc tgagcagtat acaccaatca aagcacatgt	1140
agtaacaacg atagacaaag caacaacaga taagcaacaa gtaacgcaa caaaggaagc	1200
ggctcatcaa tffggtgaag aagcggcaac caacgtatca gcatcagcac agggaacagc	1260
tgatgaaata aacaataaag taacatccaa cgcattffct aacaaacct ctacagcagt	1320
ttcaacaaaa gtaaacgaaa cgcacgatgt agatacacia caagcctcaa cacaaaaacc	1380
aactcaatca gcaacattca cattatcaaa tgctaaaaca gcatcactff caccacgaat	1440
gffffgctgc aatgtaccac aaacaacaac acataaaata ttacatacaa atgatatcca	1500
tggccgacta gccgaagaaa aagggcgtgt catcggtatg gctaaattaa aaacaataaa	1560
agaacaagaa aagcctgatt taatgttaga cgcaggagac gccttccaag gtttaccact	1620
ttcaaacag tctaaaggtg aagaaatggc taaagcaatg aatgcagtag gttatgatgc	1680
tatggcagtg ggtaacctg aatttgactt tggatacgat cagttgaaaa agttagaggg	1740
tatgttagac ttcccgatgc taagtactaa cgtttacaaa gatgggaaac gcgcgfftaa	1800
gccttcaaca attgtaacga aaaatggat tcgffatgga attattggcg taacgacacc	1860
agaaacaaag acgaaaacaa gacctgaggg cattaaaggt gttgaattta gagatccatt	1920
acaaagtgtg acagcagaaa tgatgcgat ttataaagac gtagatacat ttgttfftat	1980

## ES 2 536 887 T3

atcacattta gggattgac cttcaacaca agaaacatgg cgtggtgatt acttagtgaa	2040
acaattaagt caaaatccac aattgaagaa acgtattaca gtcattgatg gtcattcaca	2100
taccgtactt caaaatggtc aaatttataa caatgatgca ttagcacaaa caggtacagc	2160
acttgcgaa atcggtaagg ttacatttaa ttaccgcaat ggagaggtat caaatattaa	2220
accgtcattg attaatgtta aagacgttga aaatgtaaca ccgaacaaag cattagctga	2280
acaaattaat caagctgac aaacatttag agcacaacaa gcagaggtta ttattccaaa	2340
taataccatt gatttcaaag gagaaagaga tgacgttaga acgcgtgaaa caaatttagg	2400
aaacgcgatt gcagatgcta tggaagcgtg tggcgtaag aatttctcta aaaagactga	2460
ctttgccgtg acaaatgggt gaggtattcg tgcctctatc gcaaaaggta aggtgacacg	2520
ctatgattta atctcagtat taccatttgg aaatacgatt gcgcaaattg atgtaaagg	2580
ttcagacgtc tggacagctt tcgaacatag tttaggtgca ccaacaacac aaaagacgg	2640
taagacagta ttaacagcga atggcggttt actacatatc tctgattcaa ttcgtgttta	2700
ctatgatatg aataaacctg ctggcaaacg aattaacgct attcaaattt taaataaaga	2760
gacaggtaa tttgaaaata ttgatttaa acgtgtatat catgtaacga tgaatgactt	2820
cacagcatca ggtggcgacg gatatagtat gttcgggtgg cctagagaag aaggatattc	2880
attagatcaa gtactagcaa gttatttaa 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 agcggtagac aaggttctgg tcgcacatta gaaggagcta ctgtatcaag	3180
caagagtggg aaccaattgg ttagaatgtc agtgcctaaa ggtagcgcgc atgagaaaca	3240
gttaccaaaa actggaacta atcaaagctc aagcccagca gcgatgtttg tattagtagc	3300
aggtataggt ttaatcgcga ctgtacgacg tagaaaagct agttaaata tattgaaac	3360
aatactactg tatttcttaa ataagaggta cggtagtggt tttttatgga aaaagctat	3420
aaacgttgat aaacatggga tataaaaacg gggataagta ataagacatc aaggtgttta	3480
tccacagaaa tggggatagt tatccagaat tgtgtacaat ttaaagagaa ataccacaa	3540
tgcccacaga gttatccaca aatacacaaag ttatacacta aaaattgggc ataaatgtca	3600
ggaaaatatc aaaaactgca aaaaatattg gtataataag agggaacagt gtgaacaagt	3660

