



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2023 30 stp

Fakultet for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap

Kartlegging av resistensmeksnimer i akvatiske ytre miljø i Gjøvik- og Nordre Follo Kommune, samt vurdering av spredningspotensialet til eventuelle funn.

Investigation of resistance mechanisms in aquatic external environments in Gjøvik and Nordre Follo Kommune, as well as assessment of the potential spread of any findings.

Mette Lea

Matvitenskap

Forord

Denne oppgaven ble utført som et avsluttende prosjekt av en toårig mastergrad i Matvitenskap og ernæring med fordypning i mattrygghet, kvalitet og hygiene ved Norges Miljø og Biovitenskapelige Universitet (NMBU). Arbeidet knyttet til denne oppgaven har vært spennende, krevende og ikke minst lærerikt, noe som har resultert i både faglig og personlig lærdom som jeg tar med meg videre inn i arbeidslivet.

Denne oppgaven hadde ikke vært mulig å gjennomføre uten hjelp fra en rekke mennesker, som jeg ønsker å rette en stor takk til. Først og fremst vil jeg takke min hovedveileder, Professor Bjørn-Arne Lindstedt, for et stor engasjement rundt oppgaven, faglig oppfølging og veiledning, svar på store og små spørsmål og ikke minst for påfyll av ny faglig kunnskap. Jeg vil også rette en stor takk til senioringeniør Ahmed Abdelghani for å alltid ha vært til stede og for å ha vist stor interesse rundt oppgaven. Du gjorde både de gode og dårlige dagene på labben bedre med gode samtaler, hjelp rundt det praktiske og alltid med et smil om munnen. Din hjelp i løpet av det siste halvåret har vært uvurderlig.

Ellers vil jeg gjerne rette en veldig stor takk til mine medstudenter Mari Anida Hafsås og Martine Tjåland som jeg utførte den praktiske delen med. Dere har uten tvil vært min bærebjelke gjennom det siste halvåret, og jeg setter utrolig stor pris på at dere alltid stilte opp når behovet meldte sin ankomst. Tiden på lab hadde ikke vært det samme uten dere, så tusentakk for en rekke latterkramper, felles frustrasjoner, faglige og personlige samtaler, motivasjon gjennom hele masterperioden og ikke minst et utrolig godt samarbeid.

Til slutt vil jeg takke min mor, morfar, jentene i 23A, øvrige venner og familie samt kjæreste for gode samtaler og engasjementet rundt oppgaven, samt god støtte og motiverende ord gjennom denne perioden. Sist, men ikke minst ønsker jeg rette en stor takk til far som alltid stiller opp og er tilgjengelig når det trengs som mest. Alle erfaringer og lærdom jeg har tilegnet meg de siste fem årene er takket være deg, og det er jeg utrolig takknemlig for.

Ås, 17. juni, 2023

Mette Lea

Sammendrag

Antibiotikaresistens (AR) er et raskt voksende problem som truer folkehelsen globalt, noe som i stor grad skyldes at multiresistente Gram-negative bakterier har utviklet evnen til å produsere «Extended Spectrum β -Lactamases (ESBL)». Genene som koder for utvidet spektrum β -laktamaser kan enkelt spres mellom bakterier, som føler av at genene ofte er lokalisert på plasmider, noe som betraktes som bekymringsverdig.

Hensikten med denne oppgaven var å kartlegge resistensmekanismer i akvatisk ytre miljø og vurdere spredningspotensialet til eventuelle funn. Det ble hentet inn 3 vannprøver fra 3 ulike vannkilder som var lokalisert i Gjøvik- og Nordre Follo kommune. Prøvene ble filtrert før de ble dyrket på kromogene skåler med «Oxoid BrillianceTM ESBL»-agar og «Oxoid BrillianceTM CRE»-agar. Deretter ble DNA-et til bakterieisolatene av interesse ekstrahert og amplifisert ved hjelp av PCR. PCR-produktene til samtlige prøver av interesse ble sendt til Sanger-sekvensering for å få en indikasjon på hvilken slekt bakterieisolatet tilhørte. Deteksjon av ESBL-gener ble utført ved hjelp av multipleks- og singlepleks PCR, før det ble kjørt en agarosegel-elektroforese av PCR-produktene for å påvise eventuelle ESBL-gener. PCR-produktet til bakterieisolatene som antydte å inneha ESBL-gener ble sendt til Sanger-sekvensering for å få bekreftet eller avkreftet forekomsten av ESBL.

Tre av de mest interessante bakterieisolatene ble helgenomsekvensert for å påvise eventuelle ARG, MRG, ABG, virulensgener, gener assosiert med effluks-systemer og gener involvert i biofilmdannelse. Resultatene fra helgenomsekvenseringen viste at det ble funnet MDR *P. aeruginosa* ST308, MDR *E. coli* ST131 samt en MDR *Serratia* spp. bakterie med en ny variant av *blaFONA8*-genet. Alle prøvene som ble sendt til helgenomsekvensering hadde ARG, MRG, ABG, virulensgener, gener assosiert med effluks-systemer og gener involvert i biofilmdannelse. Resistensgenene *blaTEM*, *blaCTX-M* ble påvist i *E. coli* ST131, mens *blaOXA* og *blaPDC* ble påvist i *P. aeruginosa* ST308. De tre bakterieisolatene som ble sendt til helgenomsekvensering ble også sensitivitetstestet mot ni ulike antibiotikum.

Funnene i oppgaven betraktes som urovekkende, da det både ble funnet patogene MDR-bakterier i de undersøkte vannkildene. Funnene antyder at det er nødvendig med ytterligere kartlegging av ARB og ARG i ulike vannmiljøer rundt om i Norge.

Abstract

Antibiotic resistance (AR) is a rapidly growing problem that poses a threat to public health globally, largely due to the development of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in multidrug-resistant Gram-negative bacteria. Genes encoding extended-spectrum β -lactamases can easily spread between bacteria, often located on plasmids, which is a cause for concern.

The purpose of this study was to investigate resistance mechanisms in the aquatic environment and assess the potential spread of any findings. Three water samples were collected from three different sources in Gjøvik and Nordre Follo Kommune. The samples were filtered and cultured on chromogenic plates with "Oxoid Brilliance™ ESBL" agar and "Oxoid Brilliance™ CRE" agar. DNA from the bacterial isolates of interest was then extracted and amplified using PCR. The PCR products from all the samples of interest were sent for Sanger sequencing to identify the bacterial genus of the isolates. Detection of ESBL genes was performed using multiplex and singleplex PCR, followed by agarose gel electrophoresis to confirm the presence of ESBL genes. The PCR products from bacterial isolates that indicated the presence of ESBL genes were also sent for Sanger sequencing to confirm or refute the presence of ESBL.

Three of the most interesting bacterial isolates were whole-genome sequenced to detect any antibiotic resistance genes (ARGs), metal resistance genes (MRGs), antimicrobial biocide resistance genes (ABGs), virulence genes, efflux pump-associated genes, and genes involved in biofilm formation. The results from whole-genome sequencing showed the presence of multidrug-resistant *P. aeruginosa* ST308, multidrug-resistant *E. coli* ST131, and a multidrug-resistant *Serratia* spp. with a novel variant of the blaFONA8 gene. All the samples subjected to whole-genome sequencing contained ARGs, MRGs, ABGs, virulence genes, efflux pump-associated genes, and genes involved in biofilm formation. The *E. coli* ST131 isolates were found to carry blaTEM and blaCTX-M genes, while the *P. aeruginosa* ST308 isolates carried blaOXA and blaPDC genes. The three bacterial isolates were also tested for sensitivity to nine different antibiotics.

The findings in this study are concerning, as it indicates the presence of pathogenic multidrug-resistant bacteria in the examined water sources. The results suggest the need for further investigation into antibiotic-resistant bacteria and resistance genes in various water environments across Norway.

FORKORTELSER

ABG	«Antibacterial Biocide Resistance Genes»
AFI	«Acid Fitness Island»
AIEC	«Adherent-invasive <i>Escherichia coli</i> »
AMR	«Antimicrobial Resistance»
AR	Antibiotikaresistens
ARB	Antibiotikaresistente bakterier
ARG	Antibiotikaresistente gener Citrobacter spp»
CRE	Carbapenem-resistant Enterobacterales
EAEC	«Enteraggregative <i>Escherichia coli</i> »
EHEC	«Enterohemoragisk <i>Escherichia coli</i> »
EPEC	«Enteropatogene <i>Escherichia coli</i> »
ESBL	Extended Spectrum beta-lactamases
ETEC	«Enterotoksiske <i>Escherichia coli</i> »
ExPEC	«Extraintestinal pathogenic <i>Escherichia coli</i> »
HGO	Horisontal genoverføring
ICR	«Immigration Control Region»
KESC	«Klebsiella spp., Enterobacter spp., Serratia spp., and
MDR	«Multidrug resistance»
MRG	«Metal Resistance Genes»
PAI	«Pathogenicity islands»
PCR	«Polymerase Chain Reaction»
QAC	«Quaternary Ammonium Compounds»
RND	«Resistance-nodulation-division»
SPATE	«Serine Protease Autotransporters of Enterobacteriaceae»
TA	Toksin-antitoksin
UPEC	«UroPathogenic <i>Escherichia coli</i> »
WGS	«Whole genome sequencing»

INNHOLDSFORTEGNELSE

1	INNLEDNING	1
2	BAKGRUNN	2
2.1	ANTIBIOTIKA	2
2.1.1	<i>Historisk bakgrunn</i>	2
2.1.2	<i>Klassifisering av antibiotika</i>	3
2.1.3	<i>Virkemåter for antibiotika</i>	5
2.1.4	<i>B-laktamer</i>	7
2.2	ANTIBIOTIKARESISTENS	8
2.2.1	<i>Naturlig og ervervet resistens</i>	8
2.2.2	<i>Multiresistens</i>	9
2.2.3	<i>Hvordan spres antibiotikaresistens</i>	10
2.2.4	<i>Mekanismer for antibiotikaresistens</i>	12
2.3	SYRERESISTENS	14
2.4	METALLRESISTENS	15
2.5	RESISTENS MOT DESINFEKSJONSMIDLER	16
2.6	B-LAKTAMASER	17
2.6.1	<i>CTX-M</i>	17
2.6.2	<i>TEM</i>	19
2.6.3	<i>Karbapenemaser</i>	19
2.7	<i>SERRATIA</i>	20
2.8	<i>ESCHERICHIA COLI</i>	21
2.9	<i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	22
2.10	METODISK TEORI	22
2.10.1	<i>Selektive kromogene agarskåler</i>	22
2.10.2	<i>NanoDrop™ 2000/2000C spektrofotometer og Qubit® 2.0 Fluorometer</i>	24
2.10.3	<i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	25
2.10.4	<i>Agarose gel-elektroforese</i>	27
2.10.5	<i>Sekvensering</i>	28
2.10.6	<i>Antimikrobiell sensitivitetstesting</i>	30
3	MATERIALER OG METODER	31
3.1	INNSAMLING AV VANNPRØVER FRA MILJØET	31
3.2	FILTRERING AV VANNPRØVER	32
3.3	RENDYRNING AV BAKTERIEKOLONIER	33
3.4	DNA-EKSTRAKSJON	33
3.4.1	<i>Kvantifisering og renhetsbestemmelse av isolert DNA</i>	34
3.5	SANGER-SEKVENSERING	34
3.5.1	<i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	34
3.5.2	<i>Agarose gel-elektroforese</i>	36
3.5.3	<i>Rensing av PCR-produkt</i>	36
3.5.4	<i>Klargjøring til Sanger-sekvensering</i>	37
3.5.5	<i>Dataanalyse av Sanger-sekvenseringsresultatene</i>	37
3.6	NEDFRYSING AV ANTIBIOTIKARESISTENTE BAKTERIER	38
3.7	DETEKSJON AV RESISTENSGENER	38
3.7.1	<i>Multipleks PCR</i>	38
3.7.2	<i>Singlepleks PCR</i>	40
3.8	DETEKSJON AV VIRULENS GENER	42
3.9	HELGENOMSEKVENSERING	43
3.10	SENSITIVITET MOT ANTIBAKTERIELLE MIDLER	45
4	RESULTAT	47
4.1	FENOTYPISK DETEKSJON	47
4.2	SANGER-SEKVENSERING	49
4.3	DETEKSJON AV RESISTENSGENER	50

4.3.1	Agarose gel-elektroforese av multipleks PCR-produkter.....	50
4.3.2	Agarose gel-elektroforese av singlepleks PCR-produkter.....	52
4.4	DETEKSJON AV VIRULENSGENER.....	56
4.5	HELGENOMSEKVENSERING	56
4.5.1	Screening etter viktige resistensgener	57
4.5.2	Screening etter viktige virulensgener	59
4.5.3	Screening etter antibiotikaresistens.....	62
4.5.4	Screening etter gener som koder for metallresistens.....	64
4.5.5	Screening etter gener som koder for MDR.....	66
4.5.6	Screening etter gener som koder for resistens mot syrer og desinfeksjonsmidler.....	68
4.5.7	Screening etter toksiner og antitoksiner.....	70
4.5.8	Gener involvert i dannelse av biofilm.....	73
4.5.9	Efflukspumper.....	75
4.5.10	Plasmider.....	79
4.5.11	Sammenligning av virulensfaktorer i ulike E.coli-isolater	79
4.6	SENSITIVITET MOT ANTIBAKTERIELLE MIDLER	80
5	DISKUSJON	86
5.1	FENOTYPISK DETEKSJON	86
5.2	SANGER-SEKVENSERING	88
5.3	DETEKSJON AV RESISTENSGENER VED HJELP AV AGAROSE GEL-ELEKTROFORESE OG SANGER-SEKVENSERING	90
5.4	DETEKSJON AV VIRULENSGENER VED HJELP AV AGAROSE GEL-ELEKTROFORESE	92
5.5	HELGENOMSEKVENSERING	92
5.5.1	Gener som som koder for antibiotikaresistens i bakterieprøvene	94
5.5.2	Gener som koder for virulens i bakterieprøvene	100
5.5.3	Screening etter antibiotikaresistens.....	107
5.5.4	Metallresistens.....	109
5.5.5	MDR.....	112
5.5.6	Syrer og desinfeksjon.....	113
5.5.7	Toksiner og antitoksiner.....	113
5.5.8	Gener assosiert med biofilmdannelse.....	115
5.5.9	Efflukspumper.....	116
5.5.10	Plasmider.....	117
5.5.11	Sammenligning av virulensfaktorer i ulike E. Coli-isolater	118
5.5.12	Sensitivitetstesting.....	120
5.5.13	E. Coli ST131	123
5.5.14	P. aeruginosa ST308.....	124
5.5.15	Serratia spp.....	126
5.5.16	Forslag til videre arbeid.....	127
6	KONKLUSJON.....	129
7	REFERANSER	130

1 INNLEDNING

Antimikrobielle midler er lavmolekylære forbindelser, som dreper eller hemmer veksten av mikroorganismer (Mobarki et al., 2019). Antibiotikum kan produseres naturlig av mikroorganismer som sopp og bakterier eller de kan produseres syntetisk eller semisyntetisk. Fremveksten av antibiotikaresistens har blitt assosiert med bruken av antibiotika, til tross for at enkelte bakterier er kjent for å ha hatt resistensegenskaper før antibakterielle midler ble introdusert (Davison et al., 2000). Gjennom de siste tiårene har det vært en gradvis nedgang i oppdagelse og utvikling av nye typer antibiotika, samtidig som utviklingen av resistensegenskaper hos flere menneskelige patogener har økt (Hutchings et al., 2019). Nedgangen i utviklingen av nye typer antimikrobielle midler kombinert med utviklingen og spredningen av resistensegenskaper hos patogene mikroorganismer, har ført til at antibiotikaresistens er et raskt voksende problem som truer folkehelsen i land rundt om i verden (Nesse et al., 2021; Zhang et al., 2006).

Blant store Gram-positive og Gram-negative arter som *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. og *Enterobacteriaceae* har det de siste årene dukket opp endel stammer med resistens mot flere antibiotika-klasser (Rossolini et al., 2014). Den økende graden av antibiotikaresistens som observeres hos Gram-negative patogener utgjør en alvorlig krise som snart kan komme ut av kontroll. Enkelte Gram-negative bakterier kan være resistente mot de fleste eller alle de tilgjengelige typene antibakterielle midler som finnes på markedet, noe som resulterer i at fenotypene er totalt eller ekstremt legemiddelresistente (Rossolini et al., 2014). I tillegg har det blitt observert at multiresistente Gram-negative bakterier, inkludert *Escherichia coli* som produserer utvidede spektrum β -laktamaser (ESBL), har blitt mer utbredt i samfunnet.

