



(86) Date de dépôt PCT/PCT Filing Date: 2001/07/20  
 (87) Date publication PCT/PCT Publication Date: 2002/01/31  
 (45) Date de délivrance/Issue Date: 2013/07/02  
 (85) Entrée phase nationale/National Entry: 2003/01/21  
 (86) N° demande PCT/PCT Application No.: FR 2001/002371  
 (87) N° publication PCT/PCT Publication No.: 2002/008459  
 (30) Priorités/Priorities: 2000/07/21 (FR00/09600);  
 2000/10/02 (FR00/12524)

(51) Cl.Int./Int.Cl. *C12Q 1/68* (2006.01)  
 (72) Inventeurs/Inventors:  
 ROMOND, PIERRE-CHARLES, FR;  
 RENAUD, MICHEL, FR;  
 ALRIC, MONIQUE, FR;  
 MEINIEL, OLIVIER, FR;  
 BALLUT, LIONEL, FR  
 (73) Propriétaire/Owner:  
 COMPAGNIE GERVAIS DANONE, FR  
 (74) Agent: NORTON ROSE FULBRIGHT CANADA  
 LLP/S.E.N.C.R.L., S.R.L.

(54) Titre : PROCÉDE DE DETECTION DE MICROORGANISMES  
 (54) Title: METHOD FOR DETECTING MICRO-ORGANISMS

(57) **Abrégé/Abstract:**

La présente invention concerne un procédé de détection des éléments constitutifs d'une flore de microorganismes, dont au moins une partie des éléments possède un opéron en commun, caractérisé en ce que l'on identifie les éléments de ladite flore par l'étude de la séquence intergénique dudit opéron, ainsi qu'un support présentant des acides nucléiques pouvant hybrider ladite séquence intergénique.



(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international(43) Date de la publication internationale  
31 janvier 2002 (31.01.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 02/08459 A2(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : C12Q 1/68Lionel [FR/FR]; Résidence Les Sources Vives, Bâtiment  
E, 20, avenue Jean Jaurès, F-63400 Chamalière (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR01/02371

(74) Mandataires : MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet  
Regimbeau, 20, rue de Chazelles, F-75847 Paris Cedex 17  
(FR).

(22) Date de dépôt international : 20 juillet 2001 (20.07.2001)

(25) Langue de dépôt : français

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,  
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,  
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :

00/09600 21 juillet 2000 (21.07.2000) FR  
00/12524 2 octobre 2000 (02.10.2000) FR(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,  
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien  
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen  
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,  
MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,  
CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) :  
UNIVERSITE D'AUVERGNE [FR/FR]; 49, boulevard  
François Mitterrand, F-63000 Clermont-Ferrand (FR). DI-  
GESTAR [FR/FR]; Biopole Clermont-Limagne, F-63360  
Saint-Beauzire (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : ROMOND,  
Pierre-Charles [FR/FR]; 3, rue des Vignots, F-63670  
Orcet (FR). RENAUD, Michel [FR/FR]; 14, rue Paul  
Langevin, F-63670 Le Cendre (FR). ALRIC, Monique  
[FR/FR]; 27, avenue des Landais, F-63000 Clermont-Fer-  
rand (FR). MEINIEL, Olivier [FR/FR]; 12, impasse de  
l'Auzon, F-63800 Cournon d'Auvergne (FR). BALLUT,

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée  
dès réception de ce rapportEn ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: METHOD FOR DETECTING MICRO-ORGANISMS

(54) Titre : PROCEDE DE DETECTION DE MICROORGANISMES

(57) Abstract: The invention concerns a method for detecting micro-organisms constituting a flora of micro-organisms, whereof at least part of the elements has a common operon. The invention is characterised in that it consists in identifying the elements of said flora by studying the intergenetic sequence of said operon, and the support exhibiting nucleic acids capable of hybridizing said intergenetic sequence.

(57) Abrégé : La présente invention concerne un procédé de détection des éléments constitutifs d'une flore de microorganismes, dont au moins une partie des éléments possède un opéron en commun, caractérisé en ce que l'on identifie les éléments de ladite flore par l'étude de la séquence intergénétique dudit opéron, ainsi qu'un support présentant des acides nucléiques pouvant hybrider ladite séquence intergénétique.



WO 02/08459 A2

## PROCEDE DE DETECTION DE MICROORGANISMES

La présente invention concerne un procédé de détection des éléments constitutifs d'une flore de microorganismes, dont au moins une partie des éléments possède un opéron en commun, caractérisé en ce que l'on identifie les éléments de ladite flore par l'étude de la séquence intergénique dudit opéron.

Le système digestif humain héberge un nombre considérable de microorganismes qui constituent une flore microbienne d'une extrême complexité. Bien que ces bactéries soient réparties tout au long du tractus digestif, le côlon renferme l'essentiel de cette flore tant d'un point de vue quantitatif que qualitatif. On estime que la flore colique d'un individu est constituée de  $10^{13}$  à  $10^{15}$  bactéries, pour l'essentiel anaérobies, représentées par au moins 400 espèces appartenant à environ 30 genres différents. Ces bactéries colonisent les différents étages du côlon de façon relativement hétérogène. On décrit classiquement une flore dite de fermentation au niveau du caecum ainsi qu'une flore dite de putréfaction au niveau du côlon gauche. Par ailleurs, on distingue une flore résidente d'une flore de passage. Cette flore résidente est elle-même scindée en flore dominante et flore sous-dominante. Les bactéries dominantes, essentiellement anaérobies, sont majoritairement représentées par le genre *Bacteroides*, bacilles gram négatif, mais aussi par les genres *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ou *Clostridium*, bacilles gram positif. La flore sous-dominante renferme des bactéries aéro-anaérobies et microaérophiles. On note surtout la présence d'entérobactéries et de streptocoques. Aussi bien le régime alimentaire, les infections, l'apport de pré et probiotiques que les traitements antibiotiques, sont susceptibles de provoquer des modifications drastiques de la composition de la flore colique. Ces variations ayant un impact direct sur la santé, il est important de les connaître et de les comprendre, tant pour les éviter que pour les déclencher dans un but thérapeutique. Jusqu'à présent, l'étude des bactéries coliques a permis de caractériser environ 200 espèces. Toutefois, ce type d'investigation se heurte à de nombreux problèmes liés essentiellement à la lourdeur des techniques. Les résultats obtenus ainsi que les conclusions qui en découlent sont encore fragmentaires.

L'identification des bactéries est réalisée selon différents procédés qui font appel soit à la mise en évidence de caractères phénotypiques ou biochimiques

spécifiques, soit à l'utilisation et la reconnaissance de zones spécifiques hétérologues présentes sur le génome.

Un début d'identification pourra être effectué en décrivant la morphologie de l'organisme étudié et en recherchant par exemple la présence d'endospores, de gaines, de kystes, de bourgeons, de corps fructifiants... La forme des colonies, la pigmentation, l'origine du prélèvement sont également des informations utiles. On pourra également effectuer des études préliminaires en utilisant des colorants spécifiques de la capsule, des flagelles, des granules, de la paroi... Toutefois, une identification plus poussée et précise passe obligatoirement par des techniques d'isolement sur milieux sélectifs. De tels milieux sont développés ou améliorés afin d'augmenter la spécificité de cette sélection. Cependant, il est difficile d'exclure complètement la présence d'éventuels contaminants qui peuvent alors interférer dans les tests de reconnaissance ultérieurement employés.

Ces tests font appel aux caractères biochimiques spécifiques d'une espèce. Il existe des systèmes multitests. Ce sont des galeries d'identification qui se présentent sous forme de kits, de microplaques, de bandelettes dont l'utilisation est parfois automatisée. Toutefois, il existe un certain degré d'hétérogénéité d'origine chromosomique ou plasmidique au sein de nombreuses espèces. Ainsi un ou plusieurs caractères seront absents lors de l'identification. Aussi ne donnera-t-on, la plupart du temps, que la probabilité d'appartenance à une espèce. Une similitude de 80% ou plus avec une bactérie de référence sera considérée comme acceptable. Des systèmes monotests sont également développés. Ils utilisent des substrats synthétiques fluorescents permettant de mettre en évidence la présence d'une enzyme spécifique d'un microorganisme. Ils permettent une analyse rapide mais sont limités dans leur utilisation. En effet, un test spécifique doit être développé pour chaque espèce.

Des tests immunologiques à partir d'anticorps poly- ou monoclonaux sont également développés. En dehors de la limitation évidente inhérente aux anticorps polyclonaux, ces tests sont majoritairement employés pour la caractérisation de sérotypes mais rarement pour l'identification d'espèces. Bien que couramment utilisés dans le diagnostic hospitalier, ils restent peu employés en bactériologie. Quant à la réalisation d'anticorps monoclonaux, elle reste un travail long, laborieux

et onéreux. Ils sont par exemple dirigés contre des lipopolysaccharides, la membrane, les pili..., mais sont cependant rarement spécifiques d'une espèce.

Le développement des techniques de biologie moléculaire a permis de développer de nouveaux tests d'identification. Ces techniques sont basées sur des réactions d'hybridation ou d'amplification en chaîne par polymérase (PCR).

L'hybridation génome/génome doit être supérieure ou égale à 70% pour identifier une espèce de bactérie inconnue comme étant la bactérie de référence connue dont on utilise l'ADN génomique pour réaliser le diagnostic. D'autres tests font intervenir des zones hétérologues sur l'ADN spécifique d'une espèce. On peut ainsi utiliser la technique d'hybridation qui consiste à déposer sur une membrane de nylon ou nitrocellulose le produit à analyser puis à incuber avec une sonde marquée (sonde froide ou sonde chaude) spécifique {1}.

On peut également employer des amorces spécifiques permettant d'amplifier un fragment de taille déterminée par la technique de PCR {2, 3}. Dans ce cas, les amplifiats obtenus par PCR peuvent être eux-mêmes analysés par d'autres techniques telles que la RFLP (polymorphisme de taille des fragments de restriction) {4} ou le TGGE (gel d'électrophorèse en gradient de température) {5}, affinant le diagnostic.

En dépit de leur grande capacité de discrimination, ces techniques restent limitées dans la mesure où elles ne permettent d'analyser qu'une espèce à la fois, ou bien consiste à isoler un mélange d'espèces qu'on ne peut identifier alors sans connaître exactement le pattern d'analyse des amplifiats par une technique donnée sur un biotope donné.

Le développement des puces à ADN (biopuces) permet d'envisager un diagnostic rapide portant sur plusieurs centaines d'espèces. Cette technique consiste à placer sur une surface de quelques millimètres carrés plusieurs centaines de séquences d'ADN spécifiques d'un organisme donné. Ces sondes sont hybridées avec des fragments d'ADN, généralement obtenus par RT-PCR. L'hybridation éventuelle desdits fragments est alors observée, et indique la présence ou l'absence du gène exprimé, ou de l'organisme étudié.

Les cibles nucléiques étudiées ces dernières années sont essentiellement l'ARN ribosomal 16S (avec plus de 7000 séquences disponibles) {1, 2, 4, 5}, la région séparant les loci génétiques 16S et 23S {3} et les facteurs d'élongation {6,

7}. Ainsi, en se basant sur les ARN 16S, plusieurs espèces nouvelles ont pu être détectées, appartenant aux groupes *Bactéroïdes* et *Clostridium*, mais pas *Bifidobacterium* {8}. Par ailleurs, et bien que les ARN 16S permettent de détecter et d'identifier de nombreuses bactéries au degré de l'espèce, ils sont incapables de discriminer les différentes espèces de Staphylocoques {2, 3}. Ainsi, une région variable du gène codant pour HSP 60 a été proposée pour l'étude des microorganismes de la flore intestinale {9}.

La présente invention a pour objet un procédé de détection et d'identification des éléments constitutifs d'une flore de microorganismes, en particulier la flore intestinale, selon lequel on détecte et on étudie une cible encore plus discriminatoire et universelle que celles déjà étudiées.

Le procédé selon la présente invention comprend la caractérisation des séquences de cette cible pour les organismes présents dans la flore microbienne étudiée, et permet ainsi de concevoir un test de diagnostic.

Ainsi, la cible étudiée dans le procédé de l'invention présente une forte hétérogénéité interespèce, ce qui permet la discrimination entre les microorganismes.

La présente invention concerne donc un procédé de détection des éléments constitutifs d'une flore de microorganismes dont au moins une partie des éléments possède un opéron en commun, caractérisé en ce que :

- a) on prépare l'ADN génomique de ladite flore ou les ARNm,
- b) on amplifie au moins une partie des séquences intergéniques non codantes situées dans l'opéron conservé chez au moins une partie des éléments de la flore et
- c) on identifie les différentes séquences intergéniques amplifiées afin de déterminer les éléments de ladite flore.

En effet, de façon surprenante, il a été remarqué que les régions intergéniques, dans les opérons conservés entre différentes espèces, présentent une certaine hétérogénéité, alors que les zones codantes qui flanquent lesdites régions en 5' et/ou en 3' sont généralement très conservées. Il est possible que ce fait soit du à une pression de sélection peu forte sur les régions non codantes au cours de l'évolution {10}.

L'amplification est effectuée de préférence par amplification en chaîne par polymérase (PCR), mais d'autres méthodes (PCR-like) peuvent être employées, utilisant un couple d'amorces de séquences nucléotidiques permettant la mise en œuvre du procédé selon l'invention.

5 Par PCR-like on entend désigner toutes les méthodes mettant en œuvre des reproductions directes ou indirectes des séquences d'acides nucléiques, ou bien dans lesquelles les systèmes de marquage ont été amplifiés, ces techniques sont bien entendu connues. En général il s'agit de l'amplification de l'ADN par une polymérase ; lorsque l'échantillon d'origine est un ARN il convient préalablement  
10 d'effectuer une transcription reverse. Il existe actuellement de très nombreux procédés permettant cette amplification, comme par exemple la technique SDA (Strand Displacement Amplification) ou technique d'amplification à déplacement de brin, la technique TAS (Transcription-based Amplification System), la technique 3SR (Self-Sustained Sequence Replication), la technique NASBA (Nucleic Acid  
15 Sequence Based Amplification), la technique TMA (Transcription Mediated Amplification), la technique LCR (Ligase Chain Reaction), la technique de RCR (Repair Chain Reaction), la technique CPR (Cycling Probe Reaction), la technique d'amplification à la Q-béta-réplique. Certaines de ces techniques ont depuis été perfectionnées.

20 L'analyse des séquences amplifiées est avantageusement effectuée sur une puce à ADN comportant des séquences complémentaires des séquences susceptibles d'être amplifiées à partir des éléments de ladite flore. La connaissance des microorganismes pouvant être présents dans l'échantillon biologique étudié est donc importante afin de choisir la puce à ADN à utiliser. Ainsi, il est nécessaire que  
25 la puce à ADN présente, à sa surface, des sondes spécifiques de chacun des organismes que l'on veut étudier. Une telle puce à ADN est également un objet de l'invention.

Ainsi, la présente invention concerne tout particulièrement une puce à ADN comprenant, à sa surface une pluralité d'oligonucléotides complémentaires des  
30 séquences intergéniques des différents opérons conservés entre les espèces. Par puce à ADN, on entend un support solide sur lequel on fixe des fragments d'acides nucléiques dans des conditions permettant leur hybridation avec les oligonucléotides complémentaires et la détection des hybrides ainsi formés. Ainsi,

une puce à ADN selon l'invention concerne également les membranes telles qu'utilisées pour effectuer des Southern Blots.

Les oligonucléotides fixés sur la puce à ADN selon la présente invention le sont par toute méthode classique connue de l'homme du métier, et présentent une  
5 longueur d'environ 50 bases. Il est entendu que les oligonucléotides considérés peuvent également être plus courts, ou plus long. Ainsi, il est à la portée de l'homme du métier de déterminer la longueur des oligonucléotides fixés sur la puce selon l'invention, pour chaque séquence.

De façon préférée, les oligonucléotides fixés sur la puce à ADN sont choisis  
10 de telle sorte que leur séquence comprenne une partie de la région hypervariable identifiée selon la présente invention. Les oligonucléotides fixés sur la puce selon l'invention peuvent également contenir des séquences correspondant aux séquences variables à un degré moindre, situées à ou proche de l'extrémité des gènes de l'opéron.

15 Dans un cas particulier et préféré de mise en œuvre de l'invention, la puce à ADN selon l'invention présente une pluralité (un nombre supérieur ou égal à 2, de préférence 3, de façon plus préférée 5, de façon la plus préférée 10) d'oligonucléotides de taille supérieure à 40 bases. De préférence, lesdits oligonucléotides comprennent un fragment d'au moins 20, de préférence 40 ou 50,  
20 de façon plus préférée 75, de façon la plus préférée 100 bases consécutives, des séquences SEQ ID N° 63 à SEQ ID N° 138 et SEQ ID N° 140 à SEQ ID N° 189, correspondant aux séquences intergéniques de différentes espèces (rpoBC pour SEQ ID N°63 à SEQ ID N°138, GroESL pour SEQ ID N° 140 à SEQ ID N° 189).

Ainsi, la mise en évidence des éventuelles hybridations des séquences  
25 amplifiées permet d'identifier les éléments présents dans la flore microbienne étudiée.

Un opéron particulièrement adapté à la mise en œuvre du procédé selon l'invention est l'opéron rpoBC des bactéries. Cet opéron bactérien contient des  
30 séquences codantes relativement homologues entre genres. Il est donc possible de déterminer des amorces dégénérées pour amplifier une zone hétérologue entre espèces qui correspond à la zone intergénique transcrite (ZIG). L'opéron rpoBC code chez les bactéries pour les sous-unités beta et beta prime de la « DNA-directed



RNA polymerase » (ARN polymérase) tout comme les gènes homologues conservés ou non sous forme d'opéron chez les mitochondries et autres organelles eucaryotiques (chloroplastes), et tout comme l'ARN polymérase II eucaryote nucléaire (qui synthétise les ARN messagers). L'étude de cet opéron permet non  
 5 seulement de détecter les bactéries mais aussi d'autres microorganismes eucaryotes (levures, protozoaires, ou autres).

Le procédé selon l'invention est ainsi mis en œuvre, en utilisant des amorces dégénérées situées dans les séquences codantes des opérons, notamment au moins une amorce choisie parmi les séquences SEQ ID N° 1 à SEQ ID N° 31, elles-  
 10 mêmes objet de l'invention. Les protéines ARN polymérases sont en effet extrêmement conservées selon les espèces, ce qui permet de trouver des séquences d'acides aminés s'alignant entre elles, et ainsi de choisir des oligonucléotides dégénérés pour effectuer l'amplification des séquences intergéniques.

On utilise les couples d'amorces décrites par les séquences, (une séquence  
 15 choisie parmi les séquences SEQ ID N° 1 à SEQ ID N° 8) / (une séquence choisie parmi les séquences SEQ ID N° 9 à SEQ ID N° 11) pour amplifier une première fois la région intergénique ZIG des bactéries. Une seconde amplification plus spécifique peut alors être mise en œuvre en utilisant des couples d'amorces s'hybridant à l'intérieur de la première région amplifiée et décrites par les  
 20 séquences, (une séquence choisie parmi les séquences SEQ ID N° 12 à SEQ ID N° 15) / (une séquence choisie parmi les séquences SEQ ID N° 16 à SEQ ID N° 31).