## ES 2 536 887 T3

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

<210> 232

<211> 2996

5 <212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 232

atgaaacgag ccattgggta tttgcgccaa agtacaacga aacaacaatc actcccagct	60
caaaaagcaag caatagaatt attagctcca aagcacaata ttcaaaatc 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 gcytttgatc gcctaaaact caatatatc	360
atgagtctgg ctgaacttga atccgataat attggagaac aagtcaaaaa tggacttaga	420
gaaaaggcaa aacaaggtaa actcataacg acccatgcgc ctttcgggta tcaactatca	480
aatggtactt tcatcattaa taatgatgaa tcacctaccg tcaaagctgt attcaattat	540
tatcttcaag gatatggcta caagaagatt gcacaatatt tagaagacga taataaactt	600
attaccgcga agccttatca ggtacgaaat ataattatga acccaaatta ttgtggtcgt	660
gtcatcaatc aatattggta atataacaat atggtaccac ctattgtttc ggcaacgaaa	720
tatgaacatg ctcaagcaat ccgtaataag aagcaacttc actgtatacc ttcagagaat	780
cagctgaaac aaaagatcaa atgtccttgt tgtgactcaa cactgacaaa tatgacaata	840
agaaaaaac atacattcgc atattatatt tgtcctaaaa atatgaatga atctcgcttt	900
10 gtctgttcat tcaaaggaat aaatgcacaa aaattagaag ttcaagtctt agctacatgt	960

## ES 2 536 887 T3

cagaacttct ttcaaaacca acagctctat tcaaaaatta ataatgcaat tcatcaacgc	1020
ctcaaaaaac aaagagtgat agaagctaaa agtacgctaa ctcaagaaca actgatagat	1080
aaacttgcca aaggtatgat tgatgctgaa tcattcagaa aacagactca tttgatgaat	1140
caaaagcaca aaaccatadc ctccataagt gataatcagt tacaacatc actacaaaag	1200
gttatacaga aaagtttcac gttaaacatg ctgcatccct atattgatga aattcgcatt	1260
acaaaaata aagcccttgt tgggatctat ttcaaaaatg aaccattgaa cattgtgaac	1320
caaacctcgc aatcatcgat tgcttaatca gaaaggatga aaaaatcatg caacaactca	1380
aacaaaaacg tgcoggtatc tatgttcgtg tatcaacgga aatccaaagt actgaaggct	1440
atagtatcga tggacaaatc aatcaaattc gagaatattg tgatttcaat aactttgttg	1500
ttgtagatgt atacgcggat agaggtatct ctggaaaatc tatgaaccga ccagaactac	1560
aacgtttggt aaaagatgcy 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
tcaaatatata atttgagtca tatgctaaag gccacggata tcgtaaaatt gcgaatgcac	1980
tcaatcacia aggatacgtg actaaaaaag gaaagccttt cagtattggt tcagtgcct	2040
atatcttata taatccattc tatgttggtg aaattcaatt cgcaaagtac aaagattgga	2100
atgaaaagcg tcgtaaaggg ctgaatgata aaccaataat agctgaaggc 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 gaaacaaagc ctcaaaagta tgttctgcga	2400
atagcgttag agctgatgty attgagaaat acgtcatgga tcaaatatc gaaattgtca	2460
aaagtataa agtcattaac caagtcttag aacgtgtcaa tcaagaaaat aaagtcgata	2520
ttggtgcatt gaaccacgat atcgttata aacaacaaca atacgatgaa gtcagcggga	2580
aactccataa tttagttaaa accattgaag ataatccgga cctaacatct gcattgaaag	2640
caactattca tcaatatgaa acacaactca atgacattac aatcaaatg aatcaactca	2700
aacagcaaca aatcaagag aaactatctt atgatacga acaaatcgtt gccctattac	2760
aacgaatatt tcaaaatata gaatcaatgg ataaagcaca actcaaagca ttatatctta	2820
cagtcattga cgttattgat attcgtaaag acggtaatca taaaaaacag ttctacgtta	2880
cactaaaact caataatgaa attattaaac aacttttcaa taataccct ctcgacgaag	2940
tgctcctcag cacttcgtct ttatttttgc ctcaaacgct ctttcttcaa atctaa	2996