En av de viktigste årsakene til resistens mot utvidet spektrum β -laktam-antibiotika, er Gram-negative patogener som produserer ESBL-er. Gram-negative patogener kan enkelt spre genene som koder for utvidet spektrum β -laktamaser, ettersom de ofte finnes på plasmider og ligger i transposoner eller innsetningssekvenser (Castanheira et al., 2021). Utvidet spektrum β -laktamaser ses på som et globalt folkehelseproblem, ettersom de er endemiske i *Enterobacterales* isolert fra både sykehusassosierte og lokalsamfunnservede infeksjoner (Castanheira et al., 2021).

For å forstå hvordan naturmiljøer bidrar til økt antibiotikaresistens, har regjeringen i deres nasjonale strategi mot antibiotikaresistens for 2015-2021, presisert at kartlegging av tilstedeværelse av resistens i bakteriesamfunn i sedimenter, sjø, jord, ferskvann, husdyr og villlevende dyr er viktig (Nesse et al., 2021). Hensikten med denne masteroppgaven er å kartlegge resistensmekanismer i akvatisk ytre miljø i Gjøvik- og Nordre Follo kommune og vurdere spredningspotensialet til eventuelle funn.

2 BAKGRUNN

2.1 Antibiotika

Selman Waksman definerte et antibakterielt middel som et kjemisk stoff, produsert av en mikroorganisme, som har evnen til å drepe eller selektivt hemme veksten til andre mikroorganismer, selv i lave konsentrasjoner. Denne definisjonen inkluderer ikke syntetiske antibiotikum, og definisjonen av antibiotika ble derfor endret til molekyler som enten hemmer veksten til eller ødelegger andre mikroorganismer. De siste årene har det derimot kommet en bredere definisjon av et antibiotikum, ettersom hensikten med antibakterielle midler er å kurere infeksjoner hos mennesker. Et antibiotikum kan derfor defineres som et kjemisk stoff som har evnen til å selektivt hemme veksten av eller drepe andre mikroorganismer, og som fører til minimal skade på vertscellene (Bhattacharjee, 2022).

2.1.1 Historisk bakgrunn

På starten av 1900-tallet beviste Robert Koch og Louis Pasteur at bakterier kan forårsake sykdom, og siden da har forskere aktivt søkt etter metoder for å drepe disse patogene bakteriene (Bhattacharjee, 2022). Pasteur fant ut at bruken av apatogene bakterier kunne kurere infeksjoner som var forårsaket av patogene bakterier. Dette ble forklart ved at de apatogene bakteriene antageligvis produserte en type antibiotikum som drepte de patogene bakteriene som forårsaket sykdom. Kjemikeren Paul Ehrlich fant også ut at kjemikalier kunne benyttes for å drepe de patogene bakteriene, og denne oppdagelsen ga opphav til moderne kjemoterapi (Bhattacharjee, 2022).

Det er imidlertid oppdagelsen av penicillin, gjort av Alexander Fleming i 1928, som markerer begynnelsen på antibiotika-revolusjonen. Penicillin G var det første penicillinet som ble

renset, og dette ble blant annet gjort av Ernst Chain, Norman Heatley og Howard Florey i 1942 (Adedeji, 2016; Hutchings et al., 2019). I 1945 ble penicillin G gjort tilgjengelig for mennesker utenfor det allierte militæret, og innføringen av antibakterielle midler til klinisk bruk regnes som det største medisinske gjennombruddet på 1900-tallet (Adedeji, 2016; Hutchings et al., 2019). I tillegg til å bekjempe infeksjoner, har antibiotikum gjort det mulig å utføre en rekke moderne medisinske prosedyrer, som blant annet inkluderer organtransplantasjon, kreftbehandling og åpen hjertekirurgi (Hutchings et al., 2019).

Den økte tilgjengeligheten på penicillin G markerte begynnelsen på gullalderen for oppdagelsen av nye typer antibakterielle midler. I løpet av gullalderen, som varte fra 1940- til 1970-tallet, ble det nesten årlig oppdaget nye klasser av antibiotika ved isolering av jordprøver som inneholdt mikroorganismer som var antatt å produsere antibiotika (Adedeji, 2016; Hutchings et al., 2019). Siden den gang har ikke nye klasser av antibiotika blitt oppdaget, og utviklingen av nye typer antibiotika i senere tid baserer seg hovedsakelig på modifisering av allerede eksisterende antibiotikum (Adedeji, 2016).

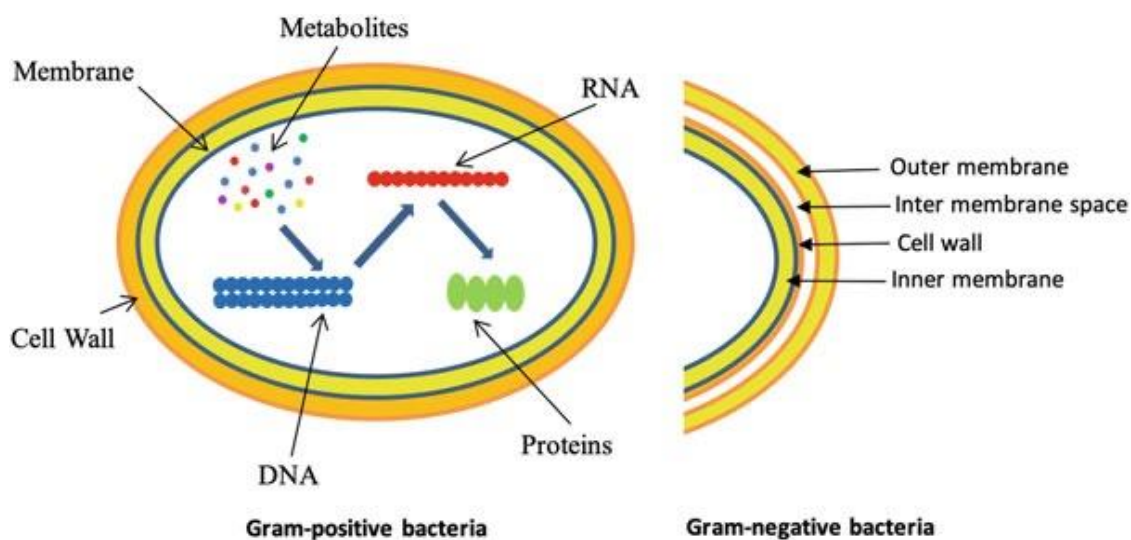
De fleste antibakterielle midlene som ble oppdaget under gullalderen benyttes fortsatt klinisk, men på grunn av økt antibiotikaresistens har de ulike typene antibiotika blitt mindre effektive. Den forholdsvis enkle og raske oppdagelsen av flere klasser av naturprodukt-antibiotikum, innenfor en relativt kort tidsperiode, førte til en overdreven bruk av disse typene antibiotika. Disse faktorene, kombinert med en svekket utvikling av nye typer antibiotika-klasser fra 1970-tallet og fremover, har resultert i dagens situasjon hvor det er få nye antibiotikum i den kliniske utprøvningsfasen. Som et resultat av dette, er de fleste antibakterielle midlene som testes i kliniske forsøk, derivater av kjente natur- eller syntetiske antibiotika-klasser, i stedet for helt nye klasser av antibiotika (Hutchings et al., 2019).

2.1.2 Klassifisering av antibiotika

Antibakterielle midler kan klassifiseres på flere måter, avhengig av hvilke mikroorganismer de er effektive mot eller hvilke egenskaper de innehar. Å klassifisere antibiotika ut ifra deres virkningsspekter mot enkelte mikroorganismer er en vanlig metode og inkluderer eksempelvis de som virker spesifikt mot methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) og vancomycin-resistente *Enterococcus* (Livrelli et al.). Ulempen med å klassifisere antibakterielle midler ut fra hvilke mikroorganismer de er effektive mot, er at flere antibiotika ofte er effektive mot flere typer mikrobiota (Bhattacharjee, 2022).

Antibiotika kan også klassifiseres ut ifra deres kjemiske strukturer. Denne klassifiseringen fører til dannelse av en rekke ulike antibiotika-klasser, som for eksempel β -laktamer, aminoglykosider, tetracycliner, makrolider, kinoloner, sulfonamider og en rekke andre klasser. Klassen β -laktamer inkluderer flere underklasser som kefalosporiner, monobaktamer, karbapenemer og penicilliner. En ulempe med å klassifisere antibiotikum basert på deres kjemiske struktur, er at det finnes enkelte typer antibiotika som ikke passer inn i disse klassene, og dermed er en egen klasse for seg selv (Bhattacharjee, 2022). I denne masteroppgaven er det denne klassifiseringen som blir benyttet videre.

Å klassifisere antibiotikum på bakgrunn av deres virkningsmekanisme, er også en mye brukt metode. Det finnes både fordeler og ulemper ved å klassifisere antibakterielle midler på denne måten. Metoden gir en bedre forståelse av antibiotikas kjemi, men samtidig kan enkelte antibiotikum ha flere relaterte eller urelaterte virkningsmekanismer, eller at mekanismen er misforstått eller ukjent. Kunnskapen om virkningsmekanismene til de ulike antibakterielle midlene kan endre seg over tid, og det kan derfor hende at klassifiseringen av enkelte antibiotikum må endres. Nitrofuraner og triklosan er eksempler på slike antibiotikum (Bhattacharjee, 2022). De forskjellige antibakterielle midlene kan deles inn i seks hovedgrupper: de som inhiberer bakteriell celleveggsyntese, de som hindrer syntesen av essensielle metabolitter, de som forstyrrer cellemembranen, de som inhiberer RNA-syntese, de som hemmer DNA-syntese og de som hindre proteinsyntese (Bhattacharjee, 2022). Figur 1 viser de ulike målene i en bakteriecelle som kan påvirkes av antibiotika tilhørende de seks forskjellige gruppene av antibiotika.



Figur 1. De seks målene i en bakteriecelle som påvirkes av de seks hovedklassene av antibakterielle midler (Bhattacharjee, 2022).

2.1.3 Virkemåter for antibiotika

2.1.3.1 Inhibering av bakteriell celleveggsyntese

Bakterieceller er omringet av en cellevegg som hovedsakelig består av peptidoglykan (Bhattacharjee, 2022; Kapoor et al., 2017). Syntesen av bakteriers cellevegg kan deles inn i tre steg, og det behøves en rekke enzymer for å katalysere disse reaksjonene. Antibiotikum som hemmer syntesen av celleveggen hos bakterier, vil binde seg til enzymer som er helt nødvendige for syntesen av celleveggen, og dermed hindre syntesen. Eksempelvis vil β -laktam-antibiotika, som penicillin og ampicillin, binde seg til penicillin-bindende proteiner (PBP) på grunn av β -laktam-ringen, som forårsaker at de penicillin-bindende proteinene er utilgjengelige for syntese av ny peptidoglykan. Dette vil føre til at bakteriene dør, ettersom vann trenger inn i bakterien som gjør at den sprekker (Bhattacharjee, 2022; Kapoor et al., 2017; Liabø, 2021).

2.1.3.2 Hindring av proteinsyntese

Cytoplasmatiske faktorer og ribosomer katalyserer proteinsyntesen hos bakterier (Kapoor et al., 2017). De to ribonukleoprotein-subenhetene, 30S og 50S, utgjør 70S-ribosomet hos bakterier, og det er disse to subenhetene antibiotikum binder seg til når translasjonen hos bakterier hemmes. Tetracycliner vil for eksempel hindre bindingen av t-RNA til A-setet, ved å virke på de bevarte 16S-rRNA-sekvensene på 30S-subenheten. Makrolider, som

eksempelvis erythromycin, hindrer proteinsyntese ved at antibiotikumet binder seg til 23S rRNA i 50S-subenheten. Dette fører til at veien hvor voksende peptider benytte for å forlate ribosomet blir blokkert. Som et resultat av denne veien blokkeres, vil peptidyl-tRNA-molekylene separeres fra ribosomene under translasjonen. Under proteinsyntesen er peptidyl-tRNA er ansvarlig for å legge til nye aminosyrer til den voksende peptidkjeden. Når peptidyl-tRNA-molekylene er dissosiert fra ribosomene, vil ikke peptidkjeden lengre bli forlenget, noe som resulterer i at proteinsyntesen stopper opp (Bhattacharjee, 2022).

2.1.3.3 Hemming av DNA-syntese

Hemming av DNA-replikasjon hos bakterier kan forårsakes på minst to ulike måter; enkelte antibiotika kan hemme selve DNA-syntesen, mens andre antibiotikum spalter DNA og dermed hindrer syntetisering av nytt DNA (Bhattacharjee, 2022). Kinoloner og fluorokinoloner, som eksempelvis nalidixinsyre og ciprofolxacine, er meget effektive bredspektrede antibiotikum som hindrer DNA-syntese ved å hemme enzymet DNA-gyrase (Bhattacharjee, 2022; Kapoor et al., 2017). Nitroimidazoler og nitrofuraner er derimot eksempler på antibiotika-klasser som hemmer replikasjonen for å syntetisere nytt DNA ved å spalte allerede eksisterende DNA. Virkningsmekanismen til nitrofuraner, som eksempelvis nitrofurantoin, er enda ikke helt avklart (Bhattacharjee, 2022).

2.1.3.4 Inhibering av RNA-syntese

Rifamyciner, så vel som alle de andre medlemmene av denne gruppen, virker ved hemming av RNA-syntese. Antibakteriell effekt oppstår med en sterk bindingen til den DNA-avhengige RNA-polymerasen hos prokaryoter. Inhiberingen av RNA-syntesen antas å være relatert til initieringsfasen av prosessen og å involvere stablingsinteraksjoner mellom naftalenringen og den aromatiske delen av polymerasen (Bhattacharjee, 2022).

2.1.3.5 Hindring av essensielle metabolitter

Hos enkelte typer antibakterielle midler kan reaksjoner for syntese av metabolitter, som eksempelvis nukleotider som er nødvendig for både RNA- og DNA-syntese, være mulige mål. Antibiotikum som hemmer syntesen av slike metabolitter kalles også antimetabolitter, og er en type forbindelse som har lignende struktur til en spesifikk metabolitt. Disse antimetabolittene kan forstyrre den normale metabolismen knyttet til disse metabolittene på to forskjellige måter, ettersom antimetabolittene fungerer ved å binde seg til det aktive setet på

et enzym som katalyserer en reaksjon med substratet. Antimetabolitten kan enten fungere som en konkurrerende inhibitor av enzymet som vil bremse prosessen, eller så kan antimetabolitten fungere som et substrat og danne et produkt, gitt at likheten mellom antimetabolitten og metabolitten er signifikant. Dersom antimetabolitten fungerer som et substrat og danner et produkt, vil produktet derimot ikke være i stand til å fungere som et substrat i det neste trinnet i den metabolske veien. Eksempler på slike antibiotika inkluderer sulfonamider, trimetoprim, para-aminosalisylsyre, dapson og fluorouracil (Bhattacharjee, 2022).

2.1.3.6 Forstyrrelse av cellemembranen

For at mikroorganismer skal kunne overleve, er opprettholdelse av den korrekte strukturen til cellemembranen avgjørende. Samtlige kjemiske midler og prosesser som har potensialet til å forstyrre membranstrukturen i en celle, vil kunne være giftig for cellen og kan derfor benyttes for å drepe mikroorganismen. For å drepe cellene, er ikke nødvendig med en fullstendig forstyrrelse av membranen. Selv små forstyrrelser kan øke permeabiliteten i membranen og dermed forstyrre de ulike konsentrasjonsgradientene gjennom «hullene» som dannes i membranen. Polymyxiner og colistin er eksempler på antibiotikum som forstyrrer cellemembranen i bakterier (Bhattacharjee, 2022).