	SEQ ID N°1	GGN GAY AAR YTN GCN GGN AGN CAY GG
	SEQ ID N°2	GGN GAY AAR YTN GCN GGN CGN CAY GG
	SEQ ID N°3	GGN GAY AAR YTN GCN AAY AGN CAY GG
25	SEQ ID N°4	GGN GAY AAR YTN GCN AAY CGN CAY GG
	SEQ ID N°5	GGN GAY AAR ATG GCN GGN MGN CAY GG
	SEQ ID N°6	GGN GAY AAR TTY GCN TCN MGN CAY GG
	SEQ ID N°7	GGN GAY AAR TTY GCN AGY MGN CAY GG
	SEQ ID N°8	GGN GAY AAR TTY GCN ACN MGN CAY GG
30	SEQ ID N°9	AAY GCN GAY TTY GAY GGN GAY CAR AT
	SEQ ID N°10	AAY GCN GAY TTY GAY GGN CAR ATG GC
	SEQ ID N°11	AAY GCN GAY TTY GAY GGN GAY GAR AT
	SEQ ID N°12	GGN GGN CAR MGN TTY GGN GAR ATG GA
	SEQ ID N°13	GGN GGN CAY GGN TTY GGN GAR ATG GA
35	SEQ ID N°14	GGN GGN CAR WSN TTY GGN GAR ATG GA
	SEQ ID N°15	GGN GGN NTN MGN TTY GGN GAR ATG GA
	SEQ ID N°16	GGN AAR CGN GTN GAY TAY TCN GGN MG
	SEQ ID N°17	GGN AAR CGN GTN GAY TAY AGN GGN MG

	SEQ ID N°18	GGN AAR AGN GTN GAY TAY TCN GGN MG
	SEQ ID N°19	GGN AAR AGN GTN GAY TAY AGN GGN MG
	SEQ ID N°20	GGN AAR CGN GGN GAY TAY TCN GTN MG
	SEQ ID N°21	GGN AAR CGN GGN GAY TAY AGN GTN MG
5	SEQ ID N°22	GGN AAR AGN GGN GAY TAY TCN GTN MG
	SEQ ID N°23	GGN AAR AGN GGN GAY TAY AGN GTN MG
	SEQ ID N°24	GGN AAR CGN GTN GAY TTY TCN GGN MG
	SEQ ID N°25	GGN AAR CGN GTN GAY TTY AGN GGN MG
	SEQ ID N°26	GGN AAR AGN GTN GAY TTY TCN GGN MG
10	SEQ ID N°27	GGN AAR AGN GTN GAY TTY AGN GGN MG
	SEQ ID N°28	GGN AAR CGN GTN GAY TTY TCN GCN MG
	SEQ ID N°29	GGN AAR CGN GTN GAY TTY AGN GCN MG
	SEQ ID N°30	GGN AAR AGN GTN GAY TTY TCN GCN MG
15	SEQ ID N°31	GGN AAR AGN GTN GAY TTY AGN GCN MG

On utilise les couples d'amorces décrites par les séquences, (une séquence choisie parmi les séquences SEQ ID N° 53 et SEQ ID N° 54 pour amplifier la région intergénique ZIG des bacteries.

20	FO	SEQ ID N°53	GGN GGN CAN NSN TTY GGN GAR ATG GA
	RP	SEQ ID N°54	AAV GCN GAY TTY GAY GGN GAY SAR AT
	FO	SEQ ID N°55	GGN GGN CAR MGN TTY GGN GAR ATG GA
		SEQ ID N°56	GGN GGN CAY GGN TTY GGN GAR ATG GA
25		SEQ ID N°57	GGN GGN CAR WSN TTY GGN GAR ATG GA
		SEQ ID N°58	GGN GGN NTN MGN TTY GGN GAR ATG GA
	RP	SEQ ID N°59	AAV GCN GAY TTY GAY GGN GAY CAR AT
		SEQ ID N°60	AAV GCN GAY TTY GAY GGN CAR ATG GC
30		SEQ ID N°61	AAV GCN GAY TTY GAY GGN GAY GAR AT

Ces amorces ont été dessinées à partir de l'étude de la dégénérescence de motifs protéiques conservés correspondant à rpoB et/ou codés par le gène rpoB :

35	beta 2 I :	
		coryneb/bif/actinom/camp/pseudom/salmon/esch/vibrio /clos/bact/hel/citrob/prot/haf/yers/ /past/actinob/aer
40	SEQ ID N°55	GGN GGN CAR MGN TTY GGN GAR ATG GA
	(8 deg)	
	beta 2 ii :	bacillus
	SEQ ID N°56	GGN GGN CAY GGN TTY GGN GAR ATG GA
	(7 deg)	
45	beta 2 iii :	helicobacter mustelae

- SEQ ID N° 57 GGN GGN CAR WSN TTY GGN GAR ATG GA  
(8 deg)  
beta 2 iv : archae (methano)
- 5 SEQ ID N° 58 GGN GGN NTN MGN TTY GGN GAR ATG GA  
(9 deg)  
FO : 2 I/II/III : GGN GGN CAN NSN TTY GGN GAR ATG GA  
(SEQ ID N° 53)
- 10 Pour les séquences inverses, déterminées à partir de la  
dégébérescence de motifs protéiques conservés  
correspondant à rpoC et/ou codés par le gène rpoC  
beta p 2 i :  
coryneb/bif/actinom/bac/camp/pseudom/salmon/esch/vi
- 15 brio/clos/bact/hel/citrob/prot  
/haf/yers/past/actinob/aer/staph/lactob/enteroc/lactoc  
SEQ ID N° 59 AAY GCN GAY TTY GAY GGN GAY CAR AT (8  
deg)  
beta p 2 ii : archae (methano)
- 20 SEQ ID N° 61 AAY GCN GAY TTY GAY GGN GAY GAR AT (8  
deg)  
beta p 2 iii : streptoc  
SEQ ID N° 60 AAY GCN GAY TTY GAY GGN CAR ATG GC (7  
deg)
- 25 RP : P 2 i/ii : AAY GCN GAY TTY GAY GGN GAY SAR AT  
(SEQ ID N° 54)  
« REVERSE » ATY TSR TCN CCR TCR AAR TCN GCR TT  
(SEQ ID N° 62)
- 30

Ces amorces font aussi partie de l'invention.

- L'invention a également pour objet les séquences génomiques de  
microorganismes pouvant être amplifiées par les amorces selon l'invention, en
- 35 particulier les couples d'amorces (une séquence choisie parmi les séquences SEQ  
ID N° 1 à SEQ ID N° 8) / (une séquence choisie parmi les séquences SEQ ID N° 9  
à SEQ ID N° 11) et les couples d'amorces (une séquence choisie parmi les  
séquences SEQ ID N° 12 à SEQ ID N° 15) / (une séquence choisie parmi les  
séquences SEQ ID N° 16 à SEQ ID N° 31). On envisage aussi l'amplification avec
- 40 des couples d'amorces (une séquence choisie parmi les séquences SEQ ID N° 53,  
SEQ ID N° 55 à SEQ ID N° 58) / (une séquence choisie parmi les séquences SEQ  
ID N° 54, SEQ ID N° 59 à SEQ ID N° 61).

Ainsi, l'invention a également notamment pour objet une séquence parmi SEQ ID N° 63 à SEQ ID N° 138, qui correspondent aux régions intergéniques hypervariables de l'opéron rpoB de différents organismes. L'invention a également pour objet tout fragment d'un minimum de 20 bases, de préférence 30 bases, de façon plus préférée 50 bases, de façon encore plus préférée 75 bases, de façon la plus préférée 100 bases de l'une des séquences SEQ ID N° 63 à SEQ ID N° 138 ou leurs séquences complémentaires, ledit fragment pouvant être utilisé pour définir des amorces spécifiques des organismes, ou pour l'identification d'organismes notamment par hybridation.

10 Ainsi, la puce à ADN selon l'invention présente de préférence à sa surface une pluralité d'oligonucléotides (au minimum deux) comprenant des fragments choisis parmi les fragments des séquences SEQ ID N° 63 à SEQ ID N° 138 définis ci-dessus, permettant ainsi l'identification de microorganismes. La taille de ces oligonucléotides peut être déterminée par l'homme du métier, en fonction des conditions d'hybridation qu'il compte mettre en œuvre. On envisage ainsi des 15 oligonucléotides d'une taille d'environ 50 bases.

Un autre opéron particulièrement adapté à la mise en œuvre du procédé selon l'invention est l'opéron GroESL des bactéries. Cet opéron bactérien est bicistronique et contient des séquences codantes relativement homologues entre genres. Il est donc également possible de déterminer des amorces dégénérées pour amplifier une zone hétérologue entre espèces qui correspond à la zone intergénique transcrite (ZIG). L'opéron GroESL code chez les bactéries pour les protéines HSP10 et HSP60 (protéines de réponse aux chocs thermiques de 10 et 60 kDa respectivement) tout comme les gènes homologues conservés ou non sous forme d'opéron chez les mitochondries et autres organelles eucaryotiques (chloroplastes). L'étude de cet opéron permet non seulement de détecter les bactéries mais aussi d'autres microorganismes eucaryotes (levures, protozoaires, ou autres).

Le procédé selon l'invention est ainsi mis en œuvre, en utilisant des amorces 30 dégénérées situées dans les séquences codantes des opérons. Les protéines HSP sont en effet extrêmement conservées selon les espèces, ce qui permet de trouver des séquences d'acides aminés s'alignant entre elles, et ainsi de choisir des

oligonucléotides dégénérés pour effectuer l'amplification des séquences intergéniques, promotrices ou terminatrices.

De préférence, on utilise les amorces décrites par les séquences SEQ ID N° 32 et SEQ ID N° 33, pour amplifier la région intergénique ZIG d'*E. coli* et des  
5 Enterobacteriaceae.

ENT-BDEG :

CTGGAYGTKAARRTNGGYGAYATYGT (SEQ ID N° 32)

ENT-ADEG :

ANNACNGTNGCRGTRGTGGTRCCGTC (SEQ ID N° 33)

10 D'autres amorces dégénérées peuvent également être utilisées pour la mise en œuvre du protocole selon l'invention, en particulier toute amorce choisie parmi les séquences SEQ ID N° 34 à SEQ ID N° 52.

UNI-ADEG 1 :

GGNGAYGGNACNACNACNGCNACNNT (SEQ ID N° 34)

15 UNI-ADEG 2 :

GGNGAYGGNACNACNACNTGNTCNNT (SEQ ID N° 35)

ENT-BNEW :

AANMTTCGTCCNYTRCANGAYCGNGT (SEQ ID N°36)

CLO-BNEW2 :

20 ATNARRCCAYTWGGWGAYMGNGTWGT (SEQ ID N° 37)

BIF-BNEW :

AARCCRCTCGAGGACMRNRTNSTSGT (SEQ ID N° 38)

UNI-A3 :

GGNGAYGGNACNAANACNGCNACNNT (SEQ ID N° 39)

25 BIF-BNEW2 :

ATCAAGCCNCTMGRRGACMRSRTNST (SEQ ID N° 40)

HEL-BNEW :

NTNCANCCNTTNGGNGANAGNGTNTT (SEQ ID N° 41)

CAM-BNEW :

30 NTNCANCCNTTNGGNAANCGNGTNCT (SEQ ID N° 42)

BACT-BNEW :

NTNAANCCNTTNGCNGANCGNGTNCT (SEQ ID N° 43)

CHLA-BNEW :

NTNAANCCNTTNGGNGANAGNATNTT (SEQ ID N° 44)

35 MYCP-BNEW :

	NTNAAACCNNTNGGNAANCGNGTNAT	(SEQ ID N° 45)
	STA-BNEW :	
	NTNAAACCNNTNGGNAANCGNGTNAT	(SEQ ID N° 46)
	LACC-BNEW :	
5	TTGAAACCNTTAGNGRAYCGYGTRST	(SEQ ID N° 47)
	LACB-BNEW :	
	TTAMARCCAWTMGGNGATCGNGTNRT	(SEQ ID N° 48)
	CLO-BNEW3 :	
	ATNANACCANTNGGNGACAGNGTNGT	(SEQ ID N° 49)
10	ENT-BNEW2 :	
	NTNCGNCCNTTNCANGANCGNGTNAT	(SEQ ID N° 50)
	LEG-BNEW :	
	NTNCGNCCNTTNCANGANCGNGTNGT	(SEQ ID N° 51)
	AER-BNEW :	
15	NTNCGNCCNCTNCANGANCGNGTNAT	(SEQ ID N° 52)
	LACB-BNEW2 :	
	MARCCNNTNGGNGAYMGNGTNATNGT	(SEQ ID N° 139)

20 Ces amorces sont également objets de la présente invention. De façon préférée, on effectue la détection d'un microorganisme en utilisant un couple d'amorces SEQ ID N° 32 / SEQ ID N° 33, ou (SEQ ID N° 34, SEQ ID N° 35, ou SEQ ID N° 39) / (une séquence choisie parmi les séquences SEQ ID N° 36 à SEQ ID N° 38 ou SEQ ID N° 40 à SEQ ID N° 52).

25 Les séquences SEQ ID N° 36 à SEQ ID N° 38 et/ou SEQ ID N° 40 à SEQ ID N° 52 et/ou SEQ ID N° 139, utilisées notamment dans des réactions d'amplification avec les séquences SEQ ID N° 34, SEQ ID N° 35 et/ou SEQ ID N° 39 permettent respectivement la détection des microorganismes et espèces listés ci-dessous. Un ou plusieurs couple(s) de séquences peu(ven)t être utilisé(s) dans une réaction d'amplification.

30 Ainsi, les séquences selon la présente invention permettent notamment de détecter les microorganismes des genres et familles suivants : Lactococcus (SEQ ID N° 39), Bifidibacterium (SEQ ID N° 38 et/ou 40), Mycobacterium (SEQ ID N° 40), Helicobacter (SEQ ID N° 41), Campylobacter (SEQ ID N° 42), Bacteroïdes (SEQ ID N° 43), Chlamydia (SEQ ID N° 44), Mycoplasma (SEQ ID N° 45),

Staphylococcus (SEQ ID N° 46), Lactococcus et/ou Streptococcus (SEQ ID N° 47), Lactobacillus et/ou Bacillus (SEQ ID N° 48), Clostridium (SEQ ID N° 37 et/ou 49), Enterobacteriaceae (SEQ ID N° 36 et/ou 50), Pasteurella et/ou Haemophilus (SEQ ID N° 50), Neisseria et/ou Legionella (SEQ ID N° 51), Aeromonas et/ou Bordetella  
5 (SEQ ID N° 52), Lactobacillus et/ou Bacillus (SEQ ID N° 139).

L'invention a également pour objet les séquences génomiques de microorganismes pouvant être amplifiées par les amorces selon l'invention, en particulier les couples d'amorces SEQ ID N° 32 / SEQ ID N° 33, et (SEQ ID N° 34, SEQ ID N° 35 ou SEQ ID N° 39) / (une séquence choisie parmi les séquences SEQ  
10 ID N° 36 à SEQ ID N° 38, SEQ ID N° 40 à SEQ ID N° 52 ou SEQ ID N° 139).

Ainsi, l'invention a également notamment pour objet une séquence parmi SEQ ID N° 140 à SEQ ID N° 189, qui correspondent aux régions intergéniques hypervariables de l'opéron GroESL de différents organismes. L'invention a  
15 également pour objet tout fragment d'un minimum de 20 bases, de préférence 30 bases, de façon plus préférée 50 bases, de façon encore plus préférée 75 bases, de façon la plus préférée 100 bases de l'une des séquences SEQ ID N° 140 à SEQ ID N° 189 ou leurs séquences complémentaires, ledit fragment pouvant être utilisé  
20 pour définir des amorces spécifiques des organismes, ou pour l'identification d'organismes notamment par hybridation.

Ainsi, la puce à ADN selon l'invention présente de préférence à sa surface une pluralité d'oligonucléotides (au minimum deux) comprenant des fragments choisis parmi les fragments des séquences SEQ ID N° 140 à SEQ ID N° 189 définis  
25 ci-dessus, permettant ainsi l'identification de microorganismes. La taille de ces oligonucléotides peut être déterminée par l'homme du métier, en fonction des conditions d'hybridation qu'il compte mettre en œuvre. On envisage ainsi des oligonucléotides d'une taille d'environ 50 bases.

La présente invention a également pour objets des trousse de diagnostic  
30 pour la mise en œuvre du procédé selon l'invention. Ces trousse de diagnostic contiennent des amorces dégénérées permettant l'amplification d'une ou plusieurs régions intergéniques d'un opéron conservé parmi les espèces. Elles peuvent également contenir les réactifs nécessaires à la réaction d'amplification. Par ailleurs,

de l'ADN représentant des contrôles positifs ou négatifs peut être inclus dans les trousse de diagnostic selon l'invention.

Une trousse de diagnostic selon l'invention contient aussi avantageusement les éléments nécessaires pour l'analyse des produits amplifiés. En particulier, une  
5 trousse à diagnostic selon l'invention contient une puce à ADN selon l'invention, qui présente, à sa surface, les séquences correspondant aux différents microorganismes.

Selon l'espèce que l'on désire détecter, la trousse de diagnostic selon l'invention contient le couple d'amorces et les éléments d'analyse appropriés. Par  
10 ailleurs, une trousse selon l'invention peut également comprendre des instructions pour la mise en œuvre du procédé selon l'invention.

Une trousse à diagnostic selon l'invention peut aussi ne contenir qu'une puce à ADN selon l'invention, ainsi éventuellement que des instructions permettant la mise en œuvre de l'analyse de fragments situés dans la région intergénique  
15 d'opérons conservés entre les espèces, les opérons préférés étant GroESL et rpoBC.

Le couplage d'amorces et de sondes spécifiques permet ainsi une identification rapide et précise de la flore d'un sujet donné. On peut donc établir le ou les profils de populations caractéristiques de sujets sains. On peut aussi établir les profils types de différentes pathologies.

20 Le procédé selon l'invention offre également la possibilité d'un suivi facile de l'évolution de la flore en fonction de l'alimentation. Plus spécifiquement, on peut suivre les effets, au niveau colique, d'un aliment particulier tel qu'un pré ou probiotique ou d'un traitement médicamenteux tel qu'une antibiothérapie.

On peut donc envisager la mise au point d'aliments ou médicaments à visée  
25 « effet sur la flore » permettant un rétablissement et un retour à un profil normal après un déséquilibre faisant suite à une pathologie ou une agression quelconque. On peut également utiliser des amorces et des sondes correspondant à des souches pathogènes afin d'établir éventuellement des seuils critiques de populations précédant une pathologie. On peut alors déterminer quelles sont les autres  
30 populations susceptibles d'exercer un effet barrière sur ces pathogènes.

Les outils de diagnostic de la flore intestinale développés et basés sur le procédé selon l'invention (qui sont également objets de l'invention) intéressent dans un premier temps les industriels de l'agro-alimentaire et de la pharmacie afin de



mettre au point leurs produits et de voir l'impact de ceux-ci sur la flore intestinale. En effet, des régimes particuliers sont susceptibles à long terme de modifier de façon importante la composition de la flore et d'avoir par conséquent des effets néfastes ou bénéfiques selon les types de populations qui apparaissent ou  
5 disparaissent. De la même façon, des traitement médicamenteux et en particulier les traitements antibiotiques entraînent des déséquilibres au sein de la microflore. La caractérisation des populations touchées selon le type de médicament permettrait de mettre en place un traitement parallèle ou ultérieure capable d'empêcher ces modifications ou de rétablir une flore correcte le plus rapidement possible.