# ES 2 536 887 T3

<212> DNA

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 233

5  
gctgtaggga aactaaaaga gaaatattgg aagcaagcca tagcagaata tgaaaaacgt 60  
ttaggcccat 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 tgtattcgtc 300  
attggcggat caaacggcct gcacaaggac gtcttacaac gcagtaacta cgcactatca 360  
ttcagcaaaa tgacattccc acatcaaatg atgcgggttg tgttaattga gcaagtgtat 420  
agagcattta agattatgcg tggagaagca tatcataaat gatgcggttt tttcagccgc 480  
ttcataaagg gattttgaaat gtatcagaac atatgaggtt tatgtgaatt gctgttatgt 540  
ttttaagaag catatcataa gtgatgcggt ttttattaat tagttgctaa aaaatgaagt 600  
atgcaatatt aattattatt aaattttgat atatttaaag aaagattaag tttaggggtga 660  
atgaatggct tatcaaagtg aatatgcatt agaaaatgaa gtacttcaac aacttgagga 720  
attgaactat gaaagagtaa atatacataa tattaatta gaaattaatg aatatctcaa 780  
agaactagga gtgttgaaaa atgaataagc agacaatac tccagaacta agatttccag 840  
agtttgatga ggaatggaaa aaaaggaaat taggtgaagt agtaaattat aaaaatggtg 900  
gttcatttga aagtttagtg aaaaacatg gtgtatataa actcataact cttaaatctg 960  
ttaatacaga aggaaagtig tgtaattctg gaaaatatat cgatgataaa tgtgttgaaa 1020  
cattgtgtaa tgatacttta gtaatgatac tgagcgagca agcaccagga ctagttgaa 1080  
tgactgcaat tatacctaata aataatgagt atgtactaaa tcaacgagta gcagcactag 1140  
tgcctaaaca atttatagat agtcaatttc tatctaagtt aattaataga aaccagaaat 1200  
atctcagtgt gagatctgct ggaacaaaag tgaaaaatat ttctaaagga catgtagaaa 1260  
actttaatth tttatctoct aattacactg aacaacaaaa aataggtaat ttcttcagca 1320  
aactcgaccg ccagattgag ttagaagaag agaaacttga actcttatag caacaaaagc 1380  
gtggatatat ttcagaagat ttttctcaag 1410