2.1.4 Beta-laktamer

β -laktamer er en klasse av antibiotika som virker bakteriedrepende (baktericid) i Gram-negative og Gram-positive bakterier ved å hemme celleveggsyntesen (Balsalobre et al., 2019; Bhattacharjee, 2022). B-laktamer har en avgjørende rolle i behandlinger av bakterielle infeksjoner, og utgjør omtrent 55% av all antibiotikabruk globalt, noe som gjør antibiotika-klassen til den mest brukte. β -laktamer inkluderer penicilliner, kefalosporiner, monobaktamer og karbapenemer (Bhattacharjee, 2022; Huttner et al., 2015).

B-laktamer har en karakteristisk langsom, tidsavhengig bakteriedrepende effekt. Antibiotikum tilhørende denne klassen distribueres generelt godt i kroppen, som gjør at de kan nå infeksjonsstedene svært effektivt. I tillegg har de lav toksisitet, som bidrar til at de er sikre å bruke i behandling av infeksjoner hos mennesker. Nye forbindelser med utvidet antimikrobielt spekter og økt aktivitet mot en rekke bakterier har blitt utviklet gjennom modifikasjoner av det opprinnelige β -laktam-molekylet. Utviklingen av disse β -laktam-

derivatene har bidratt til å bekjempe infeksjoner som tidligere var vanskelige å behandle (Suarez & Gudiol, 2009).

I enkelte kliniske sammenhenger kan bruken og effekten av β -laktamer derimot være begrenset, ettersom det observeres en økende vekst av antibiotikaresistens mot denne klassen av antibiotika. Til tross for økt antibiotikaresistens, forblir penicillin den foretrukne behandlingen for en rekke infeksjoner. Karbapenemer er spesielt nyttig ved infeksjoner som er ervervet på sykehus og ved infeksjoner forårsaket av multiresistente mikroorganismer (Suarez & Gudiol, 2009). Økt antimikrobiell resistens mot β -laktamer er en konsekvens av den utbredte bruken av disse antibiotikaene (Balsalobre et al., 2019).

β -laktamer virker ved at β -laktamringen interagerer med penicillin-bindende protein (PBP), som fører til at nytt peptidoglykan i bakteriens cellevegg ikke kan dannes, ettersom PBP-ene blir utilgjengelige for D-alanyl D-alanin. Det antas at β -laktamringen har lignende struktur som D-alanyl D-alanin-delen av peptidkjeden, som er den delen som normalt bindes til PBP. Når PBP bindes til β -laktamringen istedenfor D-alanyl D-alanin svekkes bakteriens celleveggsyntese som kan føre til at bakterien lyserer og dør (Kapoor et al., 2017).

2.2 Antibiotikaresistens

Antibiotikaresistens utgjør en alvorlig global trussel som er svært bekymringsverdig, ettersom antimikrobiell resistens påvirker både menneskers, dyrs og miljøet helse. Økt resistens mot antibiotikum skyldes både økt global migrasjon, økt bruk av antibiotika, dårlige sanitærforhold, overbefolkning, dårlig kloakksystemer og spredning av dyreliv. Det er fremveksten, spredningen og persistens av multiresistente bakterier, eller såkalte superbugs, som er det mest alarmerende med den verdensomfattende utfordringen (Aslam et al., 2018).

2.2.1 Naturlig og ervervet resistens

Før mennesker begynte å produsere antibiotika for forebygging og behandling av smittsomme infeksjoner, hadde flere bakteriearter allerede utviklet evnen til å tåle enkelte typer antibiotikum. For å få innsikt i hvilke resistensmekanismer som var utbredt før bruken og utviklingen av antibakterielle midler eksploderte, kan isolerte huler, permafrostkjerner samt andre områder og prøver, som ikke har blitt bakterielt forurenset av mennesker, undersøkes (Larsson & Flach, 2022).

De fleste mikroorganismer produserer sekundære metabolitter, som har lignende kjemisk form som flere av antibiotikaene som benyttes som legemidler i dag. I tillegg konkurrerer stadig flere mikroorganismer om næringsstoffer og andre ressurser for å overleve. Begge disse to aspektene er to vesentlige pådrivere for den gamle og fortsatt pågående utviklingen av resistensmekanismer. Forutsetningene for utviklingen og spredningen av antibiotikaresistens ble drastisk endret da antibiotikum ble innført som klinisk middel. Innføringen ga mikroorganismer et enestående seleksjonspress, som spesielt påvirket både mikroorganismene som inngår i mikrobiotaen til mennesker og dyr, men også mikroorganismene som finnes i miljøer som er sterkt forurenset med antibiotika. Det store seleksjonspresset har ført til økt mobilisering og horisontal overføring av et bredt spekter av gener for antibiotikaresistens til mange forskjellige bakteriearter, og da spesielt til de som er patogene (Larsson & Flach, 2022).

Resistens mot antibiotikum hos bakterier kan derfor være av to typer; iboende resistens eller ervervet resistens. Iboende resistens refererer til tilstanden hvor enkelte bakterier er naturlig resistente mot noen typer antibiotikum på grunn av deres strukturelle eller funksjonelle egenskaper, uten at de har blitt eksponert for den typen antibiotikum tidligere. Eksempelvis er Gram-negative bakterier naturlig resistente mot vankomycin, ettersom størrelsen på molekylet er for stort til å trenge gjennom den ytre membranen. For å bli aktivert krever antibiotikumet metronidazol et anaerobt miljø, og derfor vil alle aerobe bakterier inneha iboende resistens mot metronidazol (Bhattacharjee, 2022)

I en populasjon av bakterier som er følsomme for antibiotikum, kan enkelte bakterieceller utvikle evnen til å være resistente mot noen typer antibiotika. I motsetning til iboende resistens, som observeres i alle bakterieceller av en art, kan ervervet resistens observeres i en bakteriecelle innad i en art, til tross for at andre bakterieceller av samme art ikke er resistente. Bakterieceller kan erverve resistens ved overføring av genetisk materiale fra andre bakterier, av samme eller en annen art eller via mutasjoner (Bhattacharjee, 2022; MacGowan & Macnaughton, 2017).

2.2.2 Multiresistens

Gram-positive og Gram-negative bakterier klassifiseres som multiresistente når de er resistente mot tre eller flere klasser av antibiotika (Magiorakos et al., 2012). De siste tiårene

har fremveksten av resistens mot flere typer antibiotikum hos patogene bakterier blitt en alvorlig utfordring for folkehelsen globalt. Infeksjoner som forårsakes av multiresistente patogene bakterier resulterer i økt pasientdødelighet og sykdomsbyrde. De medisinske fremskrittene som antibiotika har muliggjort de siste 70 årene trues av den stadig økende resistensen mot antibakterielle midler. Verdens helseorganisasjon (WHO) har identifisert multiresistente bakterier som en av de tre største truslene mot menneskers helse (Worthington & Melander, 2013).

2.2.3 Hvordan spres antibiotikaresistens

Resistens mot antibakterielle midler kan som nevnt være iboende eller ervervet, noe som er karakteristikk for hver enkelt bakterie, og som avhenger av biologien til den spesifikke bakterien (Giedraitienė et al., 2011). Følsomme bakterier kan erverve resistens når de får tilgang til gener som koder for antimikrobiell resistens gjennom horisontal genoverføring eller mutasjon (MacGowan & Macnaughton, 2017). Ervervet resistens kan enten oppnås gjennom anskaffelse av eksogene gener via plasmider, transposoner, integroner og bakteriofager, gjennom mutasjoner av cellulære gener eller gjennom en kombinasjon av en eller flere av disse mekanismene (Giedraitienė et al., 2011).

2.2.3.1 Mutasjoner

Mutasjoner defineres som enhver forandring som skjer i en organismes arvemateriale (Fitzgerald & Rosenberg, 2019; Martinsen & Brøgger, 2021). Mutasjoner skjer naturlig, og kan være enkelt basepar-endringer eller større endringer som inkluderer flere basepar. Sekvensen i en organismes genom kan eksempelvis endres ved sletting eller innsetting av en eller flere baser, inversjoner eller dupliseringer (Fitzgerald & Rosenberg, 2019).

Enkelte mutasjoner kan føre til antibiotikaresistens, og disse mutasjonene forekommer for det meste i tre typer gener. Mutasjonene kan forekomme i genet som koder for målet til antibiotikumet, genet som koder for transportørene til antibiotikumet og i genet som koder for reguleterene som kan undertrykke uttrykket av transportører eller antibiotikadekontaminerende elementer (Martinez, 2014). Eventuelle mutasjoner som skjer i disse genene vil bidra til erverving av antibiotikaresistens, men de muterte genene vil i seg selv ikke være resistensgener. Eksempelvis kan en mutasjon føre til inaktivering av genet som koder for målet til antibiotikumet, som medfører at det antibakterielle middelet blir ineffektivt (Martinez, 2014). Til tross for at mutasjonen forårsaker at antibiotikumet blir mindre

effektivt, vil ikke det muterte genet i seg selv klassifiseres som et resistensgen (Martinez, 2014). Mutasjoner kan også bidra til antibiotikaresistens ved at regulering av regulatoriske nettverk fører til globale endringer i viktige metabolske veier (Munita & Arias, 2016)

2.2.3.2 *Horisontal genoverføring*

Med horisontal genoverføring (HGO) menes overføring av DNA mellom bakterier, som gjør det mulig for dem å tilegne seg nye egenskaper som er unike fra de arvede egenskapene (Hotopp, 2011). Horisontal genoverføring er den mekanismen som bidrar mest til spredningen av ARG mellom bakterier (De la Cruz & Davies, 2000). Det er tre mekanismer for horisontal genoverføring i bakterier som er beskrevet; konjugasjon, transduksjon og transformasjon.

2.2.3.2.1 Konjugasjon

Ved konjugasjon blir mobile genetiske elementer overført mellom bakterier ved hjelp av en pilus (Graf et al., 2019; Thomas & Nielsen, 2005). Konjugasjon er medvirkende til spredningen av antibiotikaresistens blant bakterier, og er den mest problematiske mekanismen for spredning av antimikrobiell resistens i patogener. Mekanismen regnes som problematisk, ettersom de fleste resistensgenene finnes på mobile genetiske elementer (Graf et al., 2019). Overføringen av DNA kan enten formidles av et plasmid, eller gjennom konjugative transposoner. Plasmidene kan være selvoverførbare, mobiliserbare eller være integrert i kromosomet, mens de konjugative transposonene koder for proteiner som blant annet kreves for deres eksisjon fra donorkromosonet, dannelsen av en konjugativ bro og transposisjon inn i mottakerbakterien. Konjugasjon gjør det mulig for forskjellige domener, som eksempelvis bakterier og planter, å utveksle genetisk materiale, forutsatt at domenene er i fysisk kontakt med hverandre (Dutta & Pan, 2002).

2.2.3.2.2 Transduksjon

Ved transduksjon blir bakterielt DNA overført fra en bakteriofag-infisert bakterie over til en bakteriofag-mottakelig bakterie (Thomas & Nielsen, 2005). En bakteriofag er et bakterievirus som replikeres i bakteriecellen, før det kan inkorporere en del av bakterielt DNA i den sammensatte viruspartikkelen. Når viruset da infiserer en ny bakterie, vil en bit av den forrige bakteriens DNA overføres til den nye infiserte bakteriecellen (MacGowan & Macnaughton, 2017). Dette skjer som følger av at bakteriofagen får med seg for mye DNA fra den første bakterien, og dermed kan få med seg og spre resistensgener eller shiga-toksingener for eksempel. For å beskytte vertskromosomet mot nedbrytning av vertstreksjons-

endonukleaser, kan bakteriofag kodede proteiner fremme integreringen av den overførte sekvensen i vertskromosomet (Dutta & Pan, 2002).

2.2.3.2.3 Transformasjon

Ved transformasjon tar bakterier opp nakent DNA fra miljøet (MacGowan & Macnaughton, 2017). Denne mekanismen gjør det mulig å overføre DNA mellom to mikroorganismer, som kan være nært beslektet, forutsatt at de er til stede på samme sted til samme tid (Dutta & Pan, 2002).

2.2.4 Mekanismer for antibiotikaresistens

Det finnes fire grunnleggende mekanismer, som mikroorganismer kan benytte seg av, for å motstå virkningen av ulike typer antibiotikum. Mikroorganismer kan beskytte seg selv mot antibiotika ved å inaktivere antibiotikumet, begrense opptaket av det antibakterielle middelet, benytte seg av effluks-pumper, eller ved å endre og/eller beskytte målet til antibiotikumet (Lambert, 2002; Martinez, 2014; Munita & Arias, 2016). Resistens mot antibiotika kan også oppnås dersom det oppstår globale endringer i viktige metabolske veier (Munita & Arias, 2016)

2.2.4.1 *Inaktivering av antibakterielle midler*

Inaktivering av antibiotikum skjer hovedsakelig av de tre enzymene; β -laktamaser, kloramfenikol-acetyltransferaser og aminoglykosid-modifiserende enzymer. β -laktamaser inaktiverer nesten alle β -laktamer med ester- og amidbinding ved å hydrolysere β -laktamringen hos β -laktam-antibiotika (Giedraitienė et al., 2011; Hoffman, 2001; Liabø, 2021).

Transferaser er en fellesbetegnelse på gruppen av enzymer som inaktiverer aminoglykosider, kloramfenikol, streptogramin, makrolider eller rifampicin (Giedraitienė et al., 2011). Denne gruppen med enzymer inaktiverer antibiotika ved selektiv acetylering eller fosforylering (Hoffman, 2001). I prosessen med å transportere antibiotika-molekylet over den cytoplasmatiske membranen, blir fosforyl-, adenylyl- eller acetylgrupper bundet til periferien av antibiotikamolekylet, noe som fører til inaktivering (Giedraitienė et al., 2011).

2.2.4.2 *Effluks-pumper*

Effluks-pumper er membranproteiner som er involvert i ekstrudering av ulike substrater fra det indre cellulære miljøet til det ytre miljøet (Sharma et al., 2019). Antibiotika-molekyler kan

derfor transporteres ut av cellen ved hjelp av effluks-pumper, i tillegg til at effluks-pumpene vil opprettholde sine lave intracellulære konsentrasjoner (Giedraitienė et al., 2011).

Siden 1990-tallet, da den første legemiddel-resistente effluks-pumpen ble oppdaget, har flere effluks-pumper og effluks-systemer blitt karakterisert i både Gram-positive bakterier og Gram-negative bakterier (Sharma et al., 2019). Effluks-pumper er ofte iboende, i motsetning til andre faktorer som påvirker forekomsten av antibiotikaresistens. Genene som koder for disse transportørene finnes både i resistente og følsomme bakterier, og er ofte en del av en operon, hvor uttrykket reguleres på transkripsjonsnivå. Mutasjoner i promotorene eller i de regulatoriske proteinene, vil kunne føre til overekspressjon av effluks-pumpene, noe som kan resultere i legemiddelresistens (Sharma et al., 2019).

Bakterielle effluks-systemer kan enten være generelle, og eksportere flere klasser av antibiotikum ut av cellen, eller de kan være spesifikke, og dermed bare transportere en eller en enkel antibiotika-klasse ut av cellen. Effluks-systemene som har mulighet til å transportere flere antibiotika-klasser ut av cellen, blir betegnet som MDR-effluks-pumper (Sharma et al., 2019).

2.2.4.3 Redusert opptak av antibakterielle midler

De fleste antibiotika har intracellulære bakterielle mål, som i Gram-negative bakterier, er lokalisert i den indre cytoplasmatiske membranen (Munita & Arias, 2016). Spesifikke effluks-systemer eksporterer substratene sine over cellens cytoplasmatiske membran. MDR-effluks-pumper derimot, transporterer substratene sine over cellekonvoluttene, som består av den indre cytoplasmatiske membranen, periplasmaen og en ytre membran, ved hjelp av en periplasmisk membransynteseprotein-komponent og en ytre membranprotein-komponent (Giedraitienė et al., 2011; Nikaido, 2009; Ruiz et al., 2009). For at antibiotikumet skal ha en effekt, er molekylet derfor nødt til å trenge gjennom den ytre membranen og/eller den cytoplasmatiske membranen (Munita & Arias, 2016). Enkelte bakterier har derfor utviklet mekanismer som fører til redusert ytre membran permeabilitet. Redusert ytre membran permeabilitet vil føre til redusert opptak av antibakterielle midler, ettersom membranen har redusert evne til å la substrater, som eksempelvis et antibiotika-molekyl, passere gjennom den (Giedraitienė et al., 2011; Munita & Arias, 2016). Antibiotika-molekylet vil da ikke kunne binde til sitt intracellulære eller periplasmatiske mål, og opptaket av antibiotikumet vil derfor reduseres (Munita & Arias, 2016).