10 Ces outils intéressent aussi les professionnels de la santé pour la caractérisation de la flore intestinale de patients, ce qui peut permettre, par exemple, d'orienter un traitement. En effet, les gastro-entérologues estiment à 70% la part de la population des pays industrialisés se plaignant de troubles digestifs divers que l'on appelle colopathies fonctionnelles celles-ci allant de simples désordres digestifs  
15 comme les ballonnements, les flatulences à des désordres plus importants comme la constipation, ou la diarrhée.... La majeure partie de leurs consultations concerne ces colopathies fonctionnelles.

Peu de solutions sont apportées pour soigner ces troubles car pour certaines colopathies leur cause est encore assez méconnue et pour d'autres on ne dispose pas  
20 de traitement efficace. A cela s'ajoute le problème du diagnostic médical car les patients présentant ces symptômes de colopathies fonctionnelles ne présentent généralement aucune lésion physique au niveau du côlon. Seul un questionnaire permet au gastro-entérologue de se diriger vers un type de traitement qui se révèle peu efficace dans une majorité des cas. Le marché des produits pouvant soulager  
25 ces troubles est donc important, tout comme celui du diagnostic. En effet, un diagnostic de l'état de la flore des patients pourrait renseigner le médecin sur les causes de leurs troubles et le traitement à conduire.

Pour sélectionner une cible génomique d'intérêt, soit une cible qui soit  
30 conservée dans tous les génomes, la conservation des opérons les plus conservés au cours de l'évolution a été étudiée à partir des génomes des 51 bactéries entièrement séquencées et disponibles sur le serveur NCBI. Ces séquences ont été positionnées par rapport à celle de rpo B/C (opéron beta).

Il est ressorti de cette première analyse que les cibles les plus longues et les plus conservées sont en effet les opérons groESL (codant pour Hsp10 (groES) et Hsp60 (groEL)) et une partie de l'opéron beta correspondant aux gènes rpoB et rpoC (codant pour les sous-unités beta et beta' de la DNA-directed-RNA polymerase). De plus, il a été possible d'identifier des motifs protéiques conservés suffisamment longs pour permettre la définition puis la synthèse d'amorces dégénérées universelles (ubiquitaires) ou presque.

Ainsi, ces deux opérons ont été choisis afin d'exemplifier le principe de la méthode selon l'invention.

Enfin, la zone d'intérêt de l'opéron bêta a été amplifiée, c'est-à-dire la région amplifiable par PCR en utilisant les deux amorces dégénérées correspondantes (FO et RP : SEQ ID N° 53 et SEQ ID N° 54) pour une sélection de bactéries afin d'en établir la séquence et de les tester par hybridation sur membrane de nylon pour valider leur spécificité. Ces séquences ont également été alignées à leurs homologues disponibles sur GenBank afin d'observer cette spécificité par bioinformatique.

On a effectué les mêmes expériences avec l'opéron GroESL, et on peut ainsi montrer que le procédé selon l'invention permet d'identifier et de discriminer les différentes espèces de microorganismes.

Les exemples suivants sont destinés à illustrer l'invention, et ne doivent pas être considérés comme limitant l'invention.

Dans la demande, les abréviations pour les bactéries sont comme suit :

Bacillus subtilis (BS) CIP 52-65T ; Bacteroides vulgatus (BV) DSM 1447 ;  
Bifidobacterium longum (BL) DSM 20219 ; Clostridium leptum (CL) DSM 753 ;  
Clostridium nexile (CN) DSM 1787 ; Clostridium spiroforme (CS) DSM 1552 ;  
Clostridium glycolycum (CG) DSM 1288 ; Lactobacillus gasei (LG) DSM 20077 ;  
Lactobacillus helveticus (LH) CIP 103146 ; Lactobacillus paracasei (LP) DSM 8741 ;  
Lactobacillus reuteri (LR) DSM 20053 ; Pseudomonas aeruginosa (PA) CIP100720 ;  
Ruminococcus hydrogenotrophicus (RH) DSM 10507 ; Citrobacter freundii (CF) ;  
Serratia liquefaciens (SL) ; Serratia marcescens (SM) ; Enterobacter cloacae (EnC) ;  
Escherichia coli (EsC) ; Morganella morgani (MM) ; Proteus mirabilis (PM) ;  
Klebsiella oxytoca (KO) ; Klebsiella pneumoniae (KP)

## DESCRIPTION DES FIGURES

Figure 1 : Schéma de l'opéron *rpoBC* de *E. coli*. Les amorces universelles (ubiquitaires) sont utilisées pour l'amplification de la séquence intergénique.

5 Figure 2 : Schéma de l'opéron *groESL* de *E. coli*. Les amorces universelles sont utilisées pour l'amplification de la séquence intergénique.

Figure 3 : Principe d'une puce à ADN. Des séquences spécifiques sont fixées sur un support solide. L'hybridation éventuelle des séquences complémentaires permet de déterminer leur présence dans un échantillon.

10 Figure 4: Hybridation de dépôts de 10 ng d'ADN amplifié par PCR avec des amorces *rpoBC* (i) et d'ADN génomique (ii) avec une sonde *Serratia marcescens*, (~0.25 ng / ml (A) ou *Klebsiella oxytoca*, ~1 ng / ml (B) pendant 18 heures à 60°C et révélation 30 min à 37°C. On peut observer une hybridation croisée de CF, SM, SL, EC et KP avec la sonde KO-DIG (~1 ng / ml) et de SL avec  
15 la sonde SM-DIG (~0.25 ng / ml).

Figure 5 : Hybridation de dépôts i (ADN génomique, a:10 à 20 µg, b:5 à 10 µg, c: 0.5 à 1 µg, d: 50 à 100 ng, e: 5 à 10 ng, f: 0.5 à 1 ng) et ii (ADN amplifié par PCR avec des amorces *GroESL*. a:50 à 100 ng, b:5 à 10 ng, c: 0.5 à 1 ng, d: 50 à 100 pg, e: 5 à 10 pg, f: 0.5 à 1 pg) avec une sonde PA-DIG (~10ng / ml) pendant 18 heures  
20 à 42°C et révélation 30 min à 37°C.

Figure 6 : Hybridation de dépôts i (ADN amplifié par PCR avec des amorces *rpoBC* : 10ng / 1ng / 100 pg) et ii (ADN génomique: 1µg / 100ng / 10ng) avec une sonde LR-DIG (~1ng / ml) pendant 18 heures à 50, 55, 60 et 65°C et révélation 30 min à 37°C.

25

## EXEMPLES

### Exemple 1 : Isolement de souches

Afin de posséder un échantillon large et représentatif de la flore colique humaine, il est nécessaire d'isoler de nouvelles souches bactériennes, encore dites  
30 non cultivables (et donc inconnues), qui constituent un fort pourcentage des bactéries de la flore colique humaine.

Pour réaliser ces isollements, une grande quantité de selles humaines est collectée et stérilisée au moyen de rayonnements de type gamma ou par la chaleur,

en vue d'y ensemer des échantillons de ces mêmes selles humaines et de les cultiver en aérobiose et anaérobiose, en milieux liquide et solide.

En fonction des conditions de culture utilisées, on peut ainsi isoler de nouveaux genres, espèces ou souches de bactéries coliques ou autres micro-organismes eucaryotes.

#### Exemple 2 : Caractérisation des séquences des souches isolées (rpoB)

Il s'agit d'effectuer la caractérisation moléculaire de séquences, idéalement d'ARNm pour effectuer une quantification et sinon d'ADN génomique, des isolats de micro-organismes bactériens ou eucaryotes.

On effectue l'étude des séquences correspondant à des portions de l'opéron bactérien rpoBC. Les gènes de cet opéron sont en effet relativement homologues entre genres.

Une analyse informatique (alignement des séquences) permet ainsi de définir des amorces dégénérées pour l'amplification de la zone hétérologue entre espèces qui correspond à la zone intergénique transcrite.

Ainsi, les amorces SEQ ID N° 1 et SEQ ID N° 31 ainsi que les autres amorces ont été définies après alignement des séquences correspondant à plus de 50 espèces d'organismes vivants (procaryotes et eucaryotes, non montré) en utilisant la redondance du code génétique. On préfère notamment les séquences SEQ ID N° 53 et SEQ ID N° 54.

Les régions amplifiées par PCR ou RT-PCR avec les amorces précitées peuvent évidemment être clonées dans différents vecteurs, afin d'être utilisées pour affiner l'analyse (en particulier pour les séquencer).

#### Exemple 3 : Caractérisation des séquences des souches isolées (GroESL)

On effectue l'étude des séquences correspondant à des portions de l'opéron bactérien bicistronique GroESL. Les gènes de cet opéron sont en effet relativement homologues entre genres.

L'analyse informatique (alignement des séquences) permet ainsi de définir des amorces dégénérées pour l'amplification de la zone hétérologue entre espèces qui correspond à la zone intergénique transcrite.

Ainsi, les amorces SEQ ID N° 34 et SEQ ID N° 35 ont été définies après alignement des séquences correspondant à plus de 100 espèces d'organismes vivants (procaryotes et eucaryotes, non montré).

Les séquences SEQ ID N° 36 à SEQ ID N° 52 et en particulier SEQ ID N°  
5 139 correspondent à des séquences complémentaires qui peuvent être utilisées pour l'amplification de microorganismes de divers genres et/ ou familles.

Les amorces SEQ ID N° 32 et SEQ ID N° 33 ont, quant à elles, été définies à partir des séquences conservées des gènes GroES et GroEL de *E. coli*, en utilisant la dégénérescence du code génétique.

10

#### Exemple 4 : Réactions d'amplification (GroESL)

Les réactions de PCR sont effectuées selon le protocole suivant :

2 ml de bouillon de culture agité à 37°C pendant 18 h sont concentrés par centrifugation et resuspension du culot bactérien dans 30 µl d'eau distillée, puis une  
15 dilution au 1/10<sup>ème</sup> de ce concentré traité à 100°C pendant 10 minutes est utilisée comme matrice pour les réactions de PCR. Les conditions de réaction sont 94 °C / 5 min, puis 25 cycles de (94 °C / 30 sec, 60 °C / 45 sec, 72 °C / 30 sec), suivis d'une étape d'élongation à 72 °C pendant 7 min.

L'analyse des amplifiats permet de montrer qu'on peut amplifier, en utilisant  
20 les amorces SEQ ID N° 32 et SEQ ID N° 33, la zone intergénique de différentes Entérobactéries, telles qu'*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, *Serratia liquefaciens*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca*. La région amplifiée varie en longueur, selon les espèces, de 400 à 500 paires de bases (pb).  
25 L'utilisation du couple SEQ ID N° 34 et SEQ ID N° 36 donne des amplifiats de taille comprise entre 550 et 650 pb.

L'utilisation des couples (SEQ ID N° 34, SEQ ID N° 35, ou SEQ ID N° 39)  
/ (une séquence choisie parmi les séquences SEQ ID N° 36 à SEQ ID N° 38 ou SEQ  
ID N° 40 à SEQ ID N° 52, ou SEQ ID N° 139) permet l'amplification de séquences  
30 spécifiques de certaines familles et espèces, et l'identification des organismes de ces familles ou espèces.

Pour les réactions d'amplification, on utilise de préférence une amorce notée « A » avec une amorce notée « B ».

Les régions amplifiées par PCR ou RT-PCR avec les amorces précitées peuvent évidemment être clonées dans différents vecteurs, afin d'être utilisées pour affiner l'analyse (en particulier pour les séquencer).

## 5 PROTOCOLE PCR

En vue de montrer que l'utilisation de la zone intergénique des deux opérons d'intérêt comme sonde nucléique peut permettre de discriminer plusieurs espèces bactériennes, on a amplifié, par PCR directe sur suspensions bactériennes, ladite ZIG pour chaque cible. Pour les réactions d'amplification, on utilise de préférence  
10 une amorce notée « A » avec une amorce notée « B ».

2 ml de bouillon de culture agité à 37°C pendant 18 h sont concentrés par centrifugation et resuspension du culot bactérien dans 30 µl d'eau distillée, puis une dilution au 1/10<sup>ème</sup> de ce concentré traité à 100°C pendant 10 minutes est utilisée comme matrice pour les réactions de PCR.

15

### OPERON groESL :

Les réactions de PCR, pour cette cible, sont effectuées, à une Tm variant entre 59 °C et 60°C. Les conditions de réaction sont 94 °C / 5 min, puis 25 cycles de (94 °C / 30 sec, 60 °C / 45 sec, 72 °C / 30 sec), suivis d'une étape d'élongation à  
20 72 °C pendant 7 min. Les régions intergéniques amplifiées sont ensuite observées par une électrophorèse sur gel d'agarose en utilisant une échelle 1 Kb + (Gibco BRL)

L'analyse des amplifiats permet de montrer qu'on peut amplifier, en utilisant les amorces SEQ ID N° 32 et SEQ ID N° 33, la zone intergénique de différentes  
25 Entérobactéries, telles qu'*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, *Serratia liquefaciens*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca*. La région amplifiée varie en longueur, selon les espèces, de 400 à 500 paires de bases (pb). L'utilisation du couple SEQ ID N° 34 et SEQ ID N° 36 donne des amplifiats de  
30 taille comprise entre 550 et 650 pb.

OPERON rpoB/C :

Les réactions de PCR , pour cette cible, sont effectuées, à une Tm variant entre 63 °C et 64°C. Les conditions de réaction sont 94 °C / 4 min, puis 30 cycles de (94 °C / 30 sec, 64 °C / 30 sec, 72 °C / 3 min), suivis d'une étape d'élongation à 5 72 °C pendant 12 min. Les régions intergéniques amplifiées sont ensuite observées par une électrophorèse sur gel d'agarose en utilisant une échelle DNA molecular weight marker III (Ref : n°528552 ; Boehringer Mannheim).

L'analyse des amplifiats permet de montrer qu'on peut amplifier, en 10 utilisant le couple d'amorce SEQ ID N° 53 et SEQ ID N° 54, la zone intergénique de différentes bactéries telles qu'*Escherichia coli*, *Clostridium leptum*, *Klebsellia oxytoca*, *Lactococcus lactis*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Serratia liquefaciens*, *Morganella morganii*, *Enterobacter cloacae*, *Ruminococcus hydrogenotrophicus*.

15 Des fragments d'ADN correspondants aux régions intergéniques de l'opéron rpoB/C chez différentes espèces ont été réamplifiées et analysées à partir de bandes extraites d'une préparation de gel d'agarose. Ces fragments étant préalablement purifiés avec un kit d'extraction Qiagen.

Les régions amplifiées par PCR ou RT-PCR avec les amorces précitées 20 peuvent évidemment être clonées dans différents vecteurs, afin d'être utilisées pour affiner l'analyse (en particulier pour les séquencer).

## PROTOCOLE HYBRIDATION

En vue de tester la spécificité des produits PCR, pour les espèces 25 sélectionnées pour notre étude, on a réalisé des dépôts de ces ADN sur membrane de nylon en suivant un protocole de fixation de la soude (NaOH). Les concentrations en ADN, pour ces dépôts, sont indiqués sur les figures correspondantes. Ces membranes ont été hybridées en suivant le protocole du PCR DIG Probe Synthesis Kit (Roche) Cat. No. 1636090. La concentration de la sonde 30 utilisée, synthétisée suivant le même protocole, est aussi indiquée sur les figures ainsi que la température d'hybridation réalisée « over night » (18 h). La température de pré-hybridation est de 65°C pour chaque expérience et celle-ci dure 45 min..

La détection de ce type d'hybridation avec ce type de marquage (DIG) est dite colorimétrique (marquage « froid » différent de radioactif).

Les figures 4 à 6 montrent une spécificité de détection en fonction des organismes, bien qu'il puisse exister quelques réactions d'hybridation croisée. Ces  
5 réactions peuvent être réduites en choisissant des sondes qui soient plus courtes et situées parmi les séquences intergéniques hypervariables, telles que définies par SEQ ID N° 63 à SEQ ID N° 138 (rpoN) ou SEQ ID N° 140 à SEQ ID N° 189 (GroESL).

Ainsi, une puce à ADN avec différentes sondes situées dans la zone  
10 intergénique permettra de reconnaître sans hésitation la présence ou l'absence d'un microorganisme, même dans le cas où il y a hybridation croisée. En effet, la présence d'un microorganisme se déduira de l'hybridation pour chacune des sondes.

Il peut donc être avantageux de définir des puces à ADN ayant des sondes spécifiques correspondant à la région intergénique de chaque microorganisme, mais  
15 également de mettre plusieurs sondes différentes pour chaque microorganisme.



### Références

- {1}- Welling, et al., Applied Environmental Microbiology, **64**:3336-45, 1998: Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes.
- 5 {2}- Greisen, et al., Journal of Clinical Microbiology, **32**:335-351, 1994: Staphylococcal identification using PCR amplification of 16S rDNA genes.
- {3}- Jensen, et al., Applied Environmental Microbiology, **59**:945-952, 1994: Staphylococcal identification using PCR amplification of spacer regions between 16S and 23S genetic loci.
- 10 {4}- Plikaytis, et al., supra; Telenti, et al., supra: PCR strategies for Mycobacterial speciation requiring the detection of restriction site polymorphisms (RFLP) within amplified products.
- {5} - Zoetendal, Akkermans and De Vos, Applied Environmental Microbiology, **64**:3854-9 (1998): Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA  
15 from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria.
- {6}- Vaitilingom, Gendre and Brignon, Applied Environmental Microbiology **64**:1157-60, 1998: Direct detection of viable bacteria, molds, and yeast by reverse transcriptase PCR in contaminated milk samples after heat treatment.
- 20 {7}- Gendre et Brignon, Compagnie Gervais Danone, brevet # PCT/FR97/01918 WO98/18958 (1998): Method for detecting live microbiological contaminants in a food product sample.
- {8}- Doré, et al., Applied Environmental Microbiology, **65**:4799-807, 1999: Direct  
25 analysis of genes encoding 16S RNA from complex communities reveals many novel molecular species within human gut.
- {9}- Goh, Chow et Hemmingsen, US Patents 5,708,160 (1998) & 5,989,821 (1999).
- {10}- Emelyanov and Sinitsyn, Russian Journal of Genetics, **35**:618-627, 1999: A GroE-based phylogenetic analysis shows very close evolutionary relationship between mitochondria and rickettsia.

## LISTE DE SEQUENCES

<110> UNIVERSITE D'AUVERGNE

<110> DIGESTAR

<120> PROCEDE DE DETECTION DE MICRO-ORGANISMES

<130> 7091-647CA FC/am

<140>

<141> 2001-07-20

<150> 00/09600;00/12524

<151> 2000-07-21;2000-10-02

<150> FR 00/09 600

<151> 2000-07-21

<150> FR 00/12 524

<151> 2000-10-02

<160> 189

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 26

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>

<221> misc\_feature

<222> (3)

<223> n signifie a, g, c ou t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (12)

<223> n signifie a, g, c ou t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (15)

<223> n signifie a, g, c ou t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (18)

<223> n signifie a, g, c ou t

23b

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 1  
 ggngayaary tngcnggnag ncaygg

26

<210> 2  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (15)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 2  
 ggngayaary tngcnggncg ncaygg

26

<210> 3  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

23c

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (15)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 3  
 ggngayaary tngcnaayag ncaygg

26

<210> 4  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle.