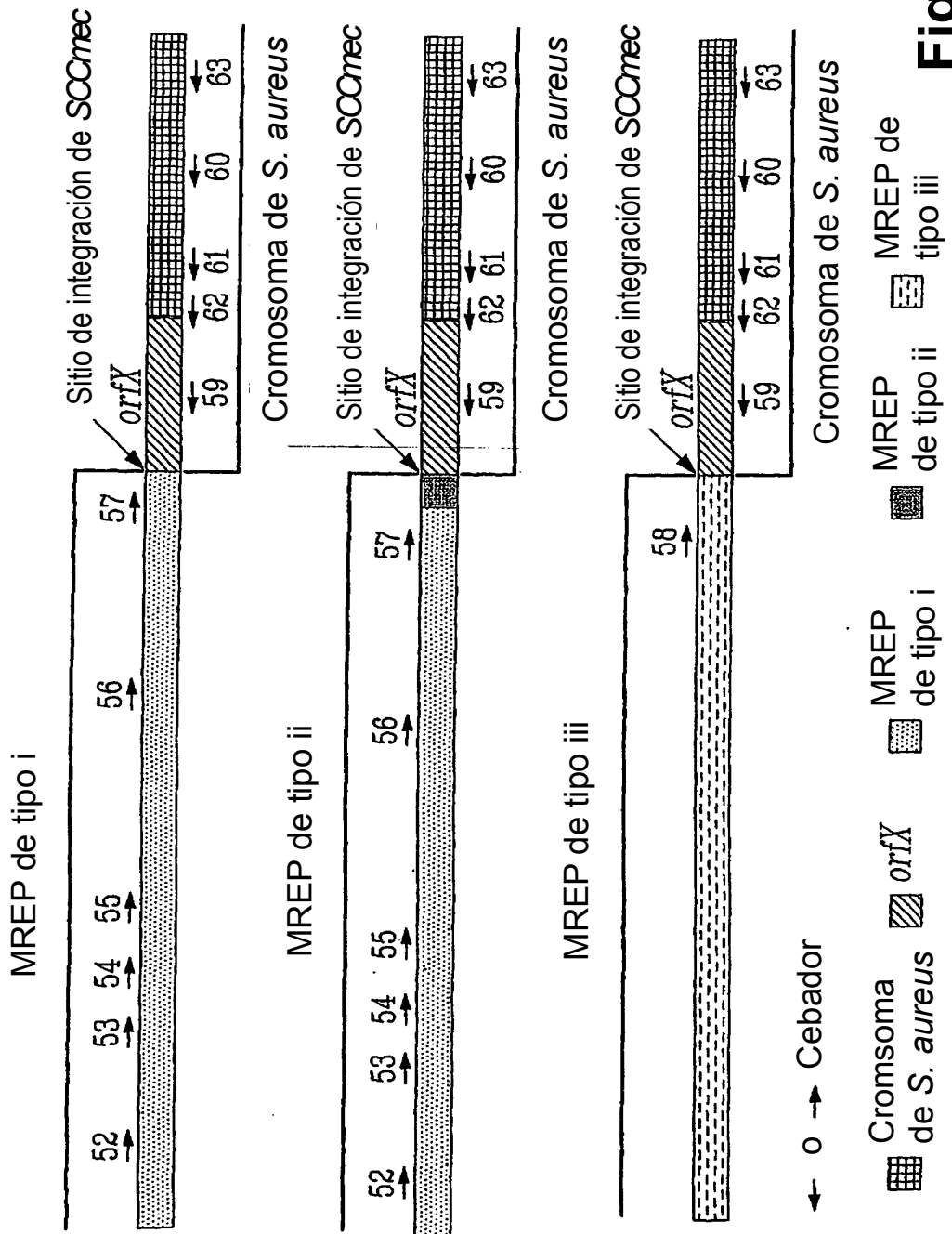


## REIVINDICACIONES

1. Un método para detectar la presencia de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) con MREJ de tipos i, ii, iii y v, que comprende:
- 5 a) poner en contacto una muestra en la que hay que analizar la presencia de dichas cepas de SARM con MREJ de tipo i, ii, iii y v, en donde dichas cepas de SARM incluyen un elemento del casete cromosómico estafilocócico de *mec* (SCC*mec*) que contiene un gen *mecA* insertado en el ADN cromosómico, mediante lo cual se genera una secuencia de unión en el extremo derecho (MREJ, por su nombre en inglés) polimórfica de tipos i, ii, iii o v que comprende secuencias procedentes tanto del extremo derecho del elemento SCC*mec* como del ADN cromosómico adjunto al
- 10 extremo derecho del elemento SCC*mec* con un primer y un segundo cebador para cada dicho MREJ de tipos i, ii, iii y v,
- en donde dicho primer cebador se hibrida con dicho extremo derecho del elemento SCC*mec* de una secuencia de MREJ de tipo i, ii, iii o v 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, las SEQ ID n.º 2, 17 a 19, 26, 40, 173 a 183, 185, 186 y 197, y complementos de
- 15 las mismas, para la MREJ de tipo ii, las SEQ ID n.º 4 a 16, 104, 184 y 198, y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo iii, y la SEQ ID n.º 47 a 50, y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo v; 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 tipo i, ii, iii o v está presente en dicha muestra; y
- b) detectar la presencia de dicho uno o varios amplicones.
- 20 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha secuencia cromosómica de *S. aureus* es *orfX*.
3. El 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 de las siguientes SEQ ID n.º: 65, 80, 154, 155, 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 v.
- 25 4. El 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 80.