2.2.4.4 *Endring av mål*

Interaksjonen et antibakterielt middel har til målmolekylet er svært spesifikt, og små endringer i målmolekylet kan derfor påvirke antibiotikumets binding til målmolekylet (Giedraitienė et al., 2011). For å unngå virkningen av antibiotika, har derfor flere bakterier utviklet ulike mekanismer som forstyrrer målmolekylet til antibiotikumet, som fører til antimikrobiell resistens. Bakteriene kan eksempelvis beskytte målmolekylet og dermed hindre at antibiotikumet når bindingsstedet sitt, eller de kan modifisere målmolekylet, slik at affiniteten for antibiotika-molekylet reduseres. I patogene bakterier, er modifikasjon av målmolekylet, en av de vanligste mekanismene for å oppnå antimikrobiell resistens. Mekanismen påvirker nesten alle antibiotika-klasser, og består av flere typer modifikasjoner, for å oppnå en endring av målmolekylet. Endringene av målmolekylet kan forårsakes av enzymatiske endringer av bindingsstedet, punktmutasjoner i genene som koder for målmolekylet og/eller erstatning av målmolekylet. Uavhengig av hvilken endring som forårsaker en modifikasjon av målmolekylet, vil resultatet alltid være redusert affinitet for antibiotikumet (Munita & Arias, 2016).

2.2.4.5 *Resistens forårsaket av globale endringer i cellen*

I løpet av evolusjonen har mikroorganismer utviklet avanserte mekanismer for å håndtere ytre påkjenninger og stress fra omgivelsene. For å unngå forstyrrelser av sentrale cellulære prosesser i cellen, som eksempelvis celleveggsyntese, har flere patogene bakterier utviklet svært sofistikerte mekanismer. Eksempler på denne type mekanisme, som er forårsaket av globale endringer i cellen, er resistens mot daptomycin og vancomycin (Munita & Arias, 2016).

2.3 Syreresistens

Bakteriers vekst påvirkes av flere ugunstige miljøer, som eksempelvis syrer, tungmetaller, varme, kulde og organiske reagenser, hvor syrer er en stressfaktor bakterier ofre møter på (Xu et al., 2023). I ulike sure miljøer har syreproduserende og syretolerante bakterier utviklet flere mekanismer for å overleve. De ulike mekanismene er viktige for å beskytte cellene mot skader induert av syrestress, som blant annet kan oppstå på overflaten av menneskets magesekk og ved industriell produksjon av sure produkter. Biofilmdannelse, dannelse av en beskyttende sky av ammoniakk, høy cytoplasmisk urease-aktivitet, beskyttelse eller

reparasjon av makromolekyler, glutamat-dekarboksylase-systemer eller protonpumping ved hjelp av F1-F0-ATPase er noen vanlige mekanismer for syreressistens hos bakterier (Liu et al., 2015).

2.4 Metallresistens

Metaller er elementer som naturlig finnes i jord, hvorav enkelte metaller er sporstoffer som er essensielle for bakterier, da de fungerer som kofaktorer for enkelte enzymer. For å vokse er disse metallforbindelsene avgjørende, men i for høye konsentrasjoner kan de være giftige for dem. I jordsmonnet varierer konsentrasjonene av de ulike metallene, og gjennom tidene har derfor bakterier utviklet mekanismer for å motstå deres skadelige virkning (Argudín et al., 2019).

Ulike metoder har blitt benyttet for å studere genene som koder for metallresistens i miljøbakterier. Studiene hvor disse metodene har blitt brukt har avdekket et rikt mangfold av resistensgener i miljøet, blant annet hos *Acinetobacter* spp. isolert fra permafrosten. Dette funnet tyder på at disse resistensgenene har eksistert og utviklet seg over lang tid. For å tilpasse seg eksponeringen for metaller, har bakterier ervervet en rekke gener som koder for resistens mot metaller gjennom både vertikal evolusjon (Whiteley et al.) og horisontal genoverføring (Argudín et al., 2019).

Metallresistens hos patogene bakterier kan være problematisk, ettersom tungmetaller, som eksempelvis kobber, arsen, sink, sølv og kvikksølv, i flere tiår har blitt anvendt som antimikrobielle midler innen human- og veterinærmedisin. I kliniske omgivelser har i tillegg sølv og kvikksølv blitt benyttet som desinfeksjonsmidler, mens kobber benyttes som vekstfremmer og for kontroll av diaré hos fjørfe. Bruken av metaller innen humanmedisin kan øke i løpet av de neste årene, ettersom det pågår nyutvikling innen bruk av metallnanopartikler (Argudín et al., 2019).

Det observeres en økende trend i husdyrmiljøet, hvor enkelte fremmer bruken av metaller som en trygg erstatning for antibiotikum. Imidlertid har det vært kjent i flere år at det eksisterer en kobling mellom resistens mot metaller og antibiotika, også kjent som koresistens, på et genetisk nivå. På plasmider observeres ofte gener som er involvert i resistens mot enkelte metaller sammen med gener som koder for resistens mot antibiotika. Det er rapportert funn av

koresistente plasmider i bakterier isolert fra både husdyr, mennesker og matvarer av animalsk opprinnelse (Argudín et al., 2019).

Kromosomale gener for metallresistens gir flere muligheter for indirekte koseleksjon av antibiotikaresistens. Et eksempel på dette er den nylige identifiseringen av sinkresistens hos husdyr-assosierte meticillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA). Kryssresistens, co-regulering og biofilmdannelse er mekanismer som kan formidle koseleksjon av antibiotika og tungmetaller. Koseleksjonen av gener som forårsaker metallresistens og antibiotikaresistens kan utgjøre en trussel for folkehelsen, og er derfor nødvendig å undersøke nærmere (Argudín et al., 2019).

2.5 Resistens mot desinfeksjonsmidler

I forhold til menneskers helse og miljøets tilstand har desinfeksjonsmidler en avgjørende rolle, ettersom desinfeksjonsmidler kan benyttes innen helsevesen, landbruk, medisin, næringsmiddel og behandling av drikkevann (Tong et al., 2021). Desinfeksjonsmidler kan deles inn i seks hovedklasser; peroksider, klor, fenoler, jodoforer, kvaternære ammoniumforbindelser (QAC) og glutaraldehyd. Flere rapporter har vist at bakterier kan utvikle resistens mot hver av disse klassene av desinfeksjonsmidler (Chapman, 2003).

Når høye konsentrasjoner av desinfeksjonsmidler benyttes, er det svært vanskelig for bakterier å utvikle resistens, og dermed overvinne det raske angrepet (Chapman, 2003). Ved bruk av desinfeksjonsmidler med lav konsentrasjon, får bakterier tid til å utvikle resistensmekanismer mot det aktuelle desinfeksjonsmiddelet. Bakteriene kan oppnå resistens via mutasjoner, ekspresjon av tidligere tause gener, horisontal genoverføring eller ved å vokse i en biofilm (Chapman, 2003).

Resistens mot kvaternære ammoniumforbindelser (QAC) er en av de mekanismene som er mest studert i bakterier. Det har blitt rapportert funn av QAC-resistente bakterier i helsetjenester og i næringsmiddelindustrien. Gjennom flere studier har det blitt oppdaget at de fleste bakteriene som er resistente mot QAC, oppnår resistens ved at de innehar gener som koder for efflukspumper. I enkelte kliniske isolater har gener som koder for resistens mot QAC, som eksempelvis *qacA* og *qacB*, blitt funnet på plasmider som også bærer gener som koder for β -laktamaser og resistens mot tungmetaller (Chapman, 2003). Resistens mot

desinfeksjonsmidler og desinfiseringsmidler anses som en trussel, da det kan påvirke både menneskers helse og gi økonomiske konsekvenser (Chapman, 2003).

2.6 Beta-laktamaser

β -laktamer er den mest forskrevne klassen av antibiotikum og spiller en viktig rolle i behandlingen av bakterielle infeksjoner. Den omfattende bruken av β -laktamer har ført til at bakterier har utviklet resistens mot denne klassen av antibiotika, samt at spredningen av disse resistensgenene har økt. For å beskytte seg mot β -laktamer har både Gram-negative og Gram-positive bakterier utviklet evnen til å produsere β -laktamaser, som er enzymer som kan hydrolysere amidbindingen på β -laktam-ringen hos β -laktamer.

β -laktamaser finnes ofte på plasmider eller andre mobile genetiske elementer, som gjør at de enkelt kan spres mellom opportunistiske patogener som eksempelvis tilhører familien Enterobacteriaceae. I tillegg har β -laktamaser god tilpasningsevne og har derfor mulighet til å utvide sitt aktivitetsspekter når nye substrater introduseres i klinisk bruk. Ervervelse av punktmutasjoner har resultert i at resistensgenene *bla*TEM og *bla*SHV har utviklet evnen til å hydrolysere kefalosporiner, som eksempelvis cefotaxime. Dette har ført til dannelsen av den såkalte "utvidet spektrum" fenotypen, kjent som «extended-spectrum β -lactamases» (Tooke et al., 2019). Produksjonen av β -laktamaser med utvidet spektrum hos bakterier truer behandlingen av infeksjoner forårsaket av Enterobacteriaceae og ikke-fermenterende opportunistiske bakterier, som eksempelvis *Pseudomonas aeruginosa* (Folkehelseinstituttet, 2010; Tooke et al., 2019).

β -laktamaser kan deles inn i fire klasser; Klasse A, C og D som inkluderer de serineaktive β -laktamasene og klasse B som inkluderer de sinkavhengige eller metall- β -laktamasene. Enzymene tilhørende klasse A utgjør de mest utbredte og grundig studerte β -laktamasene, og omfatter viktige enzymer som PC1, *bla*TEM, *bla*CTX-M og *bla*KPC (Tooke et al., 2019).

2.6.1 CTX-M

På slutten av 1980-tallet ble de første CTX-M β -laktamasene beskrevet, samtidig som de ble oppdaget på flere forskjellige steder (Castanheira et al., 2021). CTX-M, også kalt cefotaximase, er et enzym som naturlig har aktivitet mot kefalosporinet cefotaxime, og har fra begynnelsen av 2000-tallet blitt anerkjent som den mest utbredte gruppen av ESBL-er

(Castanheira et al., 2021; Tooke et al., 2019). Disse enzymene har spredd seg raskt over hele verden og er nå utbredt i flere geografiske områder, noe som har ført til at CTX-M-enzymene gradvis har overtatt rollen til TEM- og SHV-enzymene og dermed blitt den dominerende typen av ESBL-er som kan påvises (Castanheira et al., 2021).

CTX-M-enzymmer har en iboende resistens mot enkelte antibiotikum, men har muligheten til å akkumulere mutasjoner for å utvikle resistens mot et bredere spekter av β -laktam-antibiotika (Tooke et al., 2019). De siste tiårene har det blitt rapportert flere funn av CTX-M-varianter i flere bakterier tilhørende ordenen «Enterobacterales», samt i *Acinetobacter* spp. og *P. aeruginosa*. Gener som koder for CTX-M-enzymmer er blitt påvist i isolater fra både sykehus, husdyr, næringsmidler og miljøet (Castanheira et al., 2021).

Ut fra aminosyresekvensen kan de fleste CTX-M-enzymene deles inn i fem ulike grupper; CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 og CTX-M-25, hvorav den vanligste CTX-M-1 gruppen er CTX-M-15, etterfulgt av CTX-M-3 og CTX-M-1. Den siste tiden har flere tilfeller av CTX-M-27 blitt rapportert i gruppe CTX-M-9, men CTX-M-9 og CTX-M-14 er også utbredte varianter. Blant sine egne grupper er CTX-M-2, CTX-M-8 og CTX-M-25 de mest rapporterte. Flere analyser tyder på at de fleste CTX-M-variantene er derivater fra ulike enzymmer funnet hos enkelte *Kluyvera*-arter (Castanheira et al., 2021).

Det ble observert en effektiv hydrolyse av cefotaxime og ceftriaxon hos de første CTX-M-variantene og derfor fikk enzymene navnet cefotaximaser. I tillegg ble det observert begrenset aktivitet mot ceftazidim hos CTX-M-enzymene, sammenlignet med aktiviteten som ble observert hos TEM- og SHV-enzymene som var kjent på dette tidspunktet. Det har imidlertid i senere tid blitt beskrevet CTX-M-varianter med forbedret evne til å hydrolysere ceftazidim, hvorav CTX-M-15 og CTX-M-27 som henholdsvis tilhører gruppe CTX-M-1 og CTX-M-9, er viktige eksempler (Castanheira et al., 2021).

CTX-M-15 er et derivat fra CTX-M-3, og skiller seg fra CTX-M-3 ved at det har skjedd en aminosyreendring i posisjon 240, hvor asparaginsyre (Asp) har blitt byttet ut med glycin (Gly). Asp-residualen som finnes i posisjon 240 er plassert i den terminale enden av B3 β -tråden og spiller en avgjørende rolle i fleksibiliteten til denne strukturen, samt i evnen til å tilpasse seg og binde til ceftazidim, som sammenlignet med cefotaxime, er tykkere molekyl. Som et resultat av aminosyreendringen hos CTX-M-15, ble det observert en signifikant

økning i MIC-verdier for ceftazidim. Økte MIC-verdier for ceftazidim ble også observert hos CTX-M-27, som har samme residual i posisjon 240 som CTX-M-15. CTX-M-27 er avledet fra CTX-M-14, og har i motsetning til CTX-M-14 generelt dårlig aktivitet mot andre substrater (Castanheira et al., 2021).

Til tross for at CTX-M β -laktamasene er utbredte enzymer, finnes det fortsatt behandlingsalternativer for isolater som har disse enzymene alene. Det kan imidlertid oppstå utfordringer når isolater innehar disse enzymene samtidig som de innehar andre resistensmekanismer. I tillegg kan aminosyremutasjoner, som blant annet observeres hos CTX-M-15, føre til utvidede hydrolytiske profiler hos disse enzymene. Kombinasjonen av tilstedeværelsen av CTX-M-enzymet med andre resistensmekanismer kan derfor resultere i økt resistens mot bredspektret antibiotikum som meropenem og nyere midler (Castanheira et al., 2021).

2.6.2 TEM

På begynnelsen av 1960-tallet ble den opprinnelige plasmid-medierte β -laktamasen, TEM-1, beskrevet etter å ha blitt funnet i et *E. coli*-isolat fra en blodkultur. Alle TEM β -laktamaser refererer til varianter av denne originale β -laktamasen, hvorav TEM-2 er det første derivatet av TEM. TEM-2 skiller seg fra TEM-1 ved at det har skjedd en aminosyresubstitusjon der glutamin (Gln) i posisjon 39 har blitt erstattet med lysin (Lys). Aminosyreendringen påvirket ikke substratprofilen til TEM-2 sammenlignet med TEM-1, men resulterte i at det ble dannet flere derivater fra TEM-2-enzymet. I 1989 ble TEM-3, som er den første TEM-varianten til å vise ESBL-fenotype, rapportert (Castanheira et al., 2021). TEM-enzymet er aktive mot aminopenicilliner og tidlige kefalosporiner, og per nå er det beskrevet 243 forskjellige varianter av TEM, til tross for at alle av dem ikke er ESBL-er (Castanheira et al., 2021; Tooke et al., 2019).

2.6.3 Karbapenemaser

Karbapenemer er en klasse av β -laktam-antibiotika som har strukturelle likheter med penicilliner og kefalosporiner. Antibiotikum tilhørende denne antibiotika-klassen har et bredt spektrum av aktivitet mot både Gram-positive og Gram-negative aerobe mikroorganismer, samt mange anaerobe mikroorganismer (Knapp & English, 2001). Karbapenemer er svært effektive mot bakterier som innehar et bredt spektrum av antibakteriell aktivitet, og er derfor

avgjørende i behandling av infeksjoner forårsaket av ESBL-produserende bakterier. På grunn av deres begrensede mottakelighet for de fleste variablene som kan gi resistens mot β -laktamer og deres høye effektivitet mot flere bakteriearter, betraktes karbapenemer som den siste utveien ved behandling av bakterielle infeksjoner (Meletis, 2016).