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (15)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

23d

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 4  
ggngayaary tngcnaaycg ncaygg

26

<210> 5  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 5  
ggngayaara tggcnggnmg ncaygg

26

<210> 6  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

23e

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (15)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 6  
 ggngayaart tygcntcnmg ncaygg

26

<210> 7  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (15)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 7  
 ggngayaart tygcnagymg ncaygg

26

<210> 8  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (15)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 8  
 ggngayaart tygcnacnmg ncaygg

26

<210> 9  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

23g

<400> 9  
 aaygcngayt tygayggnga ycarat 26

<210> 10  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 10  
 aaygcngayt tygayggnga ratggc 26

<210> 11  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 11  
 aaygcngayt tygayggnga ygarat 26



23h

<210> 12  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 12  
 gngngncarm gnttyggnga ratgga

26

<210> 13  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 13  
 ggngncayg gnttyggnga ratgga

26

<210> 14  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 14  
 ggngncarw snttyggnga ratgga

26

<210> 15  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)..(7)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 15  
 ggnggnntnm gnttyggnga ratgga

26

<210> 16  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

23k

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 16  
ggnaarcqng tngaytaytc nggnmg

26

<210> 17  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 17  
ggnaarcgng tngaytayag nggnmg

26

<210> 18  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 18  
ggnaaragng tngaytaytc nggnmg

26

<210> 19  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

23m

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 19  
 ggnaaragng tngaytayag nggnmg

26

<210> 20  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

23n

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 20  
 ggnaarcgng gngaytaytc ngtnmg

26

<210> 21  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 21  
 ggnaarcgng gngaytayag ngtnmg

26

<210> 22  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 22  
 ggnaaragng gngaytaytc ngtnmg

26

<210> 23  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t



<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 23  
ggnaaragng gngaytayag ngtnmg

26

<210> 24  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

23q

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 24  
ggnaarcgng tngayttytc nggnmg

26

<210> 25  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 25  
ggnaarcgng tngayttyag nggnmg

26

<210> 26  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

23r

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 26  
 ggnaaragng tngayttytc nggnmg

26

<210> 27  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 27  
 ggnaaragng tngayttyag nggnmg

26

<210> 28  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

23t

<400> 28  
ggnaarcgng tngayttytc ngcnmg

26

<210> 29  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 29  
ggnaarcgng tngayttyag ngcnmg

26

<210> 30  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 30  
 ggnaaragng tngayttytc ngcnmg

26

<210> 31  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: AMORCE  
 PERMETTANT L'AMPLIFICATION DE LA REGION  
 INTERGENIQUE DE L'OPERON rpoBC DE MICRO-ORGANISMES

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 31  
 ggnaaragng tngayttyag ngcnmg

26

<210> 32  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: Amorce  
 correspondant à un motif protéique de HSP10  
 d'Escherichia Coli.

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (15)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 32  
 ctggaygtka arrtnggyga yatygt

26

<210> 33  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: Amorce  
 correspondant à un motif protéique de HSP10  
 d'Escherichia Coli.

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (2)..(3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

23w

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 33  
annacngtng crgtrgtggt rccgtc

26

<210> 34  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Amorce  
consensus (UNI-ADEG 1)

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)..(25)  
<223> n signifie a, g, c ou t



23x

<400> 34  
ggngayggna cnacnacngc nacnnt

26

<210> 35  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Amorce  
consensus (UNI-ADEG 2)

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)..(25)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 35  
ggngayggna cnacnacntg ntcnnt

26

<210> 36  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

23y

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des entérobactéries (ENT-BNEW).

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 36  
 aanmttcgtc cnytrcanga ycgngt

26

<210> 37  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des clostridia (CLO-BNEW2)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 37  
 atnarrccay twggwgaymg ngtwgt

26

<210> 38  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des bifidobactéries (BIF-BNEW).

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 38  
aarccrctcg aggacmrnrt nstsgt

26

<210> 39  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des Lactococcus (UNI-A3).

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

23aa

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)..(25)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 39  
 ggngayggna cnaanacngc nacnt

26

<210> 40  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des Bifidobacterium et Mycobacterium (BIF-BNEW2).

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 40  
 atcaagccnc tmgrrgacmr srtnt

26

<210> 41  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des Helicobacter (HEL-BNEW).

23bb

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 41  
ntncancnt tngnganag ngtntt

26

<210> 42  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

23cc

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Séquence  
consensus pour la détection des Campylobacter  
(CAM-BNEW).

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 42  
ntncancnt tnggnaancg ngtnct

23dd

<210> 43  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des bacteroides (BACT-BNEW).

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 43  
ntnaancnt tngcngancg ngtnct

26

<210> 44  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Séquence  
consensus pour la détection des Chlamydia  
(CHLA-BNEW).

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t



23ff

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 44  
ntnaancnt tngnganag natntt

26

<210> 45  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des Mycoplasma (MYCP-BNEW).

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)..(10)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

23gg

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 45  
ntnaaacn tnggnaancg ngtnat

26

<210> 46  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des Staphylococcus (STA-BNEW).

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)..(10)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

23hh

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 46  
 ntnaaacn tnggnaancg ngtnat

26

<210> 47  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des Lactococcus et Streptococcus (LACC-BNEW).

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (14)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 47  
 ttgaaacct tagnggraycg ygtrst

26

<210> 48  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des Lactobacillus et Bacillus (LACB-BNEW).

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (15)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 48  
ttamarccaw tmggngatcg ngtnrt

26

<210> 49  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des Clostridium (CLO-BNEW3).

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (5)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (10)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

23jj

<400> 49  
atnanaccan tnggngacag ngtngt

26

<210> 50  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Séquence  
consensus pour la détection des  
Enterobacteriaceae, Pasteurella, Haemophilus  
(ENT-BNEW2).

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

23kk

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 50  
ntncgncnt tncangancg ngtnat

26

<210> 51  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Séquence consensus pour la détection des Neisseria, Legionella (LEG-BNEW).

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t

2311

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (24)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<400> 51  
ntncgncnt tncangancg ngtngt

26

<210> 52  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: Séquence  
consensus pour la détection des Aeromonas et  
Bordetella (AER-BNEW).

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)  
<223> n signifie a, g, c ou t

23mm

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n signifie a, g, c ou t

<400> 52  
 ntnccgncnc tncangancg ngtnat

26

<210> 53  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Sequence artificielle

<220>  
 <223> Amorce

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)..(10)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<400> 53  
 ggnggncann snttyggnga ratgga

26



23nn

<210> 54  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Sequence artificielle

<220>  
 <223> Amorce

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<400> 54  
 aaygcngayt tygayggnga ysarat

26

<210> 55  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Sequence artificielle

<220>  
 <223> Amorce

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<400> 55  
 ggnggncarm gnttyggnga ratgga

26

2300

<210> 56  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Sequence artificielle

<220>  
<223> Amorce

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<400> 56  
ggngncayg gnttyggnga ratgga

26

<210> 57  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Sequence artificielle

<220>  
<223> Amorce

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

23pp

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<400> 57  
ggngncarw snttyggnga ratgga

26

<210> 58  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Sequence artificielle

<220>  
<223> Amorce

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(7)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<400> 58  
ggngnntnm gnttyggnga ratgga

26

<210> 59  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Sequence artificielle

<220>  
<223> Amorce

23qq

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<400> 59  
 aaycngayt tygayggnga ycarat

26

<210> 60  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Sequence artificielle

<220>  
 <223> Amorce

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<400> 60  
 aaycngayt tygayggnga ratggc

26

<210> 61  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Sequence artificielle

<220>  
 <223> Amorce

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n signifie a, g, c ou t/u

23rr

<400> 61  
aaygcngayt tygayggnga ygarat 26

<210> 62  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Sequence artificielle

<220>  
<223> Amorce

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)  
<223> n signifie a, g, c ou t/u

<400> 62  
atytsrtcnc crtcraartc ngcrtt 26

<210> 63  
<211> 333  
<212> ADN  
<213> Lactobacillus reuteri

<400> 63  
cttgtaagg aattacaagc attaggtcctt gatatgaagg ttcttgatgg taacaacaag 60  
gaaattcagt taaagaacat ggacgaagat gatgatgaag ttgtaaagt tgatgcatta 120  
gctaaatatg cagaagaaca taaaacagac gataagaaga acgaagaaga aaacaagtct 180  
gaagcaactt caacaactac cgatgacaaa actaatcaaa attaataattt aggttgctac 240  
ggtttactga aagaaggagg aacatccttt gattgatgtc aataaatttg aaagtatgca 300  
gatcggctctg gcatctccag ataagatccg tag 333

<210> 64  
<211> 338  
<212> ADN  
<213> Bacillus subtilis

<400> 64  
cttgtaagg aacttcaatc attaggtttg gatattcgtg ttcttgatat gaatcataat 60  
gaaattgaac ttcgtgatat ggatgaagat tcaagtgaac acttaaacad tgattcattg 120  
tcacgtatgg cagaagaaca agaaaagaag aagttagccg aagaaactgg aaaatcagaa 180  
gataagaag aaaacaagaa agatgcagat aagctagtag ctctgcaga tgaatctgac 240  
gacgaagttt ctaaatagta ggaggttaaa cttttgatcg acgtaaataa atttgaaagt 300  
atgcaaattg gtcttgcatc acctaacaag atcagaag 338

## 23ss

<210> 65  
 <211> 329  
 <212> ADN  
 <213> *Lactobacillus gasei*

<400> 65  
 cttgttaagg aacttcaatc cttaggtttg gatattaaag tcttagatat ggaccacaag 60  
 gaaattgaat tacgtgacat ggatgatgat tctaataatgac acttcaacat tgacacttta 120  
 tctaagcttg ctgaacaaca agaaaagaag aagtttagccg aagaagctgc aaagaaagat 180  
 gataagtcag ccgaacctgt agatcagagt gattcttcaa cttcatctga tgataagggtt 240  
 tctaagtaat aggaggtaa acttttgatc gacgtaaata agtttgaaag tatgcaaatt 300  
 ggtttggtt ctccaaacaa gatcagaag 329

<210> 66  
 <211> 296  
 <212> ADN  
 <213> *Lactobacillus paracasei*

<400> 66  
 cttgtcaaac aattgcaagc actgggtctg gatatgaag tccttggcgc ggataaaaaa 60  
 gaaattgaac tgcgggacat ggacgacgac gaggatgata ttgtttctgt cgatgccttg 120  
 gcgaagtttg ctgctcagca ggaagaaaag aaggctcacg aagccgcagc acaagcaact 180  
 gacggtaagt ctgccaacag taccgacgat aagaaatagg aggttagccc tttgattgat 240  
 gtcaataagt ttgaaagtat gcaaatcggc ttagcctcgc cagataaaat ccgtag 296

<210> 67  
 <211> 386  
 <212> ADN  
 <213> *Lactococcus lactis*

<400> 67  
 ttggttaaag agttacaatc acttgggtctt gatatgaaag tccttgatgc tgaccgtaat 60  
 gttcttgact tacgtgaatt ggatgaagat gaagtaatga ctcgtccaga taatacagaa 120  
 attactcctg aatgcttga agcacaggaa gctattggtg cacaagcaga agctgaagaa 180  
 gaagctttga ttaacgctga tactgaaaaa taagattttg taattaatat tttgagatag 240  
 atttactgac aaaaatttct gtcagtaaata ctctaatactc ataatacgtct agcgttaaat 300  
 ttattagaag tggagaaaga attggttgat gtaaataaat ttgagagtat gcgtattggt 360  
 atcgcactct cacaaaaaat tcgtta 386

<210> 68  
 <211> 344  
 <212> ADN  
 <213> *Streptococcus pyogenes*

23tt

<400> 68  
 cttgtaaaag aattgcaatc gcttggtctt gatatgcgtg tgcttgacga ggatgataat 60  
 gaagtggaac ttcgtgatct tgatgaaggt gaagacgatg acattatgca tgettgcgat 120  
 ctcgagaagg cacgtgaaaa acaagctcaa gaaactcaag aagtttctga aacaactgac 180  
 gaaaaataag caatcaattc ttattaaata attatttact ggtctggggc aaaggcccca 240  
 ggaactggta aagtcacaa aggcagaaag gtaaaactag tggttgacgt aaatcgtttt 300  
 aaaagtatgc aatcacatt agcctcacca agtaagggtc gttc 344

<210> 69  
 <211> 318  
 <212> ADN  
 <213> *Lactobacillus helveticus*

<400> 69  
 ttaatcaaag aacttcaaag cttaggtatg gatgtcaaaa tcctttctgg tgatgaagaa 60  
 gaaatagaaa tgagagattt agaagacgaa gaagatgcga aacaagctga cggcctggca 120  
 ttatcaggtg atgaagagcc ggaagaaaca gcatctgcag acgttgaacg cgatgtagta 180  
 aaaaagaat aatctctagt tataaaggca agtgacatcg gttaatccga agataaaaag 240  
 ggaggtaggc cccttgctag atgtgaacaa ttttgagtat atgaacatcg gtcttgcttc 300  
 accagataaa atccgttc 318

<210> 70  
 <211> 318  
 <212> ADN  
 <213> *Bacillus subtilis*

<400> 70  
 ttaatcaaag aacttcaaag cttaggtatg gatgtcaaaa tcctttctgg tgatgaagaa 60  
 gaaatagaaa tgagagattt agaagacgaa gaagatgcga aacaagctga cggcctggca 120  
 ttatcaggtg atgaagagcc ggaagaaaca gcatctgcag acgttgaacg cgatgtagta 180  
 aaaaagaat aatctctagt tataaaggca agtgacatcg gttaatccga agataaaaag 240  
 ggaggtaggc cccttgctag atgtgaacaa ttttgagtat atgaacatcg gtcttgcttc 300  
 accagataaa atccgttc 318

<210> 71  
 <211> 304  
 <212> ADN  
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 71  
 cttataaaag agctacagtc tctcggtatg gacgtcaaga tgctatcaag tactgaggaa 60  
 gagattgaaa tgaaagagct tgatgatgag gatgaacaag caagcgaaa attgaacttg 120  
 aatattgatt caacagaatc aaatgtttta tcagctgaaa ggggagcagt cccctttcac 180  
 ttgctcttta aattcgttac ctgcttttgg acatggaaat cataaggag gttggccct 240  
 tgatagacgt aaacaatctt gagtacatga aaattggtct tgcttcacca aataaaattc 300  
 gttc 304

23uu

<210> 72  
 <211> 363  
 <212> ADN  
 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 72  
 ttgatgaaag aattacaaag tttaggttta gatgtaaag ttatggatga gcaagataat 60  
 gaaatcgaaa tgacagacgt tgatgacgat gatggttag aacgcaaagt agatttacia 120  
 caaatgatg ctctgaaac acaaaaagaa gttactgatt aatagcaat ttacaaaaca 180  
 ggcaaaaaga tactaagctg aatthttattg atgattcagt ttagtacttt aagccatttt 240  
 aaataaatgc aatcaatca aatagcacag ctaatctaaa ttgaaggagg taggctcctt 300  
 gattgatgta aataatttcc attatatgaa aataggattg gcttcacctg aaaaaatccg 360  
 ttc 363

<210> 73  
 <211> 352  
 <212> ADN  
 <213> *Clostridium spiroforme*

<400> 73  
 ttaaagaaag agttacaagc acttgcattg gatgtacgtt tgttagatga aatgataat 60  
 gaagttgata tgcgtaatat tgaagaagag gaacatcgtt tcccgcgtag cattgataaa 120  
 gatgaagtaa ttgaaactcc aaaaactgat gatgaagttt ccgaagaat tactgaagat 180  
 gatttaaatg tagaagaatg tgacgtatgt gaagaagata actttgagga caatgacttc 240  
 gaagacaatg atattgaaga aagtgaatca ttataggagg aattacgatg gcaaatacaa 300  
 ataaattctc agcgattcaa attggtttag cttocttca gaagattcgc ga 352

<210> 74  
 <211> 358  
 <212> ADN  
 <213> *Clostridium leptum*

<400> 74  
 ctcattaagg agcttcagtc cctgggctg gatgtaaagg tgctggataa ggatgagcag 60  
 gagatcgacc taaagcagaa ctttgacgac gatgacgata tcggcttgaa cgacggcggc 120  
 accattctgg aggaggatga agtcatgacc tccatggatg gctacacctt ggaggacgat 180  
 ccggacgata acaacatggt tgacgattcc ggctthtttg acgaagacgg agacgatctt 240  
 ttggattttg attccattgc aagtgatatt cgtgaagaat aaggaggggc gataggatgg 300  
 agtttaacgt ttttgagtca attaaaatcg gactggcctc tccggataaa attcgaga 358

<210> 75  
 <211> 376  
 <212> ADN  
 <213> *Clostridium nexile*



## &lt;400&gt; 75

ctcctgaaag	aacttcagtc	actgggactt	gacgtgagag	tattgcgtga	agatcagaca	60
gaagttgaga	ttatggagac	aatcgattac	ggtgaaacag	atttacattc	aattattgaa	120
ggagacagaa	gatacaattc	tgagaatgaa	tcttatggag	aacatggttt	cagtcagcag	180
gaatttgacag	gcgaggaact	tgtggatgta	gaggaagatg	aatttgatga	accggatgat	240
atcgattttg	acgatatggt	agacgaagaa	taggaggatt	gccaataatg	ccagtaacaa	300
ataatgaacc	agcataccag	ccgatgactt	ttgatgcgat	caaaatcggg	ttggcgtcac	360
ctgaaaaaat	cttgga					376

## &lt;210&gt; 76

&lt;211&gt; 391

&lt;212&gt; ADN

<213> *Ruminococcus hydrogenotrophicus*

## &lt;400&gt; 76

ctcttaaaag	aacttcagtc	cctgggtctg	gacgtgagag	tcctcaacga	agaccagacc	60
gaggtggaga	tcattggagag	cgtggattac	ggtgatacag	atctgcactc	catcattgag	120
ggagatcgtc	atcgttcgca	ggatgagtc	tacggagcaa	tgggatatac	gaagcaggaa	180
ttttccggtg	aagagctggt	agacatcgac	gagagtgaag	acgacagcga	agacgaagat	240
gaagatttga	ttgaattgga	agattctctt	gacagagaag	agtagaaagg	ggtaagaaac	300
aatggcaga	aatgaacaac	aatgaaacct	atcagccaat	gactttcgat	gcatcaaaa	360
tcggactggc	gtcccctgag	aaaatcagag	a			391

## &lt;210&gt; 77

&lt;211&gt; 182

&lt;212&gt; ADN

<213> *Chlamydia muridarum*

## &lt;400&gt; 77

ttgattaaag	aatgcaagg	tctagggctc	gatgttcgcc	ctatggtagt	agatgcttaa	60
aaaacacttg	ttggagataa	gttaatgttc	aaagaagggt	ctcgagacga	tgacgcccta	120
gcaaaagaag	ggttgtttga	taagttagaa	attgggattg	cttcagatgt	gactattcgc	180
ga						182