5. El método de acuerdo con la reivindicación 4, que además comprende el uso de al menos una sonda que tiene una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID n.º 32, 83, 84, 160, 161, 162, 163 y 164.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dichos cebadores y sondas tienen las siguientes
- 30 secuencias nucleotídicas: SEQ ID n.º 64, 80, 84, 163 y 164 para detectar los MREJ de tipo v.
7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde se usan juntos muchos cebadores y/o sondas en el mismo confinamiento físico.
- 8: Un kit para detectar la presencia de cepas de SARM con MREJ de tipos i, ii, iii y v en una muestra, que comprende:
- 35 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 v 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, las 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, las SEQ ID n.º 4 a 16, 104, 184 y 198, y complementos de las mismas, para la MREJ de tipo iii, y la SEQ ID n.º 47 a 50, y el complemento de la misma, para la MREJ de tipo v; y
- 40 b) un segundo oligonucleótido que se hibrida con una secuencia cromosómica de *S. aureus*;
- en donde dichos oligonucleótidos de a) y b) permiten la generación selectiva de uno o varios amplicones que comprende(n) secuencias tanto del extremo derecho del elemento SCC*mec* como del ADN cromosómico adjunto a dicho extremo derecho de dichas cepas de SARM con MREJ de tipos i, ii, iii y v.
9. El kit de acuerdo con la reivindicación 8, en donde dicha secuencia específica del ADN cromosómico de *S.*
- 45 *aureus* es *orfX*.
10. El kit de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, en donde dicho segundo oligonucleótido en b) comprende una secuencia seleccionada del 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. El kit de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, que comprende una pareja de oligonucleótidos que consiste en
- 50 las SEQ ID n.º 64 y 80.
12. El kit de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, que además comprende al menos una sonda seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID n.º 32, 83, 84, 160, 161, 162, 163 y 164.

13. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o el 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. El kit de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13, que comprende cebadores y sondas que  
5 tienen las secuencias como las presentadas en las SEQ ID n.º 64, 115, 116, 84, 163 y 164.



**Figura 1**

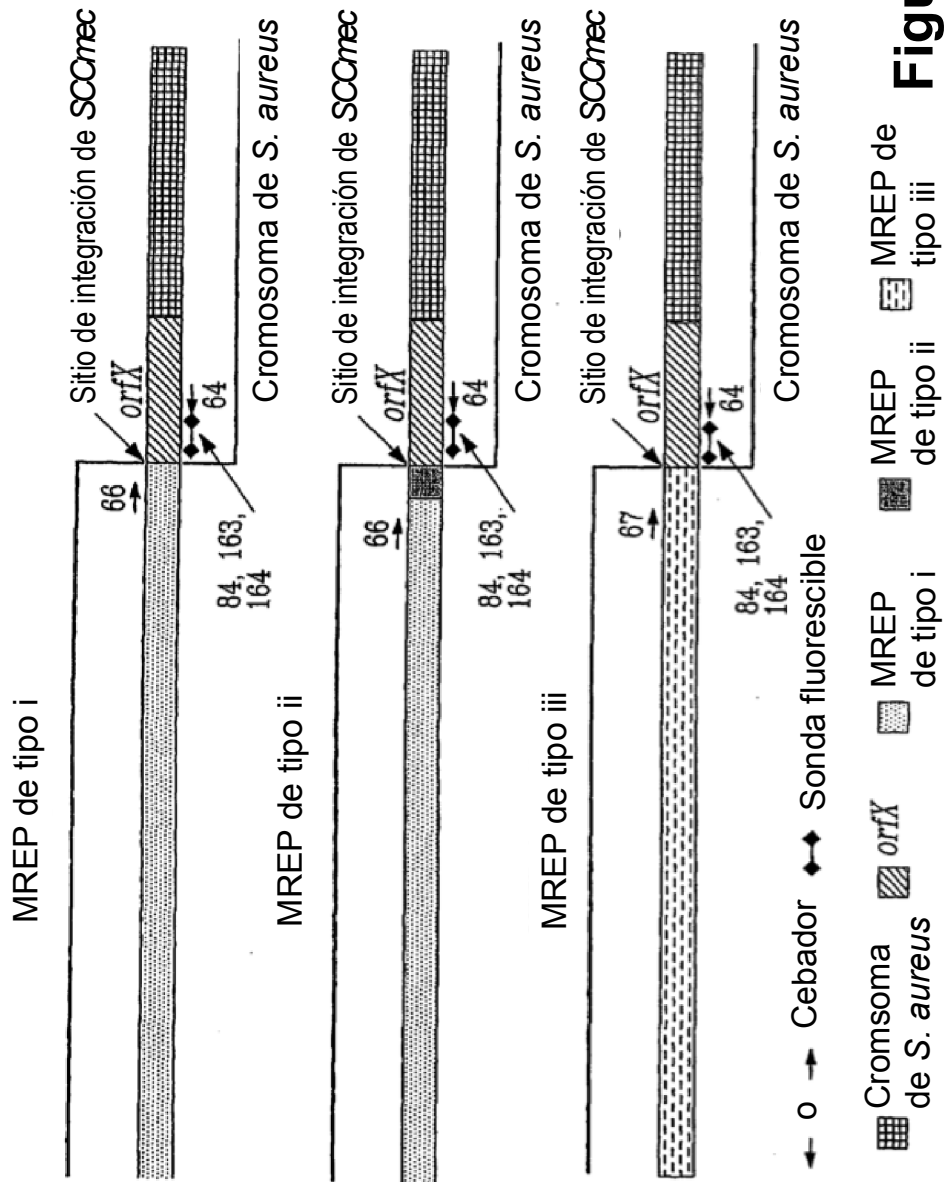
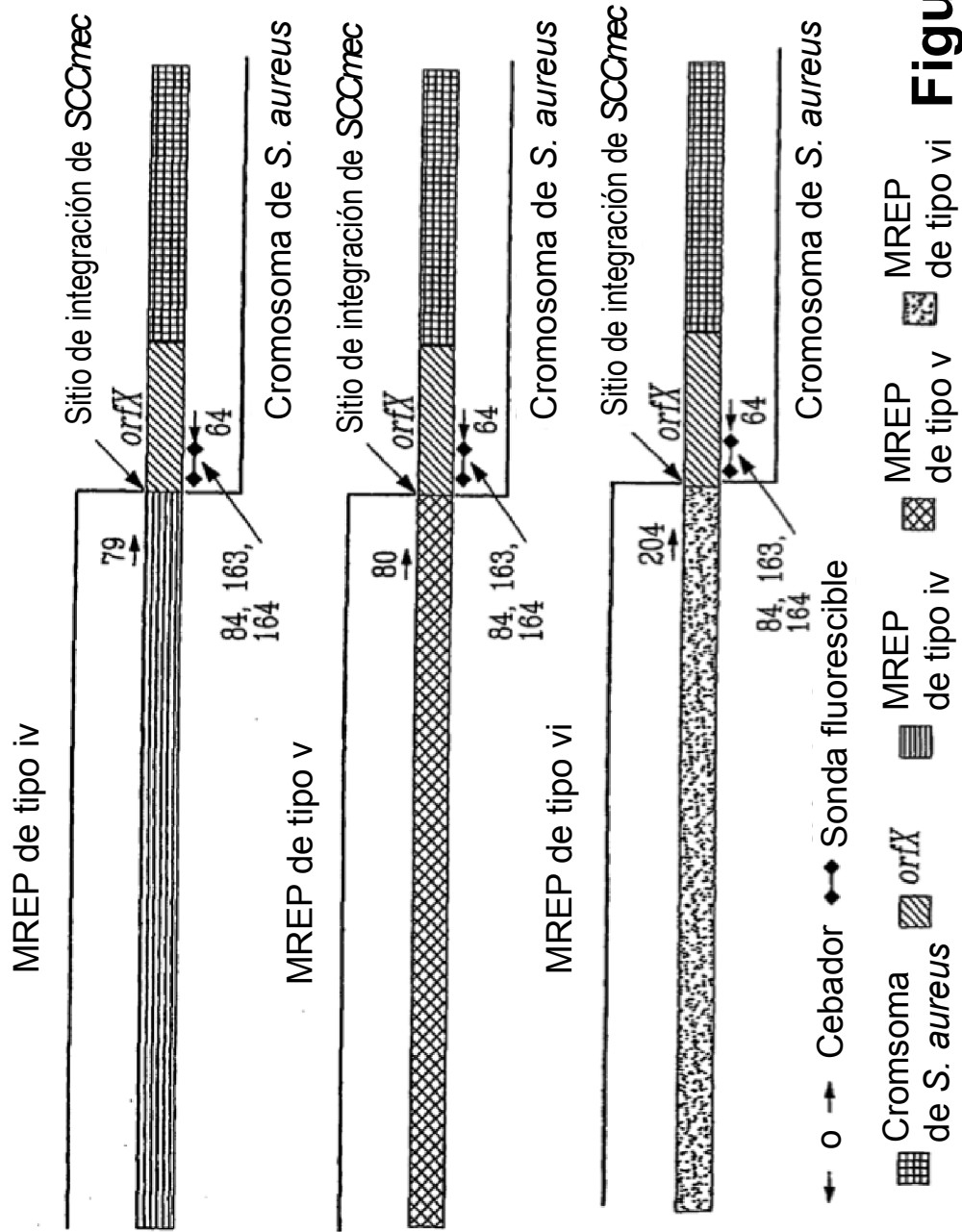
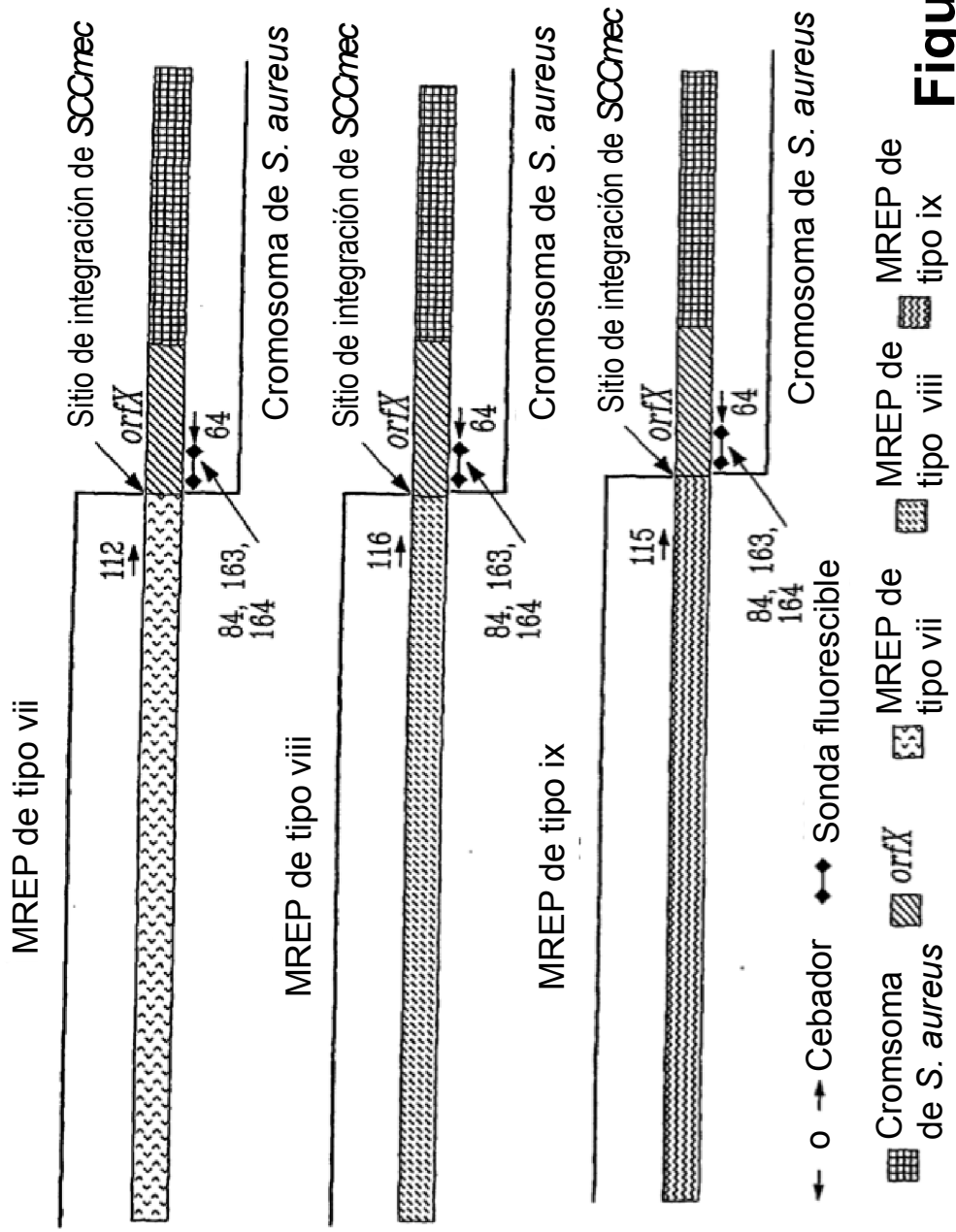