Karbapenemaser, som forårsaker resistens mot karbapenemer, har de siste årene begrenset behandlingsalternativene for pasienter og klinikker. Med enkelte unntak, forårsaker karbapenemasene at penicilliner og kefalosporiner blir inaktive, og eliminerer dermed effektivt hele β -laktam-klassen som et behandlingsalternativ (Doi & Paterson, 2015). Enkelte bakteriearter har imidlertid iboende resistens mot karbapenemaser, hvor *Stenotrophomonas maltophilia* er et eksempel. Iboende resistens mot karbapenemer er derimot sjelden blant klinisk viktige bakterier, og de fleste av disse bakteriene oppnår resistens mot karbapenemer gjennom mutasjoner eller ervervelse av gener via horisontal genoverføring. Fremveksten og den raske spredningen av karbapenemresistens, spesielt blant Gram-negative bakterier, utgjør derfor en global utfordring av stor betydning for folkehelsen over hele verden (Meletis, 2016).

2.7 *Serratia*

Serratia spp. er Gram-negative, fakultative anaerobe, innkapslede, kjemoheterotrofe, ikke-sporulerende stavformede bakterier som tilhører familien Enterobacteriaceae (Kanji et al., 2018; Van Houdt et al., 2007). Mange av *Serratia*-artene har mulighet til å bevege på seg ettersom bakteriene har flere flageller. *Serratia*-slekten består av minst 14 arter, som inkluderer *Serratia entomophila*, *Serratia ficaria*, *Serratia fonticola*, *Serratia grimesii*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Serratia odorifera*, *Serratia plymuthica*, *Serratia proteamaculans*, *Serratia quinivorans*, *Serratia rubidaea*, *Serratia ureilytica*, *Serratia nematodiphila* og *Serratia marnorubra* (Horinouchi et al., 2010; Kanji et al., 2018; Malarkodi et al., 2013; Van Houdt et al., 2007).

De fleste *Serratia*-artene blir ofte assosiert med råvarer og kan forårsake forringelse i matvarer. Artene har også evnen til å kolonisere en rekke overflater i fordøyelseskanalet til insekter, fisk, gnagere og mennesker (Van Houdt et al., 2007). Som et resultat av økt antibiotikaresistens og økt bruk av syrenøytraliserende legemidler, kan enkelte *Serratia*-arter derfor utgjøre en helseisiko knyttet til matbåren smitte som opportunistiske patogener (Kanji et al., 2018; Van Houdt et al., 2007). 8 av de 14 artene er forbundet med infeksjoner hos mennesker, hvorav *S. liquefaciens*, *S. odorifera* og *S. marcescens* er mest kjent (Kanji et al.,

2018). Bakterieslekten finnes naturlig i jord, vann og planteoverflater, men alle *Serratia*-arter, med unntak av *S. entomophila* og *S. marnorubra*, blir hyppig isolert fra kliniske prøver (de Abreu et al., 2014; Van Houdt et al., 2007). Det er hovedsakelig mennesker med nedsatt immunforsvar som smittes av *Serratia*, og slekten kan forårsake en rekke nosokomiale infeksjoner. Eksempler på slike infeksjoner er genitale infeksjoner, lungeinfeksjoner, ørebetennelse, sepsis, meningitt, osteomyelitt, endokarditt, hjerneabscess og bihulebetennelse (Kanji et al., 2018).

Slekten *Serratia* betraktes som iboende resistent mot enkelte typer antibiotikum, som eksempelvis ampicillin, førstegenerasjons kefalosporiner og makrolider. De fleste variantene av *Serratia* er også kjent for å være resistente mot flere typer antibakterielle midler. Dette skyldes tilstedeværelsen av R-faktorer, som er en spesiell type plasmider, i enkelte *Serratia*-arter. R-plasmidene bærer ett eller flere gener som koder for resistens mot ulike typer antibiotikum (Kanji et al., 2018).

2.8 *Escherichia coli*

Escherichia coli er en Gram-negativ, ikke-sporedannende fakultativ anaerob stavbakterie som tilhører familien Enterobacteriaceae (Allocati et al., 2013; Granum, 2017). Reservoaret til *E. coli* er tarmen til varmblodige dyr og mennesker (Yang & Wang, 2014). De fleste stammene av *E. coli* er apatogene, men det finnes enkelte stammer som kan forårsake alvorlige enteritter via ulike mekanismer og ekstraintestinale infeksjoner hos mennesker (Granum, 2017; Yang & Wang, 2014). Inntak av vann og mat er ofte smittekilden til de patogene *E. coli* variantene som forårsaker enteritt. De patogene stammene av *E. coli* klassifiseres ut ifra vertens kliniske symptomer, patogenitetsmekanismer og virulensfaktorene som er til stede (Jang et al., 2017; Yang & Wang, 2014). I 1997 ble den første analysen av genomsekvensen til *E. coli* rapportert, og ettersom *E. coli* innehar raske vekstegenskaper, er bakterien den mest studerte mikroorganismen i verden. Det finnes seks svært grundig studerte intestinale patotyper av *E. coli*, som blant annet inkluderer enteropatogen *E. coli* (EPEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC), diffus adherente *E. coli* (DAEC), enterotoksiske *E. coli* (ETEC), Shiga-toksinproduserende *E. coli* (STEC), og enteroinvasive *E. coli* (EIEC), inkludert Shigella-stammer (Huang et al., 2010; Jang et al., 2017). Fremveksten av nye patotyper av *E. coli*, spesielt nye patotyper av enterohemoragisk *E. coli*, skyldes at virulensgenene til tarmbetingede patogene *E. coli* er meget mobile (Yang & Wang, 2014).

2.9 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa er en Gram-negativ, aerob, sakkarolytisk, ikke-spordannende, bevegelig stavbakterie som tilhører familien Pseudomonadaceae (Driscoll et al., 2007; Moore & Flaws, 2011; Sirevåg, 2022). Til tross for at *P. aeruginosa* er aerob, kan bakterien vokse aerobt ved å benytte seg av arginin og nitrat som endelig elektronakseptor i mangel på oksygen (Moore & Flaws, 2011). Bakteriearten finnes vanligvis i jord, ferskvann og marine miljøer, men isoleres også ofte fra sykehusinnlagte pasienter (Michel-Briand & Baysse, 2002; Moore & Flaws, 2011). *P. aeruginosa* er en opportunistisk patogen bakterie som forårsaker nosokomiale infeksjoner, som eksempelvis urinveisinfeksjon, lungebetennelse, bakteriemi, hudinfeksjoner hos pasienter med brannskader og kirurgiske sårinfeksjoner, i mennesker med svekket immunforsvar og hos mennesker med cystisk fibrose. Når det mikrobiologiske isolatet som forårsaker en infeksjon kan identifiseres, er *P. aeruginosa* årsaken til 11-13,8% av alle nosokomiale infeksjoner. I forhold til andre patogene bakterier, er kraftig sykdom og høy dødelighet assosiert med infeksjoner forårsaket av *P. aeruginosa* (Driscoll et al., 2007). Celleveggen til *P. aeruginosa* har svært lav permeabilitet, som fører til at bakterien har en naturlig iboende resistens mot enkelte antibakterielle midler, som inkluderer makrolider, tetracycliner, de fleste fluorokinoloner, Trimetoprim-sulfametoxazol og mange β -laktamer. Dette medfører at infeksjoner som skyldes *P. aeruginosa* blir vanskelige å behandle, ettersom bakterien både har evnen til å uttrykke et bredt repertoar av resistensmekanismer på genetisk nivå, samt tilegner seg flere resistensgener mot andre antibakterielle midler, som eksempelvis karbapenem-resistensgener (Driscoll et al., 2007; Lambert, 2002). Den økte utviklingen av resistens mot antibakterielle midler i *P. aeruginosa* skyldes at bakterien er i stand til å inaktivere antibiotikumet, benytte seg av effluks-pumper, modifisere mål-molekylet og bryte ned antibiotika-molekyler enzymatisk (Driscoll et al., 2007; Lambert, 2002).

2.10 Metodisk teori

2.10.1 Selektive kromogene agarskåler

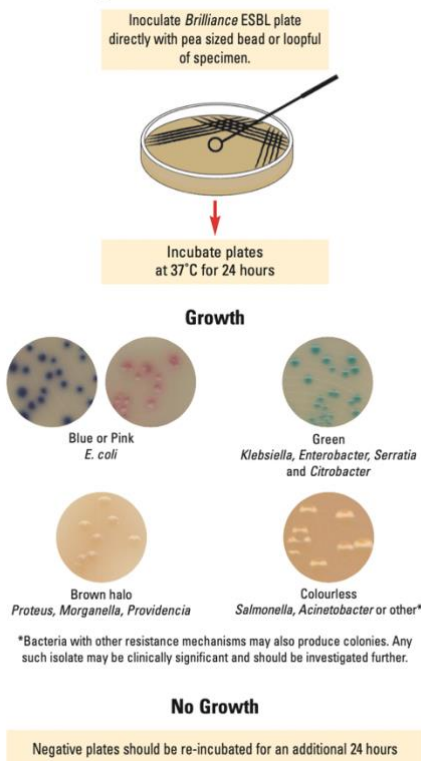
Oxoid *Brilliance*TM ESBL Agar og Oxoid *Brilliance*TM CRE Agar er selektive, kromogene agarskåler som kan benyttes for å screene og detektere henholdsvis utvidet spektrum β -laktamse-produserende (ESBL) mikroorganismer, samt karbapenem-resistente Enterobacteriaceae (Dallenne et al.) (Thermo Fisher Scientific Inc, u.å.; Thermo Fisher Scientific Inc., u.å.). Oxoid *Brilliance*TM ESBL Agar gir en sannsynlig identifikasjon av

ESBL-produserende bakterier som *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* og *Citrobacter*-gruppen (KESC).

Oxoid *Brilliance*TM ESBL Agaren hemmer veksten av ikke-ESBL- produserende Enterobacteriaceae og undertrykker veksten av de fleste AmpC-organismer og annen ikke-ESBL-flora, ettersom agaren inneholder cefpodoxime og andre antibakterielle midler (Thermo Fisher Scientific Inc., u.å.). Det er enkelt å se forskjell på de ESBL-produserende mikroorganismene som vokser på Oxoid *Brilliance*TM ESBL Agaren, da agaren inkluderer to kromogener som spesifikt er rettet mot to enzymer. KESC-gruppen uttrykker galaktosidase som gir grønne kolonier på agaren, mens *E. coli* uttrykker galaktosidase og glukuronidase og vil dermed vokse opp som blå kolonier. β -galaktosidase negative *E. coli* vil imidlertid vokse opp som rosa kolonier vist i figur 2. *Proteus*, *Morganella* og *Providencia* nyttiggjør verken galaktosidase eller glukuronidase, men er i stand til å fjerne tryptofan på proteiner, som resulterer i brunfargede kolonier. Agarskålene kan inokuleres direkte fra avføringsprøver, bomullspinne (swab), isolat eller suspensjon, og resultatet vil være klart i løpet av 24 timer (Thermo Fisher Scientific Inc., u.å.).

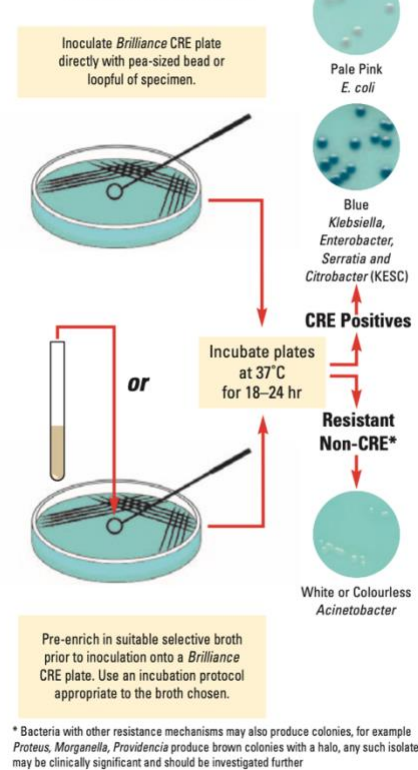
Oxoid *Brilliance*TM CRE Agar inneholder en modifisert karbapenem som sikrer troverdige resultater med et bredt utvalg av karbapenem-resistente Enterobacteriaceae, inkludert de med New Delhi Metallo β -laktamase 1 (NDM-1) mekanismen (Thermo Fisher Scientific Inc, u.å.). Oxoid *Brilliance*TM CRE Agar inkluderer også to kromogensystem, som gjør det enkelt å skille *E. coli* fra KESC-gruppen. *E. coli* kolonier vil ha en rosa farge, mens bakterier tilhørende KESC-gruppen vil vokse opp med en blå farge som vist i figur 3. Ikke CRE-organismer, som *Acinetobacter*, vil ha en hvit farge og dermed være enkle å skille fra karbapenem-resistente Enterobacteriaceae. Inokulering av agarskålene kan skje direkte fra bomullspinner (swab), urin eller avføring og etter 18 timer vil resultatet være klart (Thermo Fisher Scientific Inc, u.å.).

Screening Procedure



Figur 3. Screening-prosedyre ved bruk av Oxoid Brilliance™ ESBL Agar (Thermo Fisher Scientific Inc., u.å.).

Sample Processing



Figur 2. Screening-prosedyre ved bruk av Oxoid Brilliance™ CRE Agar (Thermo Fisher Scientific Inc, u.å.).

2.10.2 NanoDrop™ 2000/2000C spektrofotometer og Qubit® 2.0 Fluorometer

Nanodrop™ 2000/2000C spektrofotometer kan brukes til å måle 0,5-2 µL prøver av DNA, RNA, proteiner og andre biomolekyler (Desjardins et al., 2009). Spektrofotometeret bruker overflatespenningen til å måle absorbansen til proteiner, DNA, RNA og andre biomolekyler i en prøve ved en bestemt bølgelengde (Desjardins et al., 2009; Holtebekk & Pedersen, 2020; Institutt for biovitenskap, 2019).

Renheten til DNA og RNA vurderes ut ifra absorbansforholdet ved 260 nm og 280 nm (A_{260}/A_{280}) (Thermo Fisher Scientific Inc., 2009). For DNA vil et absorbansforhold på ~1,8 generelt aksepteres som rent, mens for RNA vil et forhold på ~2,0 generelt aksepteres som rent. Ved tilstedeværelse av proteiner, fenoler eller andre forurensninger som også absorberer sterkt ved eller i nærheten av 280 nm, vil det kunne observeres et betydelige lavere absorbansforhold mellom 260 nm og 280 nm (Thermo Fisher Scientific Inc., 2009).

Absorbansforholdet mellom 260 nm og 230 nm, brukes som et sekundært mål på renheten til

DNA og RNA. DNA-et og RNA-et anses som rent dersom de observerte verdiene er i området mellom 2,0-2,2. Tilstedeværelser av forurensninger som absorberer ved 230 nm, vil gi et lavere absorbansforhold (Thermo Fisher Scientific Inc., 2009).

Qubit[®] 2.0 Fluorometer gir nøyaktig og sensitiv kvantifisering av DNA, RNA og proteiner i prøvene som analyseres. Molekylære-sonde fargestoffer er grunnlaget for kvantifiseringen, ettersom disse fargestoffene sender ut fluorescerende signaler når de er bundet til spesifikke målmolekyler, som eksempelvis DNA. Eventuelle forurensninger vil derfor ikke kunne påvirke resultatet, samtidig som kvantifisering vil være mulig selv når konsentrasjonen til målmolekylene er lave (Thermo Fisher Scientific Inc., 2011)

2.10.3 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerasekjedereaksjon er en in vitro-metode som kan benyttes for å amplifisere spesifikke DNA-sekvenser (Erlich, 1989; Fossum & Dissen, 2021). Metoden ble utviklet Kary Mullis og hans medarbeidere på midten av 80-tallet, og metoden gjorde det mulig for forskere å manipulere DNA for både genteknologi, sekvensering og kloningsformål (Kubista et al., 2006). Det var imidlertid noen begrensninger knyttet til metoden som analytisk teknikk, da den ga opphav til omtrent samme mengde produkt uavhengig av mengden DNA-templatmolekyler til stede før amplifiseringen, og kvantifisering ble derfor vanskelig (Kubista et al., 2006). Utviklingen av «real-time» PCR av Higuchi, Dollinger, Walsh & Griffith i 1992, løste denne begrensningen (Higuchi et al., 1992; Kubista et al., 2006). «Real-time» PCR er en forbedring av den originale polymerasekjedereaksjonen, og gjør kvantifisering mulig ved at fluorescensen til fargestoffer eller prober introdusert i reaksjonen overvåkes. Mengden produkt som dannes i løpet av reaksjonen er proporsjonal med fluorescensen til fargestoffene eller probene introdusert i reaksjonen, og det er derfor mulig å registrere antallet amplifikasjonssykluser som er nødvendig for å oppnå et bestemt antall DNA-molekyler (Kubista et al., 2006). «Real-time» PCR har flere bruksområder, og kan blant annet brukes til deteksjon av patogener, analyse av kromosomavvik, analyse av genekspressjon og proteindeteksjon ved «real-time» immuno-PCR (Kubista et al., 2006).