## &lt;210&gt; 78

&lt;211&gt; 182

&lt;212&gt; ADN

<213> *Chlamydia trachomatis*

## &lt;400&gt; 78

ttgattaaag	aatgcaagg	tctagggctt	gatgttcgcc	ctatggtagt	agatgcttaa	60
aaaacacttg	ttggagagaa	gttaatgttc	agagaagggt	ctcgagacga	tgacgccctg	120
gtaaaagaag	ggctgtttga	taagttagaa	attgggattg	cttcagatgt	gactattcgc	180
ga						182

## &lt;210&gt; 79

&lt;211&gt; 181

&lt;212&gt; ADN

<213> *Chlamydophila pneumoniae*

23ww

<400> 79  
 ctaattaaag agatgcaggg tctaggactt gatgttcgtc ctatggtcgt agacgcttaa 60  
 aaaatgacgt tttggagaaa ataatgttcg gagaaaattc tcgagacatt ggagttcttt 120  
 ctaaagaagg actatattgat aaattagaga taggcatagc ttcagatatt acaattcgtg 180  
 a 181

<210> 80  
 <211> 181  
 <212> ADN  
 <213> *Chlamydophila pneumoniae*

<400> 80  
 ctaattaaag agatgcaggg tctaggactt gatgttcgtc ctatggtcgt agacgcttaa 60  
 aaaatgacgt tttggagaaa ataatgttcg gagaaaattc tcgagacatt ggagttcttt 120  
 ctaaagaagg actatattgat aaattagaga taggcatagc ttcagatatt acaattcgtg 180  
 a 181

<210> 81  
 <211> 181  
 <212> ADN  
 <213> *Chlamydophila pneumoniae*

<400> 81  
 ctaattaaag agatgcaggg tctaggactt gatgttcgtc ctatggtcgt agacgcttaa 60  
 aaaatgacgt tttggagaaa ataatgttcg gagaaaattc tcgagacatt ggagttcttt 120  
 ctaaagaagg actatattgat aaattagaga taggcatagc ttcagatatt acaattcgtg 180  
 a 181

<210> 82  
 <211> 225  
 <212> ADN  
 <213> *Klebsiella pneumoniae*

<400> 82  
 ttggtgaaag agattcgttc gctgggtatc aacatcgaac tggaagacga gtaattctcg 60  
 ctcaaacagg tcaactgctgt cgggttaaaa cccggcagcg gattgtgcta actccgacgg 120  
 gagcaaatcc gtgaaagatt tattaaagtt tctgaaagcg cagactaaaa ccgaagagtt 180  
 tgatgcgatc aaaattgctc tggcttcgcc agacatgatc cgttc 225

<210> 83  
 <211> 225  
 <212> ADN  
 <213> *Escherichia coli*

<400> 83  
 ttggtgaaag agattcgttc gctgggtatc aacatcgaac tggaagacga gtaattctcg 60  
 ctcaaacagg tcaactgctgt cgggttaaaa cccggcagcg gattgtgcta actccgacgg 120  
 gagcaaatcc gtgaaagatt tattaaagtt tctgaaagcg cagactaaaa ccgaagagtt 180  
 tgatgcgatc aaaattgctc tggcttcgcc agacatgatc cgttc 225

## 23xx

<210> 84  
 <211> 225  
 <212> ADN  
 <213> *Escherichia coli*

<400> 84  
 ttggtgaaag agattcggtc gctgggtatc aacatcgaac tggaagacga gtaattctcg 60  
 ctcaaacagg tcaactgctgt cggggtaaaa cccggcagcg gattgtgcta actccgacgg 120  
 gagcaaatcc gtgaaagatt tattaaagtt tctgaaagcg cagactaaaa ccgaagagtt 180  
 tgatgcgatc aaaattgctc tggcttcgcc agacatgatc cgttc 225

<210> 85  
 <211> 225  
 <212> ADN  
 <213> *Escherichia coli*

<400> 85  
 ttggtgaaag agattcggtc gctgggtatc aacatcgaac tggaagacga gtaattctcg 60  
 ctcaaacagg tcaactgctgt cggggtaaaa cccggcagcg gattgtgcta actccgacgg 120  
 gagcaaatcc gtgaaagatt tattaaagtt tctgaaagcg cagactaaaa ccgaagagtt 180  
 tgatgcgatc aaaattgctc tggcttcgcc agacatgatc cgttc 225

<210> 86  
 <211> 225  
 <212> ADN  
 <213> *Escherichia coli*

<400> 86  
 ttggtgaaag agattcggtc gctgggtatc aacatcgaac tggaagacga gtaattctcg 60  
 ctcaaacagg tcaactgctgt cggggtaaaa cccggcagcg gattgtgcta actccgacgg 120  
 gagcaaatcc gtgaaagatt tattaaagtt tctgaaagcg cagactaaaa ccgaagagtt 180  
 tgatgcgatc aaaattgctc tggcttcgcc agacatgatc cgttc 225

<210> 87  
 <211> 225  
 <212> ADN  
 <213> *Salmonella typhimurium*

<400> 87  
 ctggtgaaag agatccgctc gctgggcac c aacatcgaac tggaagacga gtaattctcg 60  
 ctcaaacagg tcaactggtgt cggggtaaaa cccgacacca gattgtgcta actccgacgg 120  
 gagcaaatcc gtgaaagatt tattaaagtt tctgaaagcg cagactaaaa ccgaagagtt 180  
 tgatgcgatc aaaattgctc tggcttcgcc agacatgatc cgttc 225

<210> 88  
 <211> 225  
 <212> ADN  
 <213> *Enterobacter cloacae*  
 <400> 88

23yy

ctggtgaaag	agattcgttc	gctgggtatc	aacatcgaac	tggaagacga	gtaattctcg	60
ctcaaacagg	tactggtgc	cgggtaacc	cccggcaccg	gattgtgcta	actccgacgg	120
gagcaaatcc	gtgaaagatt	tattaaagtt	tctgaaagcg	cagactaaaa	ccgaagagtt	180
tgatgcgatc	aaaattgctc	tggcttcgcc	agacatgatc	cgttc		225

<210> 89  
 <211> 225  
 <212> ADN  
 <213> *Citrobacter freundii*

<400> 89						
ctggtgaaag	agattcgttc	gctgggtatc	aacatcgaac	tggaagacga	gtaactctcg	60
atcaaacagg	tactggtgc	tggcgtaata	gccagcgcca	gattgtgcta	actccgacgg	120
gagcaaatcc	gtgaaagatt	tattaaagtt	tctgaaagcg	cagactaaaa	ccgaagagtt	180
tgatgcgatc	aaaattgctc	tggcttcgcc	agacatgatc	cgttc		225

<210> 90  
 <211> 225  
 <212> ADN  
 <213> *Klebsiella oxytoca*

<400> 90						
ttggtgaaag	agattcgctc	gctgggcatac	aacatcgaac	tggaagacga	gtaactctcg	60
ctcaaacagg	tactggtgc	cgggtaaga	cccggcgcca	gattgtgcta	actccgacgg	120
gagcaaatcc	gtgaaagact	tattaaagtt	tctgaaagcg	caactaaaa	ccgaagagtt	180
tgatgcgatc	aaaattgctc	tggcatcgcc	agacatgatc	cgttc		225

<210> 91  
 <211> 267  
 <212> ADN  
 <213> *Serratia liquefaciens*

<400> 91						
ctggtgaaag	aatccgctc	gctcggatc	aacatcgaac	tggaagacga	gtaatcgttt	60
ttccagctca	ggctcccggc	cttagggagc	ctgaggggtg	ttgttcaggt	cacacgggtg	120
cgcgatttgt	cagcgtgcac	ccaacagggt	taactccgac	aggagccaat	ccgtgaaaga	180
cttattgaag	tttctgaaag	cgcaactaa	gaccgaagag	tttgatgcga	tcaagattgc	240
tctggcatcg	ccagacatga	tccgttc				267

<210> 92  
 <211> 267  
 <212> ADN  
 <213> *Serratia marcescens*

23zz

<400> 92  
 ctggtgaaag aaatccgctc gctcggcatc aacatcgaac tggagacga gtaatcgtca 60  
 tgccggctca ggctccccgc ctaagggagc ctgaggggtg ttgttcaggt cacacgggta 120  
 cctactgctg ttgtgggtac ccaacagggt taactccgac aggagccaat ccgtgaaaga 180  
 cttattgaag tttctgaaag cgcaactaa gaccgaagag tttgatgcga tcaagattgc 240  
 tctggcctcg ccagacatga tccgttc 267

<210> 93  
 <211> 257  
 <212> ADN  
 <213> *Morganella morganii*

<400> 93  
 ttgctgaaag aaatccgttc cctcggatc aatcgcgagc tggagacga gtaattaccg 60  
 ttgtggctgc ccgtgggtaca cgggcagcac cagtaaactc ggtttaagg acaaacagac 120  
 gaccgtttgt ctcacaggtc taactccgac aggagccatt tcgtgaaaga cttattaaag 180  
 tttctgaaag cgcaaaccaa gaccgaagag tttgatgcga tcaaaattgg tctggcctca 240  
 cctgacatga ttcgttc 257

<210> 94  
 <211> 271  
 <212> ADN  
 <213> *Proteus mirabilis*

<400> 94  
 ttgttgaag agatccgttc actgggtatc aacatcgaat tggagacga ataacgtatt 60  
 ccatgaaagc agactgctaa atatggcagt ctgctaaaca gtgactacac tggtttaaag 120  
 ggggtgaatga caggggtcat ttgcctggca ggtctaactc cgacaggagc catttcgtga 180  
 aagacttatt aaagtttctg aaagcgcaa ccaagaccga agagtttgat gcgatcaaaa 240  
 ttgctctggc atcacctgat atgatccgtt c 271

<210> 95  
 <211> 253  
 <212> ADN  
 <213> *VIBRIO CHOLERA*

<400> 95  
 ctggtgaaag agattcgctc gctgggtatc aacatcgcgc tagaagacga ataataaacc 60  
 ctaaggtttc cccgcaaggg gaagcctacc ggtttcggta ggaaggtgct cgttgccaat 120  
 cgcagcgagt tccttttaac tccttacagg agctgaatgt gaaagactta ttaaactttc 180  
 taaaagcaca gcataagacc gaagaatttg atgcgatcaa aatcgggtctg gcttcaccag 240  
 acatgatccg ttc 253

<210> 96  
 <211> 214  
 <212> ADN  
 <213> *Pseudomonas aeruginosa*

## 23aaa

<400> 96  
 ctgatcaaag agatccgttc gctcggcatc gacatcgaac tggaaaccga ataacacgtg 60  
 acgctagacg gtgcggctgg tcaaggccgg tcgcaccggg tccgtgagga ggaaaggcct 120  
 tgaaagactt gcttaatctg ttgaaaaacc aggggtcaaat cgaagagttc gatgccatcc 180  
 gtattggcct ggcttcgccc gagatgattc gttc 214

<210> 97  
 <211> 214  
 <212> ADN  
 <213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 97  
 ctgatcaaag agatccgttc gctcggcatc gacatcgaac tggaaaccga ataacacgtg 60  
 acgctagacg gtgcggctgg tcaaggccgg tcgcaccggg tccgtgagga ggaaaggcct 120  
 tgaaagactt gcttaatctg ttgaaaaacc aggggtcaaat cgaagagttc gatgccatcc 180  
 gtattggcct ggcttcgccc gagatgattc gttc 214

<210> 98  
 <211> 212  
 <212> ADN  
 <213> *Pseudomonas putida*

<400> 98  
 ttgatcaaag agatccgttc gctcggatc gatatcgatc tggaaaccga ataacacgtg 60  
 acgcgaagg gagtggggca ggtaatgctg ctccctgctc cgccaggagg aaaggccttg 120  
 aaagacctac tgattttgct gaaaaaccag ggtcaagtcg aagagttcga cgccatccgc 180  
 atcggctctgg cgtcgctga aatgatccgt tc 212

<210> 99  
 <211> 228  
 <212> ADN  
 <213> *Shewanella violacea*

<400> 99  
 ttgttgaagg aaatccgttc actcggatc aatatcgagt tggatcaaga ctaaaattaa 60  
 cttaggttaa tttggcaata aattggtgct ctgcattagc ggggcacccg gtttactcct 120  
 tcaggagaga aacgtgaaag acttattaa gtttctgaaa cagcaaagca agaccgaaga 180  
 atttaacggt atcaagatcg gactagcgtc accagatctg atccgctc 228

<210> 100  
 <211> 393  
 <212> ADN  
 <213> *Haemophilus influenzae*

## 23bbb

<400> 100  
 attatgaaag aaatccgctc acttgggtta aatatcgagt tagacgaaga gtaatcactg 60  
 attactataa atgggtgctga tcccttggct ccaccggtt acgggggagc tggcgcgag 120  
 actgaggggg gatttatatc ctaagcccc ttccgcccct cgggcacctt ccctcgcaaa 180  
 gcaggggaag gcaagaggaa caacaacata agatttgaaa tcgccgaagt gcggtcaaaa 240  
 ttctccgaaa tttttaaccg cactttaaac ctttaactcc gacaggagaa catttgtaa 300  
 agacttagtt aagtttttaa aagcacaatc aaaaaccagt gaagattttg atgtgattaa 360  
 aattgggtta gcttccccag atatgatccg ttc 393

<210> 101  
 <211> 262  
 <212> ADN  
 <213> *Pasteurella multocida*

<400> 101  
 attatgaaag aaattcgctc gcttgggtatc aatattgatt tagatgaaga ttaatctgac 60  
 atcataacca agcttgggtg aaagcaatgt acgcgcaagt gcggtaaaaa tttttaaata 120  
 ttcagcgcga cttgaataag ttttaactcc acaggagcaa atctgtgaaa gacttagtta 180  
 agtttttaa agcacaatca aaaacaagtg aagattttga tgtgatcaaa attggtttag 240  
 cctcaccgga catgatccgt tc 262

<210> 102  
 <211> 306  
 <212> ADN  
 <213> *Neisseria meningitidis*

<400> 102  
 ttgggtcaaag agattcgctc actgggcttg gatatcgatt tggaaacgcta ctgatacggg 60  
 tttcagacgg cataagggga gctgttctgc aggtatgcgg ggcagccgac aatgtttaaa 120  
 aacgaaatgc cgtctgaaaa cactgtacct ctatccatat cgaaaatccg ccatgcggtg 180  
 aaaatacttc cttcaaggag caaaaatgaa tttgttgaac ttatttaatc cgttgcaaac 240  
 tgccggcatg gaagaagagt ttgatgccat caaaatcggg attgcctctc ccgaaaccat 300  
 ccgctc 306

<210> 103  
 <211> 311  
 <212> ADN  
 <213> *Neisseria meningitidis*

<400> 103  
 ttgggtcaaag agattcgctc actgggcttg gatatcgatt tggaaacgcta ctaaacaaaa 60  
 gttttcagac ggcctttcag ggtcgtctga aaaagtgggt tcagaataag aatgaagcaa 120  
 tcggcattta ggccgtctga aatcaaaagt accgtttccc aatatcgaaa atccgcatg 180  
 cggtaaaaat acttccttca aggagcaaaa atgaatttgt tgaacttatt taatccggtg 240  
 caaactgccg gcatggaaga agagtttgat gccattaaaa tcggtattgc ctctcccga 300  
 accatccgct c 311

## 23ccc

<210> 104  
 <211> 226  
 <212> ADN  
 <213> Buchnera sp

<400> 104  
 cttttaaaag aaatccggtc attagggatt aatattgaac tagaaagcga ataacaaaat 60  
 tagcaatatt ataaaaatat ttatgtatta tttatttacc ttaaaagttt tactccaacg 120  
 agagctaacg tgtgaaagat ttactaaaat ttctaaaatc ccaaactaaa aatgaagatt 180  
 ttgatgctat taaaatctcg ttagcttcac ctgatatgat cagatc 226

<210> 105  
 <211> 247  
 <212> ADN  
 <213> Xylella fastidiosa

<400> 105  
 ctcggtgaaag aaatccgctc cttagcaatt aatattgagt tggagaataa ctaagatgcg 60  
 ttgttatgga ttaattcacc tgtttggagg cccagagctc cattgtcctc tgtttccaac 120  
 tcgtcccgat gcccgattt cggagaagaa gtatgaaaga tctactcaat ctttttaatc 180  
 agcagcgcca gacattggat ttcgatgcca tcaagattgg cettgcctcg cctgccttga 240  
 ttagatc 247

<210> 106  
 <211> 265  
 <212> ADN  
 <213> Caulobacter crescentus

<400> 106  
 ctggtcaagg aaatgcgctc gctcggcctg aacgtcgagc tggagaacag ctgatctgga 60  
 tctccctcct cgcctgcccc tcttaggaag ggtggccggg gaggggcctc ctttcagccc 120  
 gctctccctc aagaattttc gcgggaaacc ccgcagaagg aaccaagatg aaccaggaag 180  
 tcctgaacat cttcaatccg gtccaggccg ctccgacctt cgaccagatc cgtatctcgc 240  
 tcgcctcgcc ggaaaagatc cgtc 265

<210> 107  
 <211> 325  
 <212> ADN  
 <213> Mezorhizobium loti

<400> 107  
 ctcggtcaagg aaatgcggtc tctcggcctc aatgtcgagc tggagaacac caagctcgac 60  
 gacgcccctg tccggtgcc cgacgcggcc gagtaaaggc tacagcgcgc cgcacgaagt 120  
 tgcggcgcgc aaaggaattc gacggccggt ggccgacaaa agatggcggg cgtttgccc 180  
 gcgactagat gcaaggggtt ttcgaggacc ccgaaaagga gaacggcatg aaccaagagg 240  
 tcatgaatct cttcaatccg caggcgcctg cgcaggtggt cgattccatc cggatctcac 300  
 tggccagccc tgagaagatt ctgctc 325



## 23ddd

<210> 108  
 <211> 311  
 <212> ADN  
 <213> *Rickettsia prowasekii*

<400> 108  
 atgataaaag aatttagatc tttatgtctc aacgtaaagc ttgaagtaac tccaagtaaa 60  
 taaagtgtat atatgttgta cataatgtgt cttggtgtat aatttaaaaa ttggtattgc 120  
 aagccaaact aatgaatgt agtgagccat aatggtattt tgtatttaag ctatggagta 180  
 acattttaga gtaggagtaa tttttaggga aaagtattta tgagcgtagt taatttttat 240  
 ggacaattaa gtaatactca acaatgtgac cagataagga ttaatatagc cagtcctgat 300  
 caggtacggt c 311

<210> 109  
 <211> 188  
 <212> ADN  
 <213> *Borrelia burgdorferi*

<400> 109  
 ctaatgcaag agcttagagg gcttggactt gatttgtcaa tttatgatga tgctgggaat 60  
 caggttcctt tgacagaaaa agaagaagaa ttgattaata aaagctaggt ttttggagtt 120  
 tttatgaaag agataaaaga ttttgaaaga ataaaaatta aaatagcgtc tcccgatcaa 180  
 attagaaa 188