Figura 2A



**Figura 2B**



**Figura 2C**

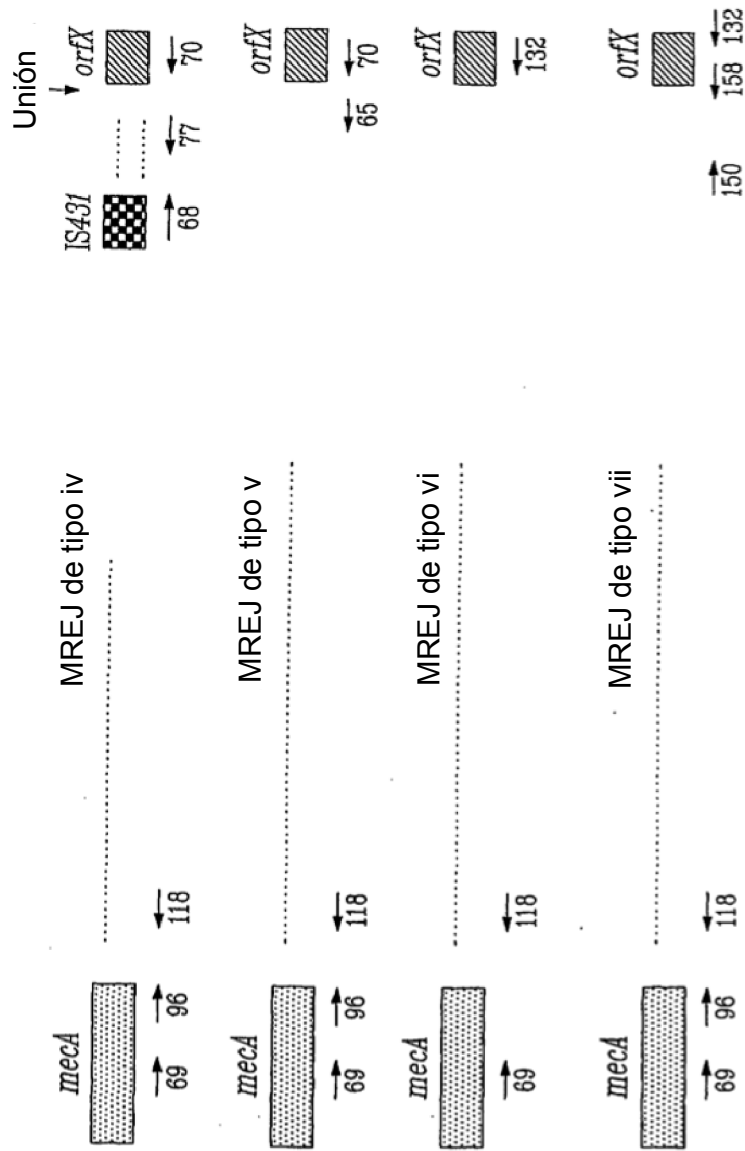


Figura 3A



→ 0 → Cebador

Figura 3B



Sitio de integración de *SCCrréc*



Figura 4A

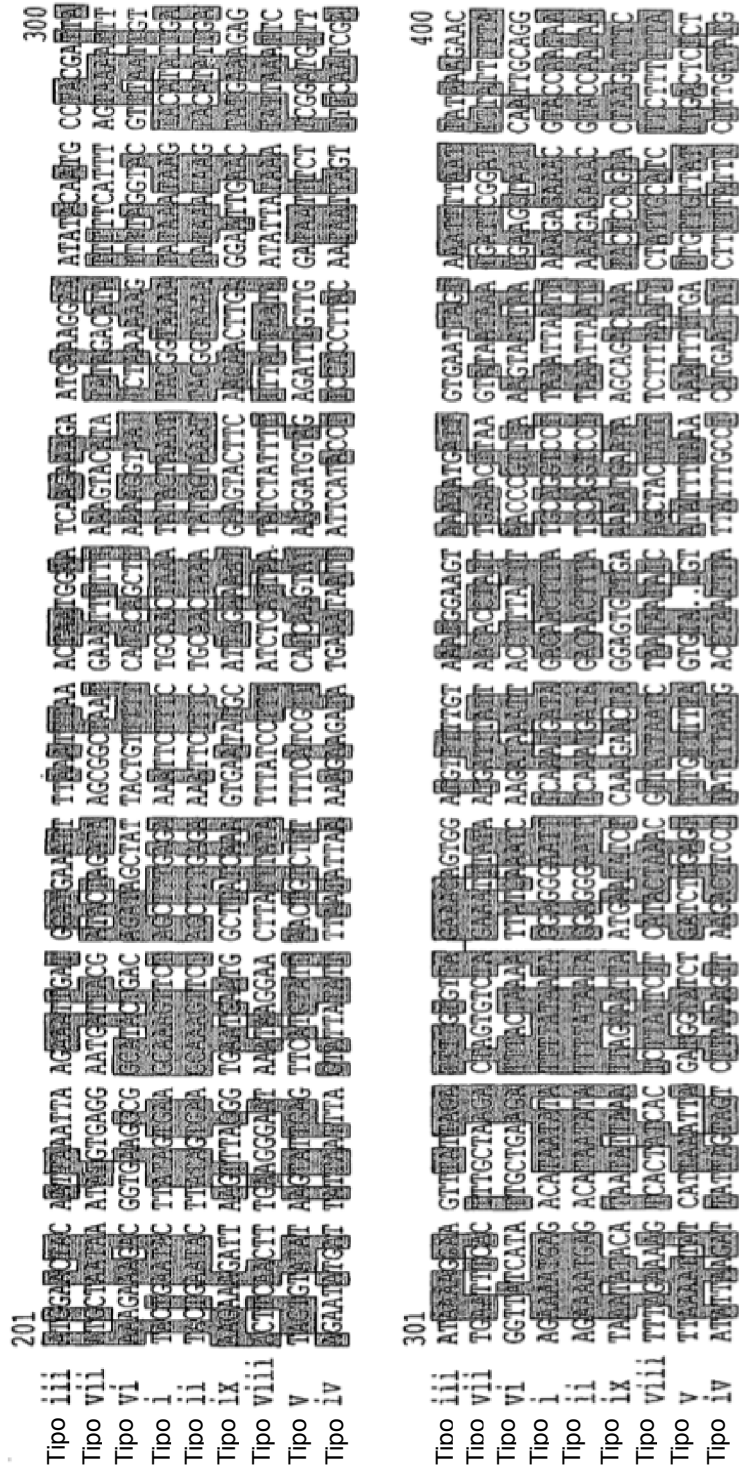


Figura 4B