For å kjøre en polymerasekjedereaksjon behøves en blanding av buffere, nukleotider, primere, enzym og nukleinsyre fra prøven av interesse (Schochetman et al., 1988). Reaksjonen foregår i tre trinn, hvor det skjer en repeterende serie av sykluser som involverer denaturering,

annealing og elongering (Erich, 1989; Fossum & Dissen, 2021). Ved denaturering forårsaker den høye temperaturen en separering av de to DNA-trådene, slik at DNA-bli enkeltrådet. I annealing-trinnet reduseres temperaturen og primerne fester seg til den komplementære sekvensen på DNA-templatet, før temperaturen økes igjen under elongeringen. I elongeringstrinnet skjer en syntetisering av en ny DNA-tråd ved forlengelse av primerne ved hjelp av Taq-polymerase (Erich, 1989; Fossum & Dissen, 2021). Den nye DNA-tråden som ble syntetisert ved hjelp av Taq-polymerase i en syklus, kan brukes som en mal i den neste og dermed dobles antallet mål-DNA-kopier ved hver syklus (Erich, 1989).

Metoden ble utviklet Kary Mullis og hans medarbeidere på midten av 80-tallet, og metoden gjorde det mulig for forskere å manipulere DNA for både genteknologi, sekvensering og kloningsformål (Kubista et al., 2006). Det var imidlertid noen begrensninger knyttet til metoden som analytisk teknikk, da den ga opphav til omtrent samme mengde produkt uavhengig av mengden DNA-templatmolekyler til stede før amplifiseringen, og kvantifisering ble derfor vanskelig (Kubista et al., 2006). Utviklingen av «real-time» PCR av Higuchi, Dollinger, Walsh & Griffith i 1992, løste denne begrensningen (Higuchi et al., 1992; Kubista et al., 2006). «Real-time» PCR er en forbedring av den originale polymerasekjedereaksjonen, og gjør kvantifisering mulig ved at fluorescensen til fargestoffer eller prober introdusert i reaksjonen overvåkes. Mengden produkt som dannes i løpet av reaksjonen er proporsjonal med fluorescensen til fargestoffene eller probene introdusert i reaksjonen, og det er derfor mulig å registrere antallet amplifikasjonssykluser som er nødvendig for å oppnå et bestemt antall DNA-molekyler (Kubista et al., 2006). «Real-time» PCR har flere bruksområder, og kan blant annet brukes til deteksjon av patogener, analyse av kromosomavvik, analyse av genekspresjon og proteindeteksjon ved «real-time» immuno-PCR (Kubista et al., 2006). Det finnes en rekke metoder for å påvise amplifiserte sekvenser av mål-DNA-et. Dersom nok DNA som har blitt amplifisert er til stede, kan dette visualiseres etter gelelektroforese (Schochetman et al., 1988).

2.10.3.1 Multiplex Polymerase Chain Reaction

Multiplex PCR er en variant av polymerasekjedereaksjon hvor flere par med primere kan brukes til å amplifisere to eller flere målsekvenser i samme reaksjon (Markoulatos et al., 2002; Menin & Nichols, 2013). Metoden ble beskrevet i 1988, og brukes rutinemessig i patogendeteksjon, mutasjons- og polymorfisemeanalyse, genotyping, anrikningsteknikker og revers-transkripsjon (RT)-PCR (Markoulatos et al., 2002; Menin & Nichols, 2013).

Multipleks PCR kan også brukes for å undersøke om bakterieprøver innehar gener som koder for ervervede utvidede spektrum β -laktamaser eller karbapenemer (Trung et al., 2015). Metoden krever at det blir designet multipleks PCR primersett, som inkluderer de genene man ønsker å screene for (Dallenne et al., 2010; Trung et al., 2015). Dette kan gjøres ved å laste ned sekvensene til de ESBL-genene man ønsker å screene for, fra for eksempel GenBank-databasen, før ESBL-genene plasseres innad i grupper ved hjelp av et dataprogram som kan justere flere sekvenser, som eksempelvis ClustalX (Dallenne et al., 2010).

2.10.3.2 *Singlepleks Polymerase Chain Reaction*

Singlepleks PCR er en type polymerasekjedereaksjon, hvor et par med spesifikke primere benyttes for å amplifisere en målsekvens per reaksjon (Thermo Fisher Scientific inc., 2022; Traugott et al., 2013). Singlepleks PCR-analyser er svært sensitive og spesifikke, og klassifiseres som den enkleste typen for diagnostisk PCR (Traugott et al., 2013). Metoden brukes ofte som et supplement til multipleks PCR, da multipleks PCR kan mislykkes i å amplifisere noen loci for enkelte individer (Deng et al., 2000). Multipleks PCR i kombinasjon med singlepleks PCR kan derfor enkelt brukes for påvisning av ESBL-kodende gener (Hassan et al., 2022). Ved singlepleks PCR vil hvert enkelt målgen bli amplifisert hver for seg og dermed vil metoden kunne gi en mer spesifikk identifikasjon av ESBL-gener som ^{bla}CTX-M, ^{bla}SHV, ^{bla}TEM, ^{bla}IMP og ^{bla}VIM (Deng et al., 2000; Hosu et al., 2021).²

2.10.4 Agarose gel-elektroforese

Agarose gel-elektroforese er den enkleste og mest effektive metoden for å separere, identifisere og rense DNA-fragmenter med en størrelse på mellom 100 bp til 25 kb (Lee et al., 2012; Voytas, 2000). Metoden baserer seg på å utnytte den negative ladningen til fosfatryggraden hos nukleinsyrer (Koontz, 2013). På grunn av den negative ladning vil både DNA- og RNA-molekyler bevege seg gjennom agarose-gelen mot den positive polen i et elektrisk felt. Ved agarose gel-elektroforese blir molekyler separert basert på størrelse og ladning, og derfor vil kortere DNA-fragmenter migrere raskere gjennom agarose-gelen enn større DNA-fragmenter i løpet av en gitt tidsperiode (Koontz, 2013; Skolelaboratoriet for biologi ved Universitetet i Oslo, u.å.). Som regel brukes en agarose-gel som inneholder mellom 0,5-2,0% agarose, hvor mengden agarose bestemmer tettheten til gelen. Ved en høyere prosentandel agarose, vil DNA ha vanskeligere for å trenge gjennom agarose-gelen, ettersom suktermolekylene sitter tettere (Skolelaboratoriet for biologi ved Universitetet i Oslo, u.å.). Agarose-gelen er som oftest utformet som en rektangulær skive med flere

prøvebrønner (Skolelaboratoriet for biologi ved Universitetet i Oslo, u.å.; Voytas, 2000). Prøvene appliseres ved siden av hverandre i de ulike brønner, og som regel inkluderes en ladder, slik at de ulike prøvene kan sammenlignes (Skolelaboratoriet for biologi ved Universitetet i Oslo, u.å.). DNA er usynlig og plasseringen til DNA-båndene i agarose-gelen bestemmes derfor ved farging med lave konsentrasjoner av fluorescerende fargestoffer, som eksempelvis SYBRsafe (Green & Sambrook, 2019; Skolelaboratoriet for biologi ved Universitetet i Oslo, u.å.). SYBRsafe fungerer ved at det binder seg reversibelt til DNA i dobbelheliksen og lyser når gelen belyses i ultrafiolett (De Groote et al.) lys (Green & Sambrook, 2019; Skolelaboratoriet for biologi ved Universitetet i Oslo, u.å.). DNA-båndene som observeres kan gjenvinnes fra agarose-gelen dersom det blir nødvendig (Green & Sambrook, 2019).

2.10.5 Sekvensering

2.10.5.1 Sanger-Sekvensering

Frederick Sanger introduserte sin «pluss og minus» metode for sekvensering av DNA i 1975 (Haugen, 2019; Valencia et al., 2013b). Metoden er en DNA-basert analyse som benyttes for å bestemme rekkefølgen til baseparene i DNA (Haugen, 2019; Universitetssykehuset Nord-Norge, 2021).

Sanger-sekvensering baserer seg på at en DNA-avhengig polymerase brukes for å danne en komplementær kopi av en enkeltrådet DNA-templat. Fra 3'-enden blir det syntetisert en ny kjede av et primer-DNA som er komplementær til et enkeltrådet DNA-templat. På den voksende kjeden av primer DNA-et blir deoksyribonukleosidtrifosfatene (dATP, dTTP, dGTP og dCTP) som er komplementære til nukleotidene i mal-DNA-et lagt til (Haugen, 2019; Valencia et al., 2013b). Mellom 3'-hydroksylgruppen på den voksende enden av kjeden og 5'-fosfatgruppen på det innkommende deoksynukleotidet dannes det en fosfodiester-bro, som forlenger DNA-kjeden (Valencia et al., 2013b).

I hver av reaksjonene vil det også tilsettes et dideoksynukleosidtrifosfat, som er en modifisert versjon av en av de fire deoksyribonukleosidtrifosfatene (Haugen, 2019; Valencia et al., 2013b). Dideoksynukleosidtrifosfat mangler 3'-hydroksylgruppen, og syntesen av den voksende DNA-tråden vil derfor stoppe opp når et dideoksynukleosidtrifosfat legges til. Dette

skyldes at det neste nukleotid, som skal legges til den voksende kjeden, mangler den nødvendig 3'-hydroksylgruppen for å danne en fosfodiester-bro (Haugen, 2019; Valencia et al., 2013b). Det er baserekkefølgen i mal-DNA-et som bestemmer i hvilken posisjon dideoksynukleosidtrifosfatet kan legges til, og derav størrelsen på DNA-fragmentene som skal genereres (Haugen, 2019).

Det blir satt opp fire reaksjoner, som alle inneholder en DNA-mal, polymerase, alle fire dNTP-er og primer, for å danne en kontinuerlig serie av synteseprodukter. Hver av de fire reaksjonene inneholder også en av de fire dideoksynukleotidene, og dermed vil det eksistere mange terminerte tråder av forskjellig lengde i hver av de fire reaksjonene.

Enkelt nukleotidoppløsning kan oppnås ved å separere de fire reaksjonene individuelt på en stor denaturerende polyakrylamidgel (Valencia et al., 2013b). For at man skal kunne skille DNA-fragmentene fra hverandre, er fragmentene nødt til å være merket med et fluoriserende fargestoff (Børresen-Dale, 2018; Haugen, 2019). På tvers av de fire brønnene på gelen vil det kunne observeres et mønster, som tillater direkte avlesning av den primære sekvensen til DNA-malen (Valencia et al., 2013b).

2.10.5.2 Helgenomsekvensering

Oppdagelsen av «Next-Generation Sequencing» (Hutchings et al.)-teknologier har gjort det mulig å enkelt generere hele genomsekvenser av bakterieisolater i løpet av kort tid (Wyres et al., 2014). Helgenomsekvensering ved hjelp av Illumina, er et eksempel på en type NGS-teknologi. Teknologien baserer seg på å oppnå sekvenser ved sekvensering ved syntese. Dette gjøres ved at det benyttes en «flowcelle», som har en overflate som kan binde oligonukleotid-ankere. Når adaptermodifisert, enkelttrådet mal-DNA, som er komplementært til oligonukleotid-ankrene, tilsettes flowcellen, vil enkelttrådet mal-DNA binde til overflaten av flowcellen ved hjelp av hybridisering til oligonukleotid-ankrene. Dette fører til at DNA-malen holdes på samme plass under hele sekvenseringsprosessen. DNA-malen amplifiseres i flowcellen, hvor det dannes kløstre med omtrent 1000 klonede molekyler. Etersom det kun er «forward»-tråden til DNA-et som skal sekvenseres, blir kløstrene denaturert, kløyvd kjemisk og vasket før sekvensering. Sekvensering av «forward»-tråden oppnås ved å tilsette fire nukleotider, ddATP, ddGTP, ddCTP, ddTTP, som inneholder kløyvbare fluorescerende fargestoffer. Deretter fjernes overflødige reagenser før fluorescenssignalet fanges opp av en «charge-coupled device». Til slutt kløyves de fluorescerende fargestoffene og vaskes bort, før neste sekvenseringsyklus utføres (Valencia et al., 2013a).

2.10.6 Antimikrobiell sensitivitetstesting

Antimikrobiell sensitivitetstesting er en metode som ofte benyttes klinisk for å bestemme hvor resistente enkelte bakterieisolater er mot ulike typer antibiotika (Syal et al., 2017). Analysen baserer seg på mangelen på synlig uklarhet i buljong eller på redusert eller ingen synlig vekst innenfor en gitt hemningssone på fast agar etter passende inkubering (van Belkum et al., 2020).

Størrelsen på hemmesonen på agaren eller mangelen på synlig uklarhet i buljongen avgjør om mikroorganismen er mottakelig eller resistent mot et spesifikt antibiotikum (IDEXX Laboratories Inc., 2019). Minimum hemmende konsentrasjon (MIC) er grunnlaget for all sensitivitetstesting, ettersom MIC angir den laveste konsentrasjonen av et antimikrobielt middel som hemmer veksten av en gitt bakteriestamme (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, u.å.; IDEXX Laboratories Inc., 2019). MIC-verdier gjør det derfor mulig å bestemme den nøyaktige konsentrasjonen av et antibiotikum som kreves for å hemme veksten av en patogen mikroorganisme (IDEXX Laboratories Inc., 2019).

Sensitivitetstesting med kromogent medium, agar fortykning, buljong fortykning, disk-diffusjon og gradient tester er alle klassiske metoder, som kan brukes for å undersøke sensitiviteten mikroorganismer har ovenfor en type antibiotika (van Belkum et al., 2020). Disk-diffusjon og buljong-fortynningsanalyser kategoriseres som tradisjonelle AST-metoder, hvor den synlige veksten av mikroorganismer i nærvær av antimikrobielle midler, blir sammenlignet (van Belkum et al., 2020). EUCAST har i samarbeid med The European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) utviklet en standardisert disk-diffusjonsmetode som er kalibrert i forhold til europeiske brytningspunkter. Den standardiserte disk-diffusjonsmetoden er basert på Müller-Hinton agar, hvor inokulumet har en tetthet tilsvarende en McFarland 0,5-standard. Deretter påføres disker på agar-overflaten, før Müller-Hinton agar-skålene inkuberes og inhiberingssonen leses av (Matuschek et al., 2014). Metoden utviklet av EUCAST og ESCMID, kan også benyttes ved bruk av MIC gradient strips. MIC gradient strips er tynne plast test-strips som på oversiden er markert med en konsentrasjonsskala, mens på undersiden er stripsen impregnert med en tørket konsentrasjonsgradient av en type antibiotikum (Reller et al., 2009). Stripsene legges på overflaten til agaren med en steril pinsett, før skålene inkuberes over natten. Etter inkubering

blir MIC-verdien, som bestemmes av skjæringspunktet mellom den nederste delen av den ellipseformede hemmingssonen og test-stripsen, lest av (Reller et al., 2009). Deretter kan den avleste MIC-verdien til en hemmesone, sammenlignes med de kliniske MIC-brytningspunktene satt av EUCAST. Om en mikroorganisme er mottakelig ved normal dosering (S), økt eksponering (I) eller resistent mot et antibiotikum, bestemmes av de kliniske MIC-brytningspunktene (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, u.å.).