<210> 110  
 <211> 197  
 <212> ADN  
 <213> *Treponema pallidum*

<400> 110  
 ttggtgcagg agctgcgggg acttgcgctc gactttacga tttacgatgc gaagggcaag 60  
 cagattccgc tcaactgagcg cgatgaagaa atgacgaata agattggctc taaattttaa 120  
 ggggtgcagg gaatgaagga tatccgggat tttgacagtt tacagataaa gcttgcctcc 180  
 cctgatacca ttcgggc 197

<210> 111  
 <211> 159  
 <212> ADN  
 <213> *Campylobacter jejuni*

<400> 111  
 ttaaccaatg agcttaaate tcttgcttta gatggtgaga tttttgataa ggatgaagat 60  
 aatgagtaaa tttaaagtaa tagaaattaa agaagatgca agacctagag attttgaagc 120  
 atttcaacta agacttgycaa gtccctgaaaa aatcaaatc 159

23eee

<210> 112  
 <211> 161  
 <212> ADN  
 <213> Helicobacter pylori

<400> 112  
 ttgactaaag aattgcaatc gctcgctttg gatattaata tttttgggga cgatgtggat 60  
 gaggatggag cacctaaacc cattgtcatt aaagaagatg acaggcctaa agactttagc 120  
 tctttccagc tcacactagc tagcctgaa aaaatccatt c 161

<210> 113  
 <211> 161  
 <212> ADN  
 <213> Helicobacter pylori

<400> 113  
 ttgactaaag aattgcagtc gctcgctttg gatattaata tttttgggga cgatgtggat 60  
 gaagatggag cgcctagacc cattatgatc aaagaagatg acaggcctaa agactttagc 120  
 tctttccagc tcactctagc tagcctgaa aagatccatt c 161

<210> 114  
 <211> 175  
 <212> ADN  
 <213> Aquifex aeolicus

<400> 114  
 ctcgtaagag agctaaaggc tcttgggcta aacgttaagt gtctgaatgg tgaagagaag 60  
 ccttgtgacg aggttgaagt taaagaggag gaagaaaaat gaggtaagca agaaggggta 120  
 tcttccctt ctcaaaaatt aaattgatgc tcgcttctcc cgaggatatc agaag 175

<210> 115  
 <211> 175  
 <212> ADN  
 <213> Aquifex pyrophilus

<400> 115  
 ctcgttaggg agctcaaagg tctcagcctt aacgttaagt gtatgaacgg tgaggagaag 60  
 ccctgtgacc aagttgagat taaagaggag gaagaaaaat gagcacaaaa ggtaggggta 120  
 tctttccttt ctcaaaaatt aagcttatgc tcgcttctcc cgacgatatc agaag 175

<210> 116  
 <211> 293  
 <212> ADN  
 <213> Deinococcus radiodurans

23fff

&lt;400&gt; 116

ctggtcaagg	aactccactc	gctcggctctg	gacgtcgagg	tgctcgacca	cggcgacaag	60
gccgtggaca	tctttgaagg	gatgatgcc	aagcgctaag	gcgcctgcgg	cactgccaac	120
ccgtcgagca	ctgtcaaacc	gtctaaaggt	caaaccgcca	acatctttca	gccgttcgac	180
ggtgagacag	ttcgacggtt	tgaccaacaa	aagagcctcc	attccacagg	agcctgaatg	240
aaagacttca	aaaagtccg	catcgccatc	gccagcccgg	agaagatccg	cga	293

&lt;210&gt; 117

&lt;211&gt; 177

&lt;212&gt; ADN

<213> *Thermus aquaticus*

&lt;400&gt; 117

ctggtgaagg	agcttcaggc	cctggccctg	gacgtgcaga	ccctggacga	gaaggacaac	60
cccgtggaca	tttttgaggg	cctggcctcc	aagaggtgag	cccttttctg	gaggaaagat	120
gaaaaaggaa	gtccgcaagg	tccgcatcgc	cctggcctcc	cccgagaaga	tccgctc	177

&lt;210&gt; 118

&lt;211&gt; 174

&lt;212&gt; ADN

<213> *Thermotoga maritima*

&lt;400&gt; 118

ctcatcaaag	aactcagagg	tctcgcgctc	gatgtgagac	tctacgatga	gaacggtaac	60
gagatagata	tcgacaagta	ctgattggga	ggttggtaga	atgccaatgt	cctctttcaa	120
gaggaagata	aaggcaattc	agataaagat	agcctctccg	gaagtgataa	gaag	174

&lt;210&gt; 119

&lt;211&gt; 324

&lt;212&gt; ADN

<213> *Streptomyces coelicolor*

&lt;400&gt; 119

ctcatcaagg	agatgcagtc	cctgtgcctc	aacgtggagg	tgctgtcctc	ggacggcatg	60
tccatcgaga	tgctgacac	cgacgaggac	gtcttccgcg	cagcggagga	gctcggcatc	120
gacctgtcgc	ggcgcgagcc	gagcagcgtc	gaagaggtct	gacgggagtc	aggcggggcc	180
tgctctccac	aggccccgcc	gatccccgca	ccccgtttc	agaccacaga	cttacaaccc	240
tgagagggat	tgacgcatag	tgctcgacgt	caacttcttc	gacgagctcc	ggatcggtct	300
ggccaccgct	gacgacatcc	gtca				324

&lt;210&gt; 120

&lt;211&gt; 281

&lt;212&gt; ADN

<213> *Mycobacterium leprae*

23ggg

<400> 120  
 ctgctcaagg agttacagtc gctgtgtctc aacgtcgagg tgctgtcgtc cgacgggtgcg 60  
 gcgatcgagt tgcgcgaagg tgaggatgag gacctcgagc gggctgcggc caacctcggt 120  
 atcaacttgt cccgcaacga atcggcgtcc atagaagatc tggcttagcg aacttggcat 180  
 tatcgctact aaacccgcaa ggggaaagg agttacgtgc tagacgtcaa cttcttcgat 240  
 gaactccgca ttggcctggc taccgcggag gacattcgtc a 281

<210> 121  
 <211> 277  
 <212> ADN  
 <213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 121  
 ctgctcaaag aactgcagtc gctgtgcctc aacgtcgagg tgctatcgag tgacgggtgcg 60  
 gcgatcgaac tgcgcgaagg tgaggacgag gacctggagc gggccgcggc caacctggga 120  
 atcaatctgt cccgcaacga atccgcaagt gtcgaggatc ttgcgtaaag ctgtcgcaaa 180  
 attactaaac ccgttagggg aaagggagtt acgtgctcga cgtcaacttc ttcgatgaac 240  
 tccgcatcgg tcttgcctacc gcggaggaca tcaggca 277

<210> 122  
 <211> 277  
 <212> ADN  
 <213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 122  
 ctgctcaaag aactgcagtc gctgtgcctc aacgtcgagg tgctatcgag tgacgggtgcg 60  
 gcgatcgaac tgcgcgaagg tgaggacgag gacctggagc gggccgcggc caacctggga 120  
 atcaatctgt cccgcaacga atccgcaagt gtcgaggatc ttgcgtaaag ctgtcgcaaa 180  
 attactaaac ccgttagggg aaagggagtt acgtgctcga cgtcaacttc ttcgatgaac 240  
 tccgcatcgg tcttgcctacc gcggaggaca tcaggca 277

<210> 123  
 <211> 192  
 <212> ADN  
 <213> Porphyromonas cangingivalis

<400> 123  
 ctctacacg agctcaaagg tcttgggtcta agcttctgta tggagtaata ggcgaggata 60  
 tgtgattata gtttttctct catcagaata aatctcccat tatatagtta tggcattcaa 120  
 aagagataca aagataaagg ccaacttcac ccgtattaag atcggtatcg cttctcccga 180  
 agaggtattg ga 192

<210> 124  
 <211> 257  
 <212> ADN  
 <213> Mycoplasma genitalium

## 23hhh

<400> 124  
 ttgacaaaag aattacaggg cttggcctta tctgtttcat ttatctatga tgacaacacc 60  
 caacaagact ccaataatgt ttccatcttg caaagtgatg gggacaaga tgaatttttc 120  
 aatgattttg aatttgacac tgagggttat tagaaattaa caatgacaac aacaagacgt 180  
 aataaaagaa ataacaagct ttataaaaac attaaagcaa ttaaactttc catcgcttcc 240  
 aatgacacca ttttgaa 257

<210> 125  
 <211> 245  
 <212> ADN  
 <213> *Mycoplasma pneumoniae*

<400> 125  
 ttaacgaagg aactacaagg gttagcgttg agtgtgtcct ttatttacga tgacaacacc 60  
 caacaagatt ccaacaacgt ttcaattctc caagctgatg gagaacagga cgatctcttt 120  
 aatgactttg aatttgacac ggagggttat taattaatga caaagcgtaa taaaaagaac 180  
 aacaagctgt acaagaacat taaggcaatt aagctttcga ttgcttccaa cgacacgatc 240  
 ctaaa 245

<210> 126  
 <211> 305  
 <212> ADN  
 <213> *Ureaplasma urealyticum*

<400> 126  
 ttaacaaaac aatgcaagg tttagggtta tgtattaccg ttgaaacaaa agatgatcgt 60  
 atggtagata ttaatgaata tacactaaat caaatcgtt taaataatga cgatgatgag 120  
 gttattttag atgaaaatct aaaagagatc aatgattcta atgaagaat atttaataca 180  
 aactttaata ataatgacta tgatgatgaa gagaacttct aaataataga aaggtaaaat 240  
 aatgatgctc aaaaagggat taaatcatta acgatttcca ttgcttcacc tgaacaaatt 300  
 ttaaa 305

<210> 127  
 <211> 244  
 <212> ADN  
 <213> *Mycoplasma pulmonis*

<400> 127  
 ttagcctatg aattaagagg gctaggaatc aaacttcaaa ttcataaaaa agaagaagaa 60  
 aaacaagaac taccaagcca agaataatgaa agtttaaatc ttgatcaaga gctaaaaaca 120  
 gcttctgaaa atgttagtga aagtgagttt taattatgcc aaaaactaga aatattcaa 180  
 cagttgatga agaaaagatt ttaaaagtta gcttatctct tgcaactaaa gaagatgttt 240  
 taga 244

<210> 128  
 <211> 202  
 <212> ADN  
 <213> *Plasmodium falciparum*

## 23iii

<400> 128  
 attttaaaag agttacaaag ttttagctatt aatatagaag ctttttgtat atttaatgat 60  
 acaaataatt tattagaaaa tttacctatt aatataattt attaataatg ataatacata 120  
 ataataataa ttttatagga ttaaaattaa atatattaa tcctaaacaa ataataaaat 180  
 ggtcttcaat attttataaa aa 202

<210> 129  
 <211> 136  
 <212> ADN  
 <213> *Archaeoglobus fulgidus*

<400> 129  
 cttctggatg agctgaagtc aatgatgatc gctccgagaa taattctcgg agataaggca 60  
 tgaggtgaaa tgagatggta ccgaagagga tttcagccat taaatttgag gttctctccc 120  
 cccaagagat aagaag 136

<210> 130  
 <211> 169  
 <212> ADN  
 <213> *Methanothermobacter thermoautotrophicus*

<400> 130  
 ttacttctcg aactcaagag tctctgtatc ttcccgaac tcatactgga agataaggca 60  
 tgataatgga ttttaagggaa taacaaaaag gagagaatac cttgagagga attttaaaga 120  
 aaatttccca gataaacttt ggcctcatgt cccccgagga tadcaggaa 169

<210> 131  
 <211> 136  
 <212> ADN  
 <213> *Halobacterium* sp

<400> 131  
 ctactcgacg agatgaaggc gctcggcatc ggcgccgcc tggaactgga ggaggcagtg 60  
 taatgagtgc aggacaagcc cccaaggaaa tcggcgaaat cagcttcggg ctgatggacc 120  
 cagaggagta ccgcga 136

<210> 132  
 <211> 127  
 <212> ADN  
 <213> *Thermoplasma volcanium*

<400> 132  
 atgagggatg agctgatatc tctcgggtgtt gttatgcgtc ttatggtggg tgatatgaaa 60  
 tgatgggaat ttctaaaaga atttcaagta ttaaatttgc gcttctttct ccagacgaga 120  
 taagaaa 127

23jjj

<210> 133  
 <211> 127  
 <212> ADN  
 <213> *Thermoplasma acidophilum*

<400> 133  
 atgagggatg agctgatctc tctcgggtgtt gttatgaggt taatgctcgg tgatatgaaa 60  
 tgatgggaat atcaaaaaga atttcatcaa taaaatttgc ctttctttct ccggatgaga 120  
 taagaaa 127

<210> 134  
 <211> 141  
 <212> ADN  
 <213> *Sulfolobus acidocaldarius*

<400> 134  
 ttaattcaag aacttatgag tatggtaatt tcaccgagat taattttagg tgaaaaagta 60  
 aacttaggag gtgcttcaaa tgagtgagaa gattatacgg ggcgtaaaat ttggtgtatt 120  
 atcaccta at gaaataaggc a 141

<210> 135  
 <211> 145  
 <212> ADN  
 <213> *Sulfolobus solfataricus*

<400> 135  
 ttaattcaag aactaatgag tatgattatc tcacctaggt tagttttgga ggataaagtt 60  
 ggattaagtg gaggttaagg gaaatgagtg aaaagaatat aaaaggaata aagtttgga 120  
 tactttctcc tgacgaaata agaaa 145

<210> 136  
 <211> 134  
 <212> ADN  
 <213> *Pyrococcus abyssi*

<400> 136  
 ctcttggatg agcttaaggc catggttatt aggccaaagt taaacctcac ggagagggtg 60  
 tgagctatgc aatccgtaa gaaggttatc ggtagtatag agtttggaa tctctcccct 120  
 caagaaatta gaaa 134

<210> 137  
 <211> 134  
 <212> ADN  
 <213> *Pyrococcus horikoshii*

23kkk

<400> 137  
 cttctggatg agcttaaggc tatggtgatt agacctaagt taaacctcac ggagaggggtg 60  
 tgagccatgc actcagttaa gaaggttata ggtagtattg aatttggaat actttcccct 120  
 caagaaatta ggaa 134

<210> 138  
 <211> 224  
 <212> ADN  
 <213> Aeropyrum pernix

<400> 138  
 ctgctgcagg agataaccag tatgatgata aagccggaac tcaaggtagc cgacaagata 60  
 tccgtcatca gaaaagtcgt cggcgactat acatgattac cccattttaa ttctcggatt 120  
 tcgggggtgt tgggtgctat gtctctaagg ctctcggagt tccgcgagac aaaccttcta 180  
 gataagatac tctttggcgt cttaagcccc catgagataa ggca 224

<210> 139  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Artificial sequence

<220>  
 <223> Primer

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)..(7)  
 <223> n = a, g, c or t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)  
 <223> n = a, g, c or t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)  
 <223> n = a, g, c or t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)  
 <223> n = a, g, c or t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (21)  
 <223> n = a, g, c or t/u

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (24)  
 <223> n = a, g, c or t/u<400> 139  
 marccnntng gngaymgngt natngt

26



23111

<210> 140  
 <211> 186  
 <212> ADN  
 <213> *Pasteurella multocida*

<400> 140  
 gaaaaaattg atggcgaaga agtgtaatt atttctgaaa acgatatttt agccattggt 60  
 gaataatttt tatcaacaac acaaatcgt tatttctata aataa caaa cttaaatag 120  
 caatttgc atacaagattc gaaatgagag gaagataaaa aatggcagca aaagacgtaa 180  
 aatttg 186

<210> 141  
 <211> 113  
 <212> ADN  
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 141  
 gaaaaaatcg atggcgaaga agtgtaatt atttctgaaa acgacatcct agcaattgta 60  
 gaataattat taaataaggg aaaagaaaat ggcagcaaaa gacgtaaat ttg 113

<210> 142  
 <211> 113  
 <212> ADN  
 <213> *Haemophilus ducreyi*

<400> 142  
 gaaaaaattg atggcgaaga aattttaatt ctttcagaga atgacattct tgcaattgta 60  
 gaataatcga agaataaggg ataataaat ggcaataaaa gacgttaaat ttg 113

<210> 143  
 <211> 137  
 <212> ADN  
 <213> *Buchnera aphidicola*

<400> 143  
 gaaaaaattg ataacgaaga attattaatt ctaactgaaa ggcacatttt agcaattggt 60  
 gaatagtaaa ccacatgcta tatcattgaa aattgattta aggggatgtc aaatggccgc 120  
 taaagatgta aaatttg 137

<210> 144  
 <211> 139  
 <212> ADN  
 <213> *Myzus persica*

<400> 144  
 gaaaaaatta atactgaaga gttattactt ttaactgaaa gtgacatttt agcaattggt 60  
 gaatagtaaa ctatatgcta tatccattta aaaatttatt taagggatg tcaaatggcc 120  
 gctaaagatg taaaatttg 139

## 23mm

<210> 145  
 <211> 144  
 <212> ADN  
 <213> *Vibrio cholerae*

<400> 145  
 gaaaagatcg atggcaaaga agtgctgac ttggctgaac atgacatttt ggcaatcggt 60  
 gaataattga ttctgaatcc caacgaaatc aataactgaa tttagaaagg aaatgaaaaa 120  
 tggctgctaa agacgtacgt tttg 144

<210> 146  
 <211> 137  
 <212> ADN  
 <213> *Escherichia coli*

<400> 146  
 gagaagatcg acaatgaaga agtgctgac atgtccgaaa gcgacattct ggcaattggt 60  
 gaagcgtaat cctcgcacga cactgaacat acgaatttaa ggaataaaga taatggcagc 120  
 taaagacgta aaattcg 137

<210> 147  
 <211> 137  
 <212> ADN  
 <213> *Escherichia coli*

<400> 147  
 gagaagatcg acaatgaaga agtgctgac atgtccgaaa gcgacattct ggcaattggt 60  
 gaagcgtaat cctcgcacga cactgaacat acgaatttaa ggaataaaga taatggcagc 120  
 taaagacgta aaattcg 137

<210> 148  
 <211> 137  
 <212> ADN  
 <213> *Escherichia coli*

<400> 148  
 gagaagatcg acaatgaaga agtgctgac atgtccgaaa gcgacattct ggcaattggt 60  
 gaagcgtaat ccgcgcacga cactgaacat acgaatttaa ggaataaaga taatggcagc 120  
 taaagacgta aaattcg 137

<210> 149  
 <211> 142  
 <212> ADN  
 <213> *Pseudomonas putida*

23nnn

<400> 149  
 gtgaaagtcg atggcgaaga cctgctggta atggccgaga acgagattct cgccgttatc 60  
 gaaggctgat ttccccgact tcccgttatt ccaaagcatt tcaaggatta aacgatcatg 120  
 gctgctaaag acgtaaaatt cg 142

<210> 150  
 <211> 144  
 <212> ADN  
 <213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 150  
 atcaaggctg atggcgagga actgctgggtg atgggagagt ccgaaatcct cgccgtcctg 60  
 gaagactgat cggcttcacc actccgtttt caccgaattc gatttagagg aaagagaaca 120  
 tggctgcaa agaagttaag ttcg 144

<210> 151  
 <211> 186  
 <212> ADN  
 <213> *Neisseria meningitidis*

<400> 151  
 gtaaaagccg acggcgaaga gctgttggta atgcgcaag aagatatttt cggcatcgtt 60  
 gaaaaataaa tacggacacg atgccgtctg aaacggcaaa ccgccttcag acggcataaa 120  
 cggttttatc agacagtttt aatgattttt ggagaattga aatggcagca aaagacgtac 180  
 aattcg 186