3 MATERIALER OG METODER

3.1 Innsamling av vannprøver fra miljøet

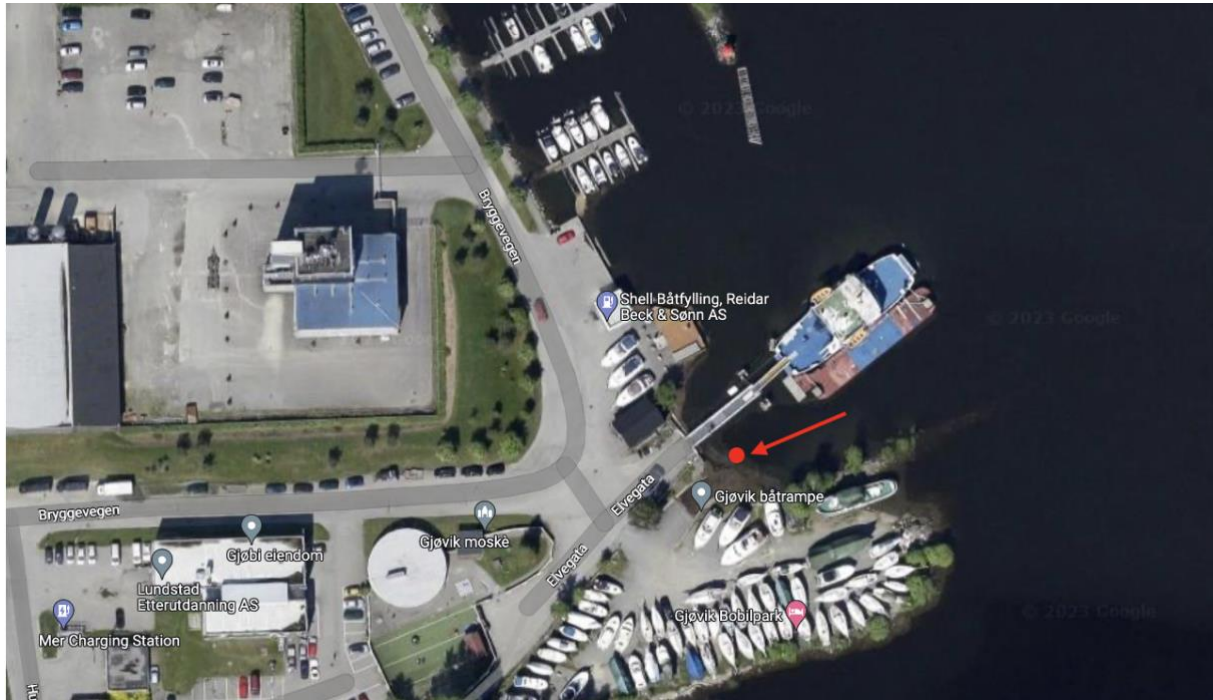
Vannprøvene som skulle analyseres ble hentet inn fra tre ulike vann, hvorav to lå i Nordre Follo Kommune og et lå i Innlandet- og Viken fylke. Vannprøve M1 og M2 ble hentet den 12. Januar 2023, mens vannprøve F1 og T1 ble hentet den 18. Januar 2023. De to første vannprøvene ble hentet inn i to syltetøyglass som på forhånd hadde blitt vasket godt med Zalo og kokende vann, og deretter sterilisert i stekeovnen ved 100°C i 20 minutter. De resterende prøvene, F1 og T1, ble hentet inn i 500 mL sterile Duran glassflasker (Duran® Laboratory Glassware, Tyskland). Vannprøve M1 og M2 ble hentet fra Mjøsa ved Gjøvik Båtrampe, vist i figur 6. Videre ble vannprøve T1 hentet fra Tussetjern ved badebrygga på østsiden av tjernet, vist i figur 4, mens prøve F1 ble hentet fra Fossbekken like etter Gamle Velvestadvei, som vist i figur 5.



Figur 5. Kart over Fossbekken som renner mellom Tussetjernet og Fostjernet i Nordre Follo Kommune. Rød prikk og svart pil indikerer uttaksstedet for prøve F1. Tilgjengelig fra: <https://nordrefollo-kom.maps.arcgis.com/apps/webappviewer/index.html?id=1f272dd348ac44a5aa89649ee9a5763e>



Figur 4. Kart over deler av Tussetjernet i Nordre Follo Kommune. Rød prikk og svart pil indikerer uttaksstedet for prøve T1. Tilgjengelig fra: <https://nordrefollo-kom.maps.arcgis.com/apps/webappviewer/index.html?id=1f272dd348ac44a5aa89649ee9a5763e>



Figur 6. Kart over Gjøvik Båtrampe i Gjøvik Kommune. Rød prikk og rød pil indikerer uttaksstedet for prøve M1 og M2. Tilgjengelig fra: <https://www.google.com/maps/>

3.2 Filtrering av vannprøver

Vannprøve T1 og F1 ble grovfiltrert for å fjerne grener, blader og andre større uønskelige partikler. For å grovfiltrere vannprøvene ble sterile trakter med Whatman™ filter paper circles 589/1 Black ribbon diameter 150 mm (GE Healthcare Life Sciences, Tyskland) benyttet. Før vannprøvene ble helt opp i de sterile traktene med filter, ble vannprøvene blandet godt for å få en homogen prøve. 500 mL av vannprøvene ble grovfiltrert over i nye sterile Scott Duran glassflasker.

Etter grovfiltrering ble 2 x 100 mL av vannprøve M1, T1 og F1 finfiltrert ved bruk av et Millipore Microfil®-vakuum-filtreringssystem MISP00002 (Merck, Darmstadt, Tyskland) koblet til en vask. Millipore-filtreringssystemet ble sterilisert ved hjelp av en brenner, en såkalt «Flameboy» (Avantor®). Vannprøvene ble filtrert gjennom EZ-Pak® Membrane Filters med diameter 47 mm og porestørrelse 0,45 μm (Millipore S.A.S, Molsheim, France) ved hjelp av vakuum fra kranen.

Etter finfiltrering ble et av filtrene fra vannprøve T1, F1 og M1 overført med en steril pinsett til agarskåler med Oxoid Brilliance™ ESBL Agar (Thermo Fisher Scientific Inc., Wessel, Tyskland), mens de resterende filtrene fra prøve T1, F1 og M1 ble overført ved hjelp av en

steril pinsett til agarskåler med Oxoid Brilliance™ CRE Agar (Thermo Fisher Scientific Inc., Wessel, Tyskland). Videre ble 1000 μL av hver vannprøve T1, F1 og M1 pipettert over på agarskåler med Oxoid Brilliance™ ESBL- og Oxoid Brilliance™ CRE-Agar. Vannprøven ble strøket utover agarene ved hjelp av en hockeystav, og utførelsen ble gjort i avtrekkskap for å hindre kontaminering. Agarskålene ble deretter satt til tørking i avtrekkskapet, før de ble satt til inkubering ved 37°C i 1 døgn.

3.3 Rendyrking av bakteriekolonier

Etter inkubering i 1 døgn, ble det gjort en visuell sjekk av alle petriskålene. Det ble observert vekst på en av ESBL-agarskålene med filtrert vann fra Fossbekken. Tre av de observerte koloniene ble strøket over ved bruk av 16-streksmetoden på en ny agarskål med ESBL-agar ved hjelp av sterile podenåler. Deretter ble agarskålen samt resterende agarskåler uten vekst satt til inkubering i ytterligere 3 døgn ved 37°C, mens agarskålen med vekst ble satt til kjøling ved 4°C.

Etter inkubering i ved 37°C i totalt 4 døgn ble det observert vekst på de resterende agarskålene. Observerte kolonier med blå, grønn, rød, beige, turkis, rosa og brun farge på ESBL- og CRE-agarskålene ble strøket over på nye respektive skåler ved bruk av 16-streksmetoden og sterile podenåler for rendyrking. De nye agarskålene ble satt til inkubering ved 37°C i 1 døgn, mens de resterende agarskålene med vekst ble satt til kjøling ved 4°C. Etter inkubering i 1 døgn ble det gjort en visuell sjekk av alle agarskålene, og det ble observert vekst på enkelte agarskåler. Disse ble derfor plassert på kjølerom ved 4°C i påvente av DNA-ekstraksjon, mens agarskålene uten vekst ble satt tilbake til inkubering ved 37°C i ytterligere 1 døgn.

3.4 DNA-ekstraksjon

For å ekstrahere DNA fra de rendyrkede bakteriekoloniene som var av interesse ble DNeasy PowerFood Microbial Kit benyttet (QIAGEN, Hilden, Tyskland). Protokollen som fulgte med kittet ble benyttet, med noen få unntak (QIAGEN, 2017). Løsning MLB og MR ble varmet opp til 55°C ved bruk av Thermolyne Dri-Bath Type 16500 (Marshall Scientific).

Temperaturen på Thermolyne Dri-Bath ble stilt inn på 65°C, og løsningene ble varmet opp i 10 minutter.

Ettersom det var DNA fra rendyrkede bakteriekolonier som skulle ekstraheres utgikk steg 1, 2 og 3 i protokollen. Det ble istedenfor benyttet sterile podenåler for å overføre de rendyrkede bakteriekoloniene til et eppendorfrør med 450 µl av løsning MBL. Den sterile podenålen med bakterien på ble rotert i eppendorfrøret slik at bakterien løsnet fra podenålen. Deretter ble det pipettert opp og ned med en pipettespiss i blandingen for å få en homogen løsning. Videre ble det kun tilsatt 50 µl av løsning EB på midten av det hvite filteret, før prøven ble stående til inkubering ved romtemperatur i 2 minutter før den ble sentrifugert ved 13,000 x g i 1 min. Det ble brukt 50 µl av løsning EB, istedenfor 100 µl som sto i protokollen, for å få høyere DNA-konsentrasjon. Deretter ble det ekstraherte DNA-et fryst ned ved -20°C for videre bruk.

3.4.1 Kvantifisering og renhetsbestemmelse av isolert DNA

For å bestemme konsentrasjonen og renheten til de ekstraherte DNA-prøvene ble NanoDrop™ 2000/2000C spektrofotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, USA) benyttet. Før konsentrasjonen til prøvene med ekstrahert DNA kunne måles, ble NanoDrop™ 2000/2000C spektrofotometeret tørket over med litt destillert vann på et papir, samt kalibrert med 2 µl av elueringsbufferen EB, som ble benyttet under DNA-ekstraksjonen. Etter kalibrering ble elueringsbufferen tørket bort med litt papir, før 2 µl av hver enkelt DNA-prøve ble applisert på spektrofotometeret og analysert. Den målte konsentrasjonen (ng/µl), $A_{260/280}$ og $A_{260/230}$ ble skrevet ned. Hver prøve ble tørket bort med litt papir, før neste prøve ble applisert på spektrofotometeret. Etter siste prøve hadde blitt målt, ble NanoDrop™ 2000/2000C spektrofotometeret tørket over med litt destillert vann på et papir.

3.5 Sanger-sekvensering

3.5.1 Polymerase Chain Reaction (PCR)

For å amplifisere genet som koder for 16S rRNA hos bakterieprøvene ble Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix benyttet (New England BioLabs® Inc., Ipswich, USA). Det ble laget en reaksjonsløsning av Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix, nukleasefritt vann, forward (F) og revers (R)-primer for 16S rRNA-genet i et eppendorfrør (tabell 2). Tabell 1 viser primersekvensene til 16S rRNA-genet, mens Tabell 2 viser konsentrasjonen og mengden (µl) av de ulike reagensene som ble brukt i PCR-reaksjonen. 1 µl DNA-templat ble pipettert opp i PCR-rør (VWR®, Tyskland) med 24 µl reaksjonsløsning. For å lage en homogen

blanding ble det pipettert opp og ned noen ganger, før PCR-rørene ble spunnet ned ved hjelp av VWR® Ministar Blueline (VWR®, Tyskland).

Tabell 1. Primerpar, primersekvens og antall basepar brukt for å amplifisere genet som koder for 16S rRNA hos samtlige bakterieprøver fra vannprøve M1, F1 og T1.

Primer	Primersekvens (5'-3')	Størrelse (Wu & Rosen)
Forward (F)	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	1505
Revers (R)	GYTACCTTGTTACGACTT	

Tabell 2. Konsentrasjon og volum av reagensene brukt til PCR reaksjonen for amplifisering av genet som koder for 16S rRNA hos samtlige bakterieprøver fra vannprøve M1, F1 og T1.

Reagens	Startkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	Volum (µl) per reaksjon
Forward-primer	10 µM	0,5 µM	1,25
Revers-primer	10 µM	0,5 µM	1,25
Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix	2X	1X	12,5
Nukleasefritt vann	-	-	9
DNA	-	-	1

PCR-maskinen C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, Inc., California, USA) ble brukt for å amplifisere 16S rRNA-genet til bakterieprøvene. PCR-programmet som prøvene ble kjørt på vises i tabell 3.

Tabell 3. PCR-programmet benyttet for å amplifisere genet som koder for 16S rRNA hos samtlige bakterieprøver fra vannprøve M1, F1 og T1.

Trinn	Temperatur (Lyle et al.)	Tid (Kubista et al.)	Sykluser
Innledende denaturering	98	00:30	1
Denaturering	98	00:10	32
Annealing	55	00:30	
Elongering	72	00:42	

Avsluttende elongering	72	2:00	1
Hold/kjøling	4	∞	

3.5.2 Agarose gel-elektroforese

For å undersøke om amplifiseringen av genet som koder for 16S rRNA hos bakterieprøvene var vellykket ble det kjørt en agarose gel-elektroforese av PCR-produktene. En 1% agarose gel ble laget ved at 0,5 g SeaKem® LE Agarose (Lonza, Rockland, USA) og 50,0 mL 1X Tris-acetate-EDTA-buffer ble blandet i enten 100 mL eller Duran glassflasker. 1X Tris-acetate-EDTA-bufferen ble laget ved at 40 mL 50x TAE-stockløsning (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, USA) ble fortynnet med 1960 mL destillert vann. Lokket på Duran glassflasken ble deretter skrudd halvveis igjen før glassflasken ble plassert i mikrobølgeovnen og varmet opp på maksimum styrke til det begynte å koke. Når SeaKem® LE Agarose og TAE-buffer-blandingen kokte ble styrken skrudd ned til 90 W frem til alt agarose-pulveret var løst opp. Glassflasken ble deretter satt til nedkjøling, og når SeaKem® LE Agarose og TAE-buffer-blandingen hadde nådd 60°C ble 1 µl SYBR® safe DNA Stain (EDVOTEK®) tilsatt. Blandingen ble blandet forsiktig, men godt, før den ble helt over i støpeformen.

Mens gelen stivnet ble PCR-produktene klargjort for applisering på gel ved at 6 µl nukleasefritt vann og 2 µl Gel Loading Dye, Purple 6X (Bio-Rad Laboratories, Inc.), ble blandet med 3 µl PCR-produkt i 96-Well Microtiter™ Microplates (Thermo Fisher Scientific Inc.). Det ble pipetert opp og ned 2-3 ganger for å sørge for at prøven, vannet og dyen var tilstrekkelig blandet, før 10 µl av blandingen ble applisert i hver sin brønn på gelen. I tillegg ble den første brønnen på hver gel tilsatt 6 µl Quick-Load® 100 bp DNA Ladder (BioLabs® Inc., New England). Gelelektroforesen ble kjørt i ca. 30 minutter ved 120 V for liten gel og 150 V for stor gel ved bruk av Sub® Cell GT (Bio-Rad Laboratories, Inc.) for stor gel eller Mini-Sub® Cell GT (Bio-Rad Laboratories, Inc.) for liten gel. Deretter ble det tatt bilde av gelen under UV-lys ved hjelp av Uvp dual-intensity transilluminator (GENEO BioTechProducts GmbH).