<210> 152  
 <211> 186  
 <212> ADN  
 <213> *Neisseria meningitidis*

<400> 152  
 gtaaaagccg acggcgaaga gctgttggta atgcgcaag aagatatttt cggcatcgtt 60  
 gaaaaataaa tacggacacg atgccgtctg aaacggcaaa ccgccttcag acggcataaa 120  
 cggttttatc agacagtttt aatgattttt ggagaattga aatggcagca aaagacgtac 180  
 agttcg 186

<210> 153  
 <211> 185  
 <212> ADN  
 <213> *Neisseria gonorrhoeae*

<400> 153  
 gtaaaagccg acggcgaaga gctgttggta atgcgcaag aagatatttt cggcatcgtt 60  
 gaaaaataaa tacggacacg atgccgtctg aaacggcaaa ccgccttcag acggcataaa 120  
 cggttttatc agacagtttt aagatttttg gagaattgaa atggcagcaa aagacgtaca 180  
 attcg 185

23000

<210> 154  
 <211> 201  
 <212> ADN  
 <213> Xylella fastidiosa

<400> 154  
 tacaaggctg aaggcgtcga atacaaagta ttacgcgagg acgacatcct ggcgatcatc 60  
 ggttgattaa gccaaagccc aaactcgtga atgcatccga catatcacgc caacagcggg 120  
 cacattgttc catacatcac taatgttctc atcgcgaatc ttggagtaaa aacataatgg 180  
 ctgccaaaga aattattttc a 201

<210> 155  
 <211> 224  
 <212> ADN  
 <213> Streptomyces coelicolor

<400> 155  
 gtgaagtaca acggcgagga gtacctcgtc ctctcggccc gcgacgtgct cgcgatcgtc 60  
 gagaagtaga agtagtactt cgcttcaccg aagcaccttg ctttccagct gcgcccctgg 120  
 ctcccgcgac cataaaaagc cgggogtcgg gggcgcagtt gccgtataac cccaagattt 180  
 ccggaagagg gctcacgctc ccatggcgaa gatcctgaag ttcg 224

<210> 156  
 <211> 185  
 <212> ADN  
 <213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 156  
 atcaagtaca acggcgagga atacctgatc ctgtcggcac gcgacgtgct ggccgtcgtt 60  
 tccaagtagt agagcgtggt ccgccccggc gatccccgtg ctcaccacgg gtgatttccg 120  
 gggcggcatg cgttagcgga ctagccctgc gtagaggagc ctgatgagca agctgatcga 180  
 atacg 185

<210> 157  
 <211> 185  
 <212> ADN  
 <213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 157  
 atcaagtaca acggcgagga atacctgatc ctgtcggcac gcgacgtgct ggccgtcgtt 60  
 tccaagtagt agagcgtggt ccgccccggc gatccccgtg ctcaccacgg gtgatttccg 120  
 gggcggcatg cgttagcgga ctagccctgc gtagaggagc ctgatgagca agctgatcga 180  
 atacg 185

<210> 158  
 <211> 169  
 <212> ADN  
 <213> Mycobacterium leprae

## 23ppp

<400> 158  
 atcaagtaca atggcgagga atacctgac ctgtcggcac gtgacgtgct ggctgtcgta 60  
 tccaagtaac gaaccgtggt ccgccccggc gatccccgtg cttaccacg ggtgatttcc 120  
 gggcgggcat gcgtttaaag gagcctgatg agcaagctga ttgagtacg 169

<210> 159  
 <211> 103  
 <212> ADN  
 <213> *Thermus aquaticus*

<400> 159  
 attgagattg caccgcaag gacgtacgtg atcctctccg agcgcgacct gcttgccggtc 60  
 ctgcagtaaa ggaggtgaac catggcgaag atcctggtgt ttg 103

<210> 160  
 <211> 100  
 <212> ADN  
 <213> *Thermus thermophilus*

<400> 160  
 attgagattg acggcgagga gtacgtgac ctctccgagc gcgacctgct tgcggtcctg 60  
 cagtaaagga ggtgaacat ggcgaagatc ctggtgtttg 100

<210> 161  
 <211> 100  
 <212> ADN  
 <213> *Thermus thermophilus*

<400> 161  
 attgagattg acggcgagga gtacgtgac ctctccgagc gcgacctgct tgcggtcctg 60  
 cagtaaagga ggtgaactat ggcgaagatc ctggtgtttg 100

<210> 162  
 <211> 162  
 <212> ADN  
 <213> *Deinococcus radiodurans*

<400> 162  
 gtcagcctcg aaggcaagaa ctacagcctg ctgagcgagc gcgacctgct cgccattgtc 60  
 gagtaaggct ccgagtcagg ttctgagcct gttegtttcc tgtttttctt cctcatttca 120  
 cttttcaagg agcaatcaca atggctaaac agctcgtggt tg 162

<210> 163  
 <211> 121  
 <212> ADN  
 <213> *Porphyromonas gingivalis*

## 23qqq

<400> 163  
 atagagctgg agggcgaaaa atatatcatc atgcgccaaa acgatgtctt ggcaatcatc 60  
 taattctcag agacaataac ctacaataaa aaataaagac tatggcaaaa gaaatcaat 120  
 t 121

<210> 164  
 <211> 134  
 <212> ADN  
 <213> *Bacillus subtilis*

<400> 164  
 gtgaaatagc aaggtactga atacttaatc ttacgtgaaa gcgacatctt agctggtatc 60  
 ggctaattct taaataaaca atacttaaaa catttgagga ggtcttgtaa acatggcaaa 120  
 agaaattaag tttta 134

<210> 165  
 <211> 180  
 <212> ADN  
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 165  
 gtaaatatg atggtaaaga gtatttaatc cttcgtgaaa gcgatattct cgcgattatc 60  
 ggtaatttt acgtagggtt atccctacat acatgtaaga cgagagggtt ttgtctattc 120  
 ctcttttgta aaataccatt caggagggtg agaataacat ggcaaaagat attaagtta 180

<210> 166  
 <211> 121  
 <212> ADN  
 <213> *Lactobacillus zeae*

<400> 166  
 gtgaagtatg aaggtcaaga ctaccttgta ttgcatgaaa aagacatcat ggcaattgcg 60  
 taactaaata atcgatcaat tttgagggtg ataaaaacaa tggcaaaaga aattaaattc 120  
 t 121

<210> 167  
 <211> 142  
 <212> ADN  
 <213> *Clostridium perfringens*

<400> 167  
 gttaagttcg agggggaaga atatactatt ttaagacaag acgatatact agcaatagtt 60  
 gaatagtttt aaaatataag tgatttagat attcataata tatttgggag gtaaattaat 120  
 atggctaaaa cattattatt cg 142

## 23rrr

<210> 168  
 <211> 120  
 <212> ADN  
 <213> Clostridium difficile

<400> 168  
 gttaagatag aaggacaaga atacacaata ctaagacaga gtgatgtatt agctggttatt 60  
 gaataaatat agaataaatt tattaggagg ggtttaaaat ggctaaagaa attaaatttt 120

<210> 169  
 <211> 129  
 <212> ADN  
 <213> Clostridium acetobutylicum

<400> 169  
 ataaaagttg acaatgaaga attgttaatt ttaagacagg acgatatttt aggaattgta 60  
 gaagaataag ctatcaattt tgtaataat tcagggaggg attctaaatg gcaaagcaaa 120  
 tattatacg 129

<210> 170  
 <211> 141  
 <212> ADN  
 <213> Lactobacillus helveticus

<400> 170  
 gttgaatagc aaggtgaaaa gtacttagtc cttcatgaaa aagacatttt agcaattgca 60  
 aaataattga cgcaattatt agaaattaaa atacgagatt aaggaggcat agataatcta 120  
 tggcaaaaga tattaaattc t 141

<210> 171  
 <211> 118  
 <212> ADN  
 <213> Lactobacillus johnsonii

<400> 171  
 ttgaagtacg aaggcgaaaa gtacttagtt cttcgtgaaa gcgacttatt agctgtcggt 60  
 aagtaataaa atttgaaata aaaggtggca tataatatgg ctaaagagat taaatttt 118

<210> 172  
 <211> 143  
 <212> ADN  
 <213> Staphylococcus epidermis

<400> 172  
 gtaaaacgtg gcgcccacac atatattaatt ttaaatgaag aagatatatt agctattata 60  
 gaataaagag cgaattttaa atattaatta aatgatttaa taagtggagg ttgtttagac 120  
 tatggcaaaa gatcttaaat tct 143

## 23sss

<210> 173  
 <211> 163  
 <212> ADN  
 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 173  
 gttaaacgag ataatgaaac atatctagta ttaaatgaag aagatatttt agcggtaatt 60  
 gaataatata aaattaaatt catagataaa ttgtaaagaa cgaaaatgaa atatgactaa 120  
 acaaatggag gtttatcatt tatggttaaa caattgaaat tct 163

<210> 174  
 <211> 106  
 <212> ADN  
 <213> *Streptococcus pneumoniae*

<400> 174  
 gtcaaagatg gcgatgaaaa gtacatcatc gtaggcgaag ctaacatttt ggcaatcatt 60  
 gaggaataga aggagaaagt aagtatgtca aaagaaatta aatttt 106

<210> 175  
 <211> 175  
 <212> ADN  
 <213> *Lactococcus lactis*

<400> 175  
 gtaaaaatgg atgggtgaaga attcttgatt ctcaaagatt cagaccttct tgcaattgta 60  
 gagtaaaatt ataaaagcaa tcattttttt ggttgtcttt tgtctatctt aaaatctata 120  
 aaattaaaaa tatattctta aaaaggagct aaaatgtcaa aagatattaa atttt 175

<210> 176  
 <211> 111  
 <212> ADN  
 <213> *Rickettsia prowasekii*

<400> 176  
 attgaaataa aaggagaaaa attaatcgtt atgaaagaaa gcgatgtatt tggattatt 60  
 aattaattat ttttaggaga aaaaatatga caacgaaact tattaaacac g 111

<210> 177  
 <211> 129  
 <212> ADN  
 <213> *Chlamydia muridarum*

<400> 177  
 ctcaactgtcg aagggtgaaga atatgtcatc gttcaaataga gcgaagttat agcagtcctg 60  
 caataaaaac taagagagtg aagtaagatt taaggagcgc atcgatggtc gctaaaaata 120  
 ttaaatata 129



23ttt

<210> 178  
 <211> 128  
 <212> ADN  
 <213> Chlamydia trachomatis

<400> 178  
 cttactgtcg aaggtgaaga gtacgtcatc gttcaaatga gcgaagttat cgcagttctg 60  
 caataaaaac taagagagtg aagaagattt aaggagcgca tcaatggtcg ctaaaaacat 120  
 taaataca 128

<210> 179  
 <211> 132  
 <212> ADN  
 <213> Chlamydophila pneumoniae

<400> 179  
 atcacaatcg atgacgaaga gtatgtcatt ctacagtcca gtgaaatcat ggccgtccta 60  
 aaataaaata ctagtttgca gattatagaa agttaaggag aacaacgatg gcagcgaaaa 120  
 atattaaata ta 132

<210> 180  
 <211> 132  
 <212> ADN  
 <213> Chlamydophila pneumoniae

<400> 180  
 atcacaatcg atgacgaaga gtatgtcatt ctacagtcca gtgaaatcat ggccgtccta 60  
 aaataaaata ctagtttgca gattatagaa agttaaggag aacaacgatg gcagcgaaaa 120  
 atattaaata ta 132

<210> 181  
 <211> 132  
 <212> ADN  
 <213> Chlamydophila pneumoniae

<400> 181  
 atcacaatcg atgacgaaga gtatgtcatt ctacagtcca gtgaaatcat ggccgtccta 60  
 aaataaaata ctagtttgca gattatagaa agttaaggag aacaacgatg gcagcgaaaa 120  
 atattaaata ta 132

<210> 182  
 <211> 141  
 <212> ADN  
 <213> Chlamydophila caviae

## 23uuu

<400> 182  
 cttaccgttg atggtgagga gtacgtcatt gttcaggaaa gcgaagttat ggcagttctc 60  
 aagtaagaga aatcattatt tatagattgc aaaaagttaa ggagcacaaa aaaacaatgg 120  
 cagcaaaaaa tattaatat a 141

<210> 183  
 <211> 160  
 <212> ADN  
 <213> Helicobacter pylori

<400> 183  
 ctagaagaca ttctaggcat tgtgggctca ggctcttggt gtcatacagg taatcatgac 60  
 cataaacatg ctaaagagca tgaagcttgc tgtcatgatc acaaaaaaca ctaaaaacat 120  
 tattattaag gatacaaaat ggcaaaagaa atcaaatttt 160

<210> 184  
 <211> 160  
 <212> ADN  
 <213> Helicobacter pylori

<400> 184  
 ctagaagaca ttctaggtat tgtgggctca ggctcttgct gtcatacagg taatcatgac 60  
 cataaacatg ctaaagagca tgaagcttgc tgtcatgatc acaaaaaaca ctaaaaacat 120  
 tattattaag gatacaaaat ggcaaaagaa atcaaatttt 160

<210> 185  
 <211> 72  
 <212> ADN  
 <213> Campylobacter jejuni

<400> 185  
 ttagatgata tcttaggaat tttaaataa tttataaaaa aggataaaaa atggcaaaag 60  
 aaattatttt tt 72

<210> 186  
 <211> 136  
 <212> ADN  
 <213> Clostridium thermocellum

<400> 186  
 gtaaaatttg acggacagga atatacgatc ttaagacaaa acgatatttt ggcggtagta 60  
 gagtaattat attaccaact tcaatacaaa agtatccta aggaggttaa tcatatggca 120  
 aagcaaataa aatttg 136

23vvv

<210> 187  
 <211> 127  
 <212> ADN  
 <213> Mycoplasma genitalium

<400> 187  
 tttgagaatg agggaaacaa gtacaaaatt attggatttg aggatgtact tgcctttgaa 60  
 aaaccagaaa gtggtaagca aagaaaaaga taaaattaa caattatggc aaaggaatta 120  
 atctttg 127

<210> 188  
 <211> 138  
 <212> ADN  
 <213> Mycoplasma pneumoniae

<400> 188  
 tttgaagagg aaggtaccaa gtacaagatt atttccttgg aagatgtcct tgcttttgaa 60  
 aagcatggta atacaaaaac tactactgta aagaaaggag ctaagaaaa atagttatgg 120  
 caaaggaatt agtatttg 138

<210> 189  
 <211> 120  
 <212> ADN  
 <213> Aquifex aeolicus

<400> 189  
 gtagagattg aaggaaagat ttacctcggt atgtctgaag acgaagtttt agctggtggt 60  
 gaagattatt caagcttaat aggaggtgag gtgagatggc agcaaaggca attatctaca 120

## REVENDICATIONS

1) Procédé de détection des éléments constitutifs d'une flore bactérienne dont au moins une partie des éléments possède un opéron en commun, caractérisé en ce que :

- a) on prépare l'ADN génomique de ladite flore ou les ARNm,
- b) on amplifie au moins une partie des séquences intergéniques non codantes situées dans l'opéron conservé chez au moins une partie des éléments de la flore et
- c) on identifie les différentes séquences intergéniques amplifiées afin de déterminer les éléments de ladite flore, ledit opéron étant un opéron rpoBC.

2) Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'identification des séquences amplifiées est réalisée sur une puce à ADN comportant des séquences complémentaires des séquences susceptibles d'être amplifiées à partir des éléments connus de ladite flore et la mise en évidence d'éventuelles hybridations permettant d'identifier les éléments présents dans la flore.

3) Procédé selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que les amorces destinées à amplifier la séquence intergénique sont situées dans les séquences codantes pour les gènes flanquants.

4) Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que les séquences intergéniques au moins partiellement amplifiées sont la zone intergénique transcrite entre les gènes rpoB et rpoC.

5) Procédé selon l'une des revendications 3 et 4, caractérisé en ce qu'au moins une amorce est choisie parmi les séquences SEQ ID N°1 à SEQ ID N° 31.

6) Puce à ADN caractérisée en ce qu'elle présente, à sa surface, des séquences complémentaires aux séquences intergéniques non codantes situées dans un opéron conservé entre différentes espèces, ledit opéron étant un opéron rpoBC, et lesdites séquences étant choisies parmi SEQ ID N° 63 à SEQ ID N° 138.

7) Puce à ADN selon la revendication 6, présentant à sa surface une pluralité d'oligonucléotides comprenant des fragments de taille supérieure à 30 bases choisis parmi les fragments des séquences SEQ ID NO : 63 à SEQ ID NO : 138.

8) Trousse de diagnostic pour la mise en œuvre d'un procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce qu'elle contient des amorces dégénérées permettant l'amplification d'une ou plusieurs régions intergéniques d'un opéron conservé parmi les espèces, ledit opéron étant un opéron rpoBC et lesdites amorces étant choisies parmi les séquences SEQ ID NO : 1 à SEQ ID NO : 31 et SEQ ID NO : 53 à SEQ ID NO : 61.

9) Trousse de diagnostic selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle contient en outre une puce à ADN selon l'une des revendications 6 ou 7.

10) Amorce pour la mise en œuvre d'un procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce qu'elle est choisie parmi les séquences SEQ ID NO : 1 à SEQ ID NO : 31 et SEQ ID NO : 53 à SEQ ID NO : 61.

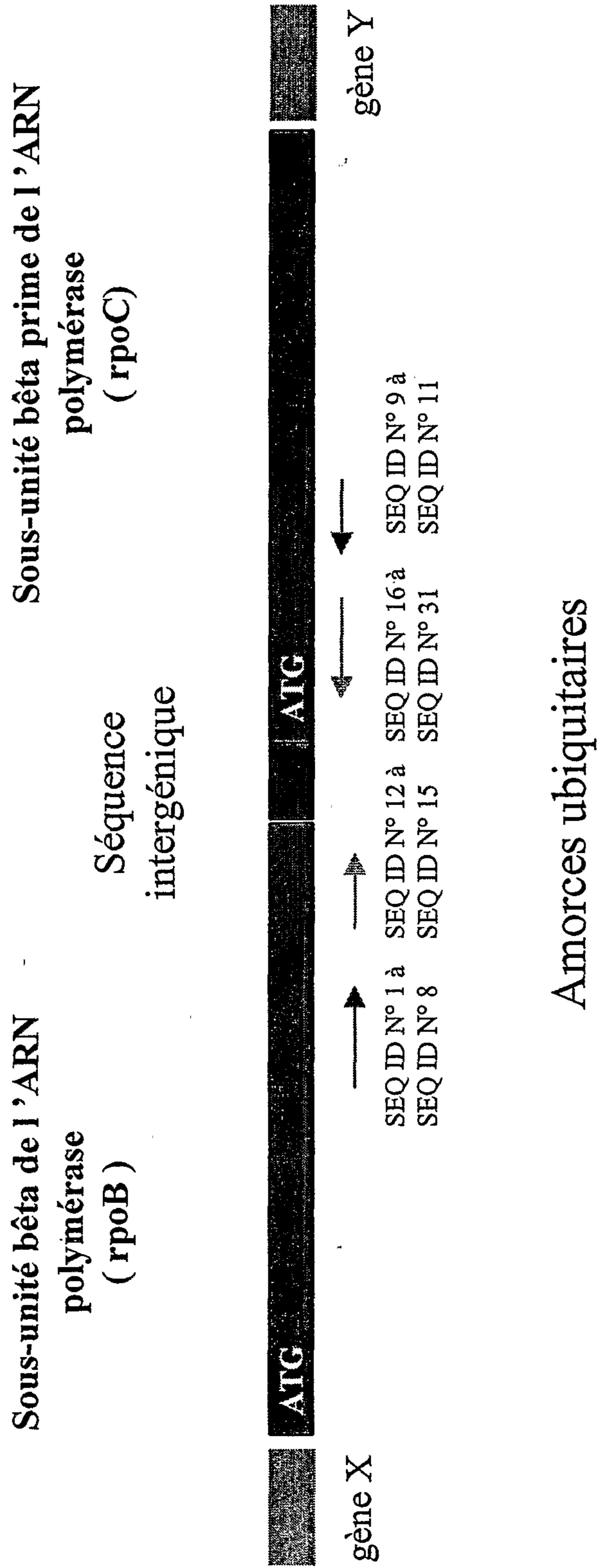


FIG. 1

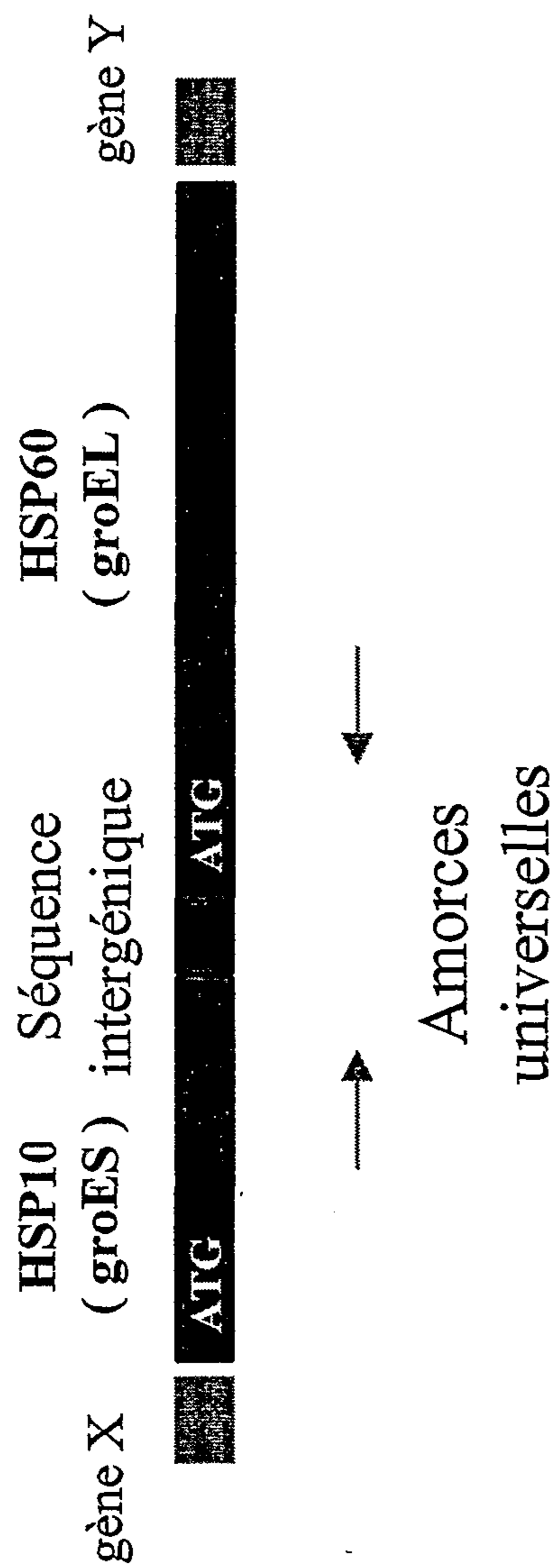


FIG. 2

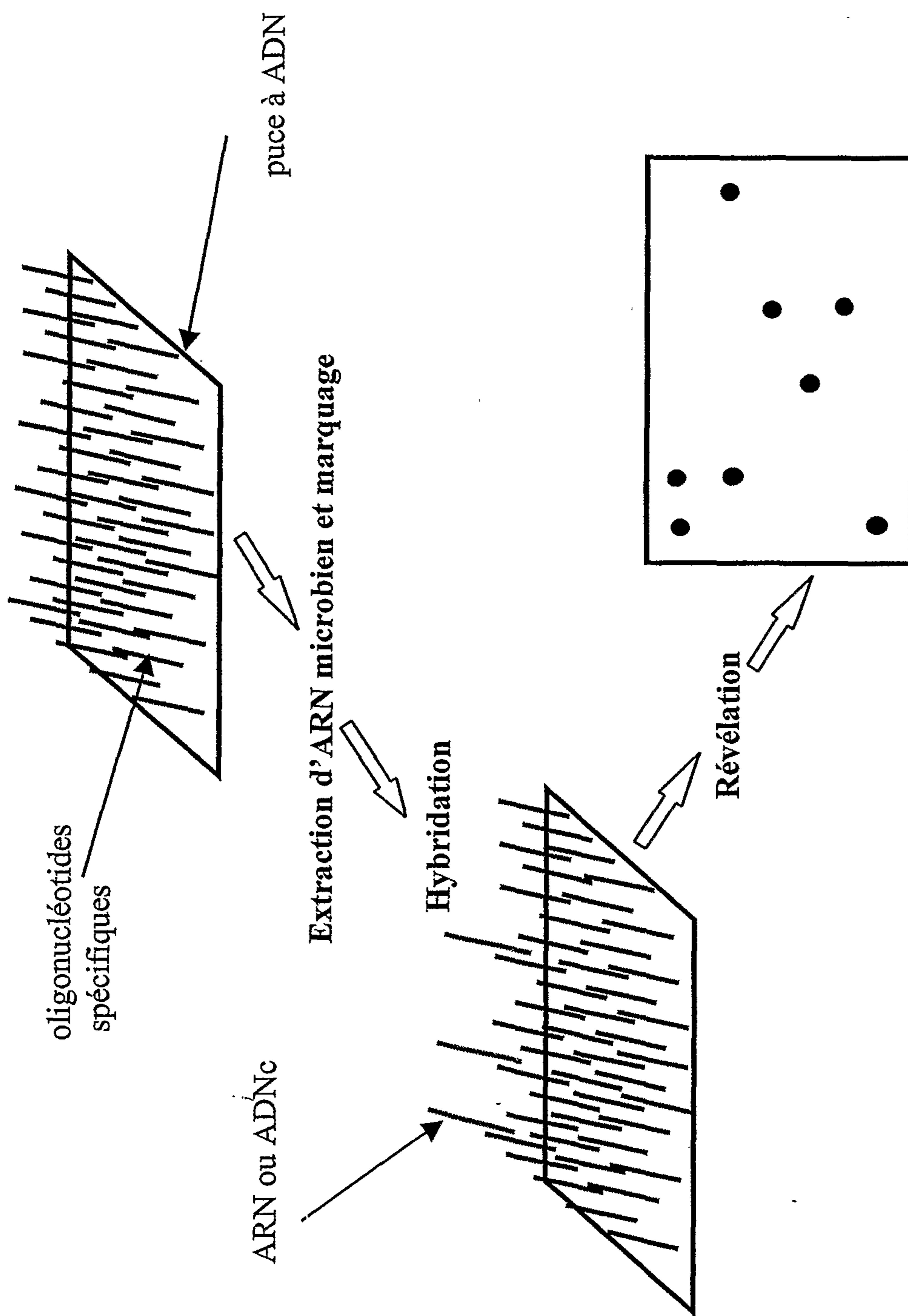


FIG. 3



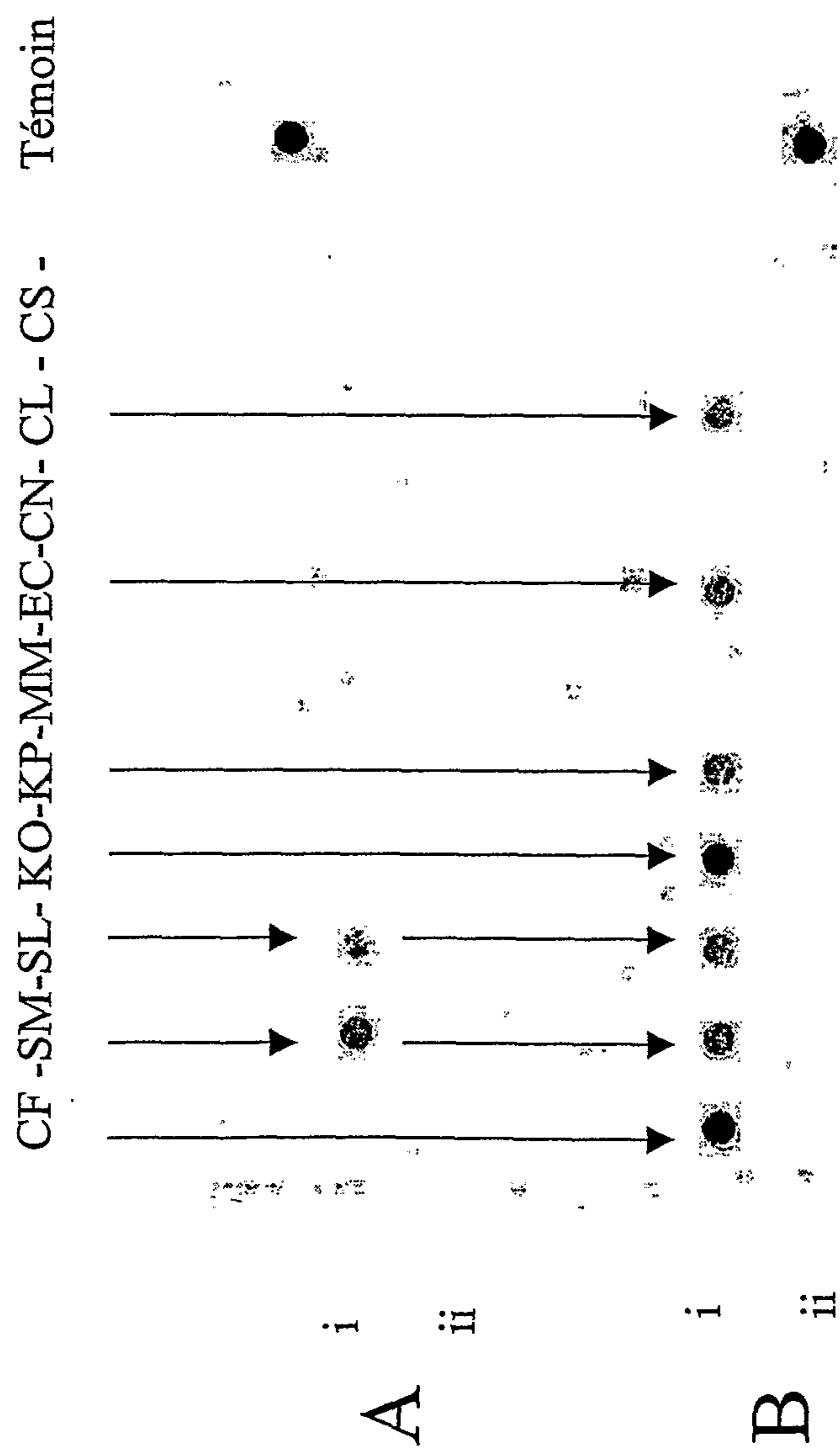


FIG. 4

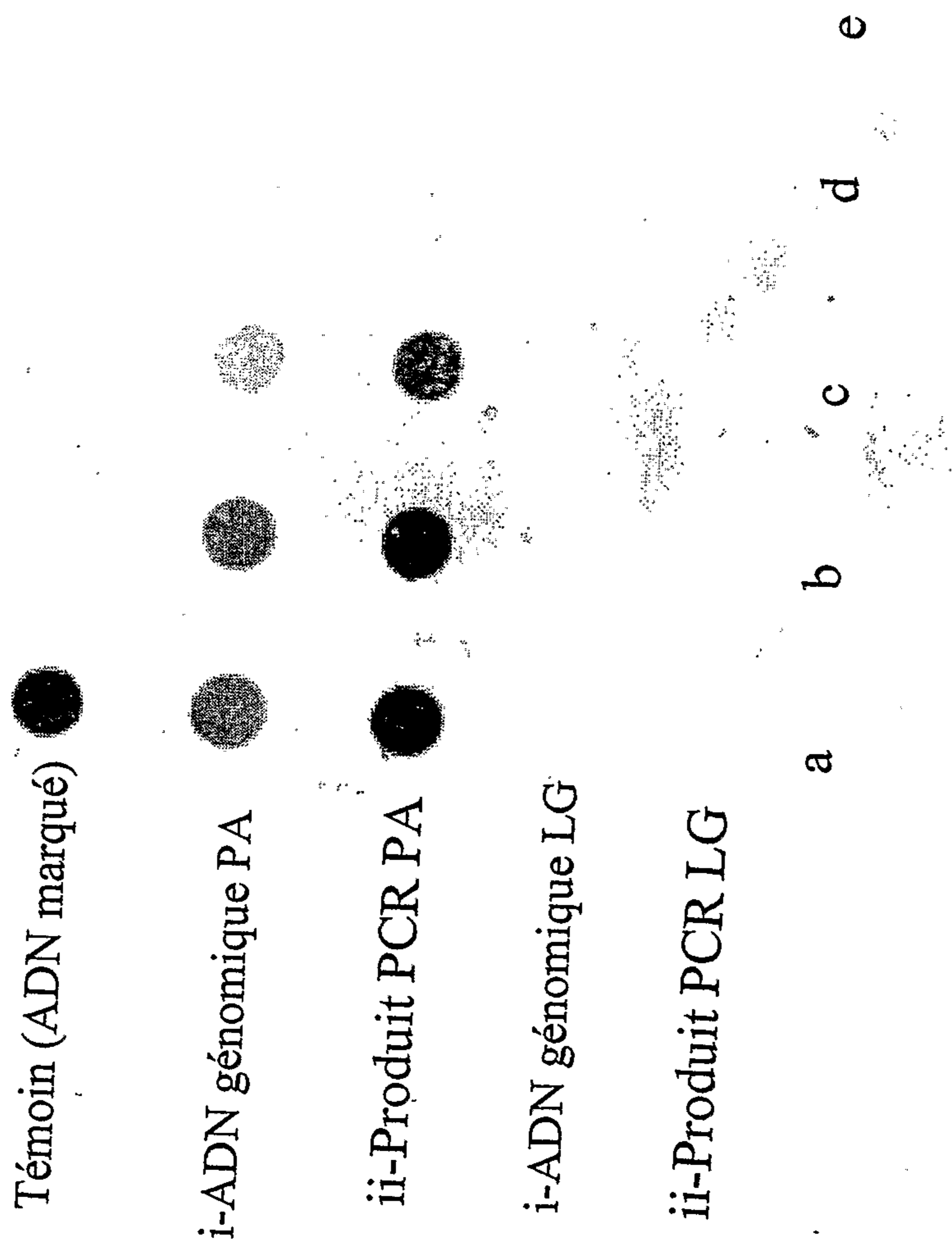


FIG. 5

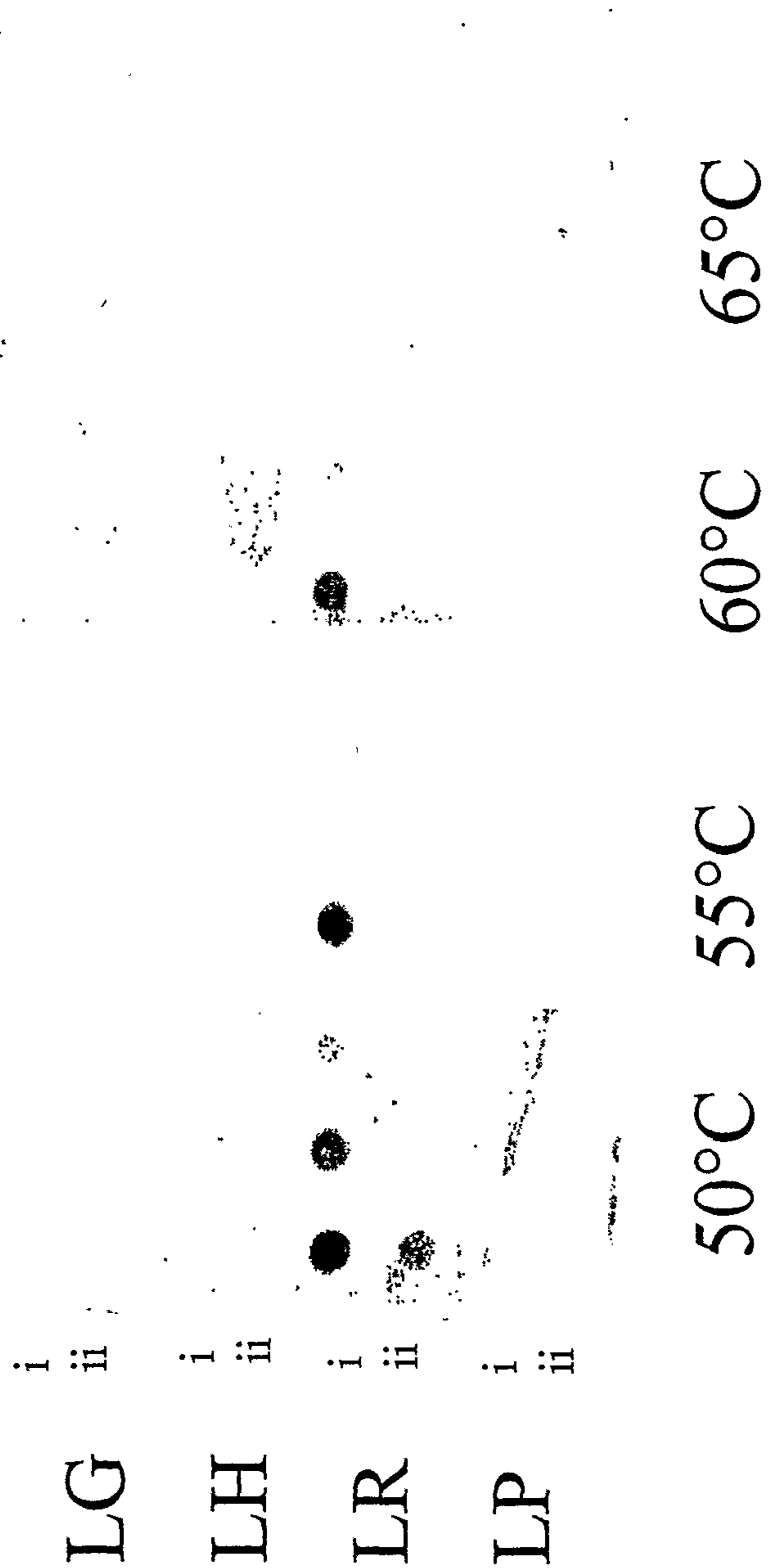


FIG. 6