3.5.3 Rensing av PCR-produkt

Før det amplifiserte genet som koder for 16S rRNA hos bakterieprøvene ble sendt til Sanger-sekvensering, ble PCR-produktene rensed ved bruk av NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up (MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG., Düren, Germany). Protokollen som fulgte med

kittet ble benyttet, med noen få unntak (MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, 2017). PCR-produktene ble ikke fortynnet, til tross for at det kun ble benyttet 22 µl PCR-produkt. Videre ble silica-membranen kun vasket en gang med 700 µl Buffer NT3. For å tørke silica-membranen samt for å sikre at all NT3-buffer ble fullstendig fjernet ble prøvene sentrifugert ved 11,000 x g i 3 minutter, og ikke i 1 minutt som er beskrevet i protokollen. Ved eluering av DNA ble Buffer NE varmet opp til 50°C og ikke til 70°C, som er den temperaturen protokollen anbefalte. Denne endringen ble gjort på bakgrunn av en anbefaling vi fikk fra laboratoriepersonellet, som har funnet ut at det ikke er signifikant forskjell på 50°C og 70°C. Videre ble det benyttet 30 µl Buffer NE, og prøven ble inkubert ved romtemperatur i 5 minutter for å sikre god nok binding til DNA før sentrifugering, og ikke i 1 minutt som er beskrevet i protokollen. Etter sentrifugering ble gjennomstrømningen pipettert over på filteret i «NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up kolonnen», før prøvene på ny ble sentrifugering ved 11,000 x g i 1 minutt. Deretter ble «NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up kolonnen» kastet, og gjennomstrømningen ble fryst ned ved -20°C for videre bruk.

3.5.4 Klargjøring til Sanger-sekvensering

For å bestemme konsentrasjonen og renheten til de rensede PCR-produktene ble NanoDrop™ 2000/2000C spektrofotometer benyttet. Målingene ble utført på samme måte som beskrevet tidligere (se avsnitt 3.4.1), med unntak av at spektrofotometeret denne gangen ble kalibrert med 2 µl elueringsbuffer NE. Etter kvantifisering ble 5 µl av hver enkelt prøve overført til to 1,5 mL «safe-lock»-rør (ett til revers-primer og et til forward-primer) merket med strekkoder. Deretter ble 5 µl av enten revers-primer eller forward primer tilsatt «safe-lock»-rørene, før prøvene ble sendt til Eurofins lab i Ebersberg, Tyskland for Sanger-sekvensering.

3.5.5 Dataanalyse av Sanger-sekvenseringsresultatene

For å analysere Sanger-sekvenseringsresultatene fra Eurofins ble programmet Nucleotide Basic Logical Allignment Search Tool brukt (National Library of Medicine, u.å.). Programmet BioEdit Versjon 7.2.5 ble brukt for å kutte og sette sammen revers- og forward-primer-sekvensene til en konsensus-sekvens som kunne limes inn og analyseres i BLASTn. Standard Nucleotide BLAST sammenligner konsensus-sekvensen for hver enkelt prøve med databasen Nucleotide collection (nr/nt). Resultatet av sammenligningen ga en eller flere bakterislekter som de ulike prøvene kunne tilhøre.

3.6 Nedfrysing av antibiotikaresistente bakterier

For å lage en biobank til langtidslagring av prøvene som ga interessante Sanger-sekvenseringsresultater, ble bakteriekolonier fra de interessante prøvene podet over på nye respektive agarskåler ved hjelp av en steril podenål. De nye agarskålene ble inkubert ved 37°C i 1 døgn. Etter inkubering ble de rendyrkede bakteriekoloniene overført til safelock-rør med 750 µl 17 % glyserol, ved at podenålen ble rotert rundt og rundt frem til bakteriekoloniene falt av. Eppendorfrørene ble deretter lagret ved -20°C for videre bruk.

3.7 Deteksjon av resistensgener

For å undersøke om enkelte av de interessante bakterieprøvene hadde ESBL-resistensgener, ble det utført både multipleks- og singlepleks PCR. Det ble screenet for ESBL-resistensgener ettersom denne resistensmekanismen forårsaker resistens mot flere viktige antibiotikatyper som benyttes på norske sykehus (Folkehelseinstituttet, 2014).

3.7.1 Multipleks PCR

For å screene etter ESBL-resistensgener ble det utført en multipleks PCR, med fire ulike primermikser; ESBL 1, 2, 3 og 4. Det ble også benyttet en kontroll, K. Hver primermiks inneholdt flere ESBL-primere, som vist i tabell 4.

Tabell 4. Målgen/målgruppe, primersekvens samt antall basepar for hver primermiks samt kontroll. Tilgjengelig fra (Dallenne et al., 2010; Finton et al., 2020).

Primermiks	Målgen	Sekvens (5'-3')	Lengde (bp)
ESBL 1	blaCTX-M2	F- CGTTAACGGCAGCATGAC	404
		R- CGATATCGTTGGTGGTTCCAT	
	blaOXA	F- GGCACCAGATTCAACTTCAAG	564
		R- GACCCCAAGTTTCTGTAAGTG	
	blaSHV	F- AGCCGCTTGAGCAAATTAAC	713
		R- ATCCCGCAGATAAATCACCAC	
ESBL 2	blaCTX-M9	F- TCAAGCCTGCCGATCTGGT	561
		R- TGATTCTCGCCGCTGAAG	
	blaCTX-M1	F- TTAGGAARTGTGCCGCTGYA	688
		R- CGATATCGTTGGTGGTRCCAT	
	blaTEM	F- CATTTCGGTGCGCCCTTATTC	800
		R- CGTTCATCCATAGTGCCTGAC	
ESBL 3	blaNDM	F- TGGCCCGCTCAAGGTATTTT	157
		R- GTAGTGCTCAGTGC GG CAT	
	blaVIM	F- ATAGAGCACACTCGCAGACG	564
		R- TTATTGGTCTATTGACCGCGT	
	blaKPC	F- TCCGTTACGGCAAAAATGCG	460
		R- GCATAGTCATTGCGGTGCC	
ESBL 4	blaCMY	F- GCATCTCCAGCCTAATCCC	188
		R- TTCTCCGGGACAACCTTGACG	
	blaOXA-48	F- GCTTGATCGCCCTCGATT	281
		R- GATTTGCTCCGTGGCCGAAA	
	blaIMP	F- ACAGGGGGAATAGAGTGCT	393
		R- AGCCTGTTCCCATGTACGTT	
Kontroll	rpoB	F- CAGGTCGTACACGGTAACAAG	512
		R- GTGGTTCAGTTTCAGCATGTAC	
	16S	F- AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	1505
		R- GYTACCTGTTACGACTT	

QIAGEN Multiplex PCR Kit (QIAGEN, Hilden, Tyskland) ble benyttet for å kjøre multipleks PCR av det ekstraherte DNA-et fra bakterieprøvene. Det ble laget en 100 µM stockløsning av hver enkelt ESBL-primer ved at primerne ble fortynnet med nukleasefritt vann. Vedlegg 5 viser hvor mye nukleasefritt vann hver enkelt primer ble fortynnet med. Fra hver enkelt stockløsning ble det laget en 10 µM primermiks, ved at 2 µl av hver ESBL-primer som skulle i primermiks ESBL 1 ble blandet i et eppendorfrør. Tilsvarende ble gjort for primermiks ESBL 2, ESBL 3, ESBL 4 og kontroll. Videre ble det laget reaksjonsløsninger på 24 µl i henhold til protokollen for standard multipleks PCR som fulgte med QIAGEN Multiplex PCR Kittet (tabell 5) med to unntak. Reagens 5x Q-løsning ble ikke benyttet, samt ble det kun benyttet halv mengde av reagensene oppført i protokollen, ettersom det skulle lages reaksjonsløsninger på 24 µl og ikke 48 µl. Deretter ble reaksjonsløsningene på 24 µl blandet med 1 µl DNA-templat, før prøvene ble kjørt på PCR-programmet som vises i tabell 6.

Tabell 5. Konsentrasjon og volum av reagensene benyttet til multipleks PCR for bakterieprøve FOSS9-E. coli-E, FOSS10-E. coli-E, MJØSA10-Pseu-E, FOSS2-Serratia-E, FOSS3-Serratia-E og FOSS6-Serratia/EB-E.

Reagens	Startkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	Volum (µl) per reaksjon
Primermiks	10 µM	0,2 µM av hver enkelt primer	2,5
2x QIAGEN Multiplex PCR Master Mix	2X	1X	12,5
Nukleasefritt vann	-	-	9
DNA	-	-	1

Tabell 6. Programmet benyttet for å kjøre multipleks PCR.

Trinn	Temperatur (Lyle et al.)	Tid (Kubista et al.)	Sykluser
Innledende denaturering	95	15:00	1
Denaturering	94	00:30	35
Annealing	60	01:30	
Elongering	72	01:30	

Avsluttende elongering	72	10:00	1
Hold/kjøling	4	∞	

3.7.1.1 Agarose gel-elektroforese

For å undersøke om screeningen etter ESBL-resistensgener var vellykket, ble det kjørt en agarose gel-elektroforese av PCR-produktene. En 2% agarose gel ble laget på samme måte som beskrevet tidligere (se avsnitt 3.5.2), med unntak av at det ble tilsatt 1 g SeaKem® LE Agarose og ikke 0,5 g agarose, for å få en 2% agarose gel. Det ble tatt bilder av gelen med Gel Doc XR+ Gel Documentation System (Bio-Rad Laboratories, Inc.) for å se om det var synlige bånd til stede på gelen.

3.7.2 Singlepleks PCR

For å undersøke hvilke ESBL-resistensgener de positive bakterieprøvene fra multipleks PCR hadde, ble det kjørt singlepleks PCR av disse prøvene. Q5® High-Fidelity PCR Kit (New England Biolabs, Inc., Ipswich, USA) ble benyttet for å kjøre singlepleks PCR. Fra hver enkelt stockløsning tilhørende en primermiks som ga positivt resultat på multipleks PCR, ble det laget en 10 µM arbeidsløsning ved at 10 µl stockløsning ble blandet med 90 µl nukleasefritt vann i et eppendorfrør. Videre ble det laget reaksjonsløsninger på 24 µl i henhold til protokollen som fulgte med Q5® High-Fidelity PCR Kittet (tabell 7) før reaksjonsløsningene ble blandet med 1 µl DNA-templat. Prøvene ble deretter kjørt på PCR-programmet som vises i tabell 8.

Tabell 7. Konsentrasjon og volum av reagensene benyttet til singlepleks PCR for bakterieprøve FOSS9-*E. coli*-E, FOSS10-*E. coli*-E, MJØSA10-*Pseu*-E, FOSS2-*Serratia*-E, FOSS3-*Serratia*-E og FOSS6-*Serratia*/EB-E.

Reagens	Startkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	Volum (µl) per reaksjon
Forward Primer	10 µM	0.5 µM	1.25
Revers Primer	10 µM	0.5 µM	1.25
Q5 High-Fidelity 2X Master Mix	2X	1X	12,5
Nukleasefritt vann	-	-	9
DNA	-	-	1

Tabell 8. Programmet benyttet for å kjøre singlepleks PCR.

Trinn	Temperatur (°C)	Tid (min)	Sykluser
Innledende denaturering	98	00:30	1
Denaturering	98	00:10	34
Annealing	60	00:20	
Elongering	72	00:20	
Avsluttende elongering	72	02:00	1
Hold/kjøling	4	∞	

Etter PCR-programmet var ferdigkjørt, ble produktene applisert på en 2 % agarose gel på samme måte som beskrevet tidligere (avsnitt 3.5.2). Gel Doc XR+ Gel Documentation System (Bio-Rad Laboratories, Inc.) ble benyttet for å ta bilde av gelen.

3.7.2.1 Klargjøring til Sanger-sekvensering

For å bestemme konsentrasjonen og renheten til de rensede singlepleks PCR-produktene ble NanoDrop™ 2000/2000C spektrofotometer benyttet. Målingene ble utført på samme måte som beskrevet i avsnitt 3.4.1, med unntak av at spektrofotometeret ble kalibrert med 2 µl elueringsbuffer NE. Etter kvantifisering ble fire 1,5 mL «safe-lock»-rør merket med strekkode tilsatt 5 µl primer og 4 µl nukleasefritt vann. Deretter ble 1 µl av singlepleks PCR-produktet til prøve FOSS9-*E. coli*-E tilsatt to av rørene, mens 1 µl av singlepleks PCR-produktet til prøve FOSS10-*E. coli*-E ble tilsatt de to siste «safe-lock»-rørene. Deretter ble prøvene sendt til Eurofins lab i Ebersberg, Tyskland for Sanger-sekvensering.

3.7.2.2 Dataanalyse av Sanger-sekvenseringsresultatene

Sanger-sekvenseringsresultatene fra Eurofins ble analysert på samme måte som beskrevet i avsnitt 3.5.5, med unntak av det ikke ble laget en konsensus-sekvens. Det var sekvensen fra Sanger-sekvenseringen som ble limt inn og analysert i BLASTn. Resultatet av sammenligningen ville forsterke eller svekke antagelsen om at bakterieprøvene inneholdt *bla*TEM og/eller *bla*CTX-M gruppe 1-gener.

3.8 Deteksjon av virulens gener

For å undersøke om de trolig *E.Coli*-bakteriene innehar virulensgener, ble det utført singlepleks PCR ved bruk av Q5[®] High-Fidelity PCR Kit (New England Biolabs, Inc., Ipswich, USA). Det ble laget en 100 µM stockløsning av hver enkelt virulens-primer ved at primerne ble fortynnet med nukleasefritt vann. Vedlegg 5 viser hvor mye nukleasefritt vann hver enkelt primer ble fortynnet med. Videre ble det laget en 10 µM arbeidsløsning ved at 10 µl stockløsning ble blandet med 90 µl nukleasefritt vann i et eppendorfrør.

Reaksjonsløsninger på 24 µl ble laget i henhold til protokollen som fulgte med Q5[®] High-Fidelity PCR Kittet (tabell 9). Deretter ble 1 µl DNA-templat blandet med reaksjonsløsningene, før prøvene ble kjørt på PCR-programmet som vises i tabell 10

Tabell 9. Konsentrasjon og volum av reagensene benyttet til singlepleks PCR for screening etter virulensgener hos bakterieprøve FOSS9-*E. coli*-E, FOSS10-*E. coli*-E og FOSS6-*Serratia*/EB-E.

Reagens	Startkonsentrasjon	Sluttkonsentrasjon	Volum (µl) per reaksjon
Forward Primer	10 µM	0.5 µM	1.25
Revers Primer	10 µM	0.5 µM	1.25
Q5 High-Fidelity 2X Master Mix	2X	1X	12,5
Nukleasefritt vann	-	-	9
DNA	-	-	1

Tabell 10. PCR-programmet som ble brukt for å screene etter virulensgener hos bakterieprøve FOSS9-*E. coli*-E, FOSS10-*E. coli*-E og FOSS6-*Serratia*/EB-E.

Trinn	Temperatur (°C)	Tid (min)	Sykluser
Innledende denaturering	98	00:30	1
Denaturering	98	00:10	34
Annealing	55	00:20	
Elongering	72	00:20	
Avsluttende elongering	72	02:00	1
Hold/kjøling	4	∞	

Etter PCR-programmet var ferdigkjørt, ble produktene applisert på en 2 % agarose gel på samme måte som beskrevet i avsnitt 3.5.2. For å screene etter virulensgener ble det sett etter sekvensene vist i tabell 11. Gel Doc XR+ Gel Documentation System (Bio-Rad Laboratories, Inc.) ble benyttet for å ta bilde av gelen.

Tabell 11. Målgen, primersekvens og antall basepar benyttet for å screene etter virulensgener hos bakterieprøve FOSS9-*E. coli*-E, FOSS10-*E. coli*-E og FOSS6-Serr/EB-E.

Målgen	Primersekvens (5'-3')	Størrelse (Wu & Rosen)
Stx1	F - AAATCGCCATTCGTTGACTACTTCT	370
	R - TGCCATTCTGGCAACTCGCGATGCA	
Stx2	F - CAGTCGTCACTCACTGGTTTCATCA	283
	R - GGATATTCTCCCCACTCTGACACC	
eaeA	F - TCAATGCAGTTCGGTTATCAGTT	482
	R - GTAAAGTCCGTTACCCCAACCTG	
STIb	F - ATTTTCTTTCTGTATTGTCTT	190
	R - CACCCGGTACAAGCAGGATT	
LTI	F - TCTCTATGTGCATACGGAGC	322
	R - CCATACTGATTGCCGCAAT	
ipaH	F - GTTCCTTGACCGCCTTTCCGATACCGTC	619
	R - GCCGGTCAGCCACCCTCTGAGAGTAC	
aggR	F - GTATACACAAAAGAAGGAAGC	254
	R - ACAGAATCGTCAGCATCAGC	

3.9 Helgenomsekvensering

Før prøve FOSS2-*Serratia*-E, MJØSA10-*Pseu*-E og FOSS9-*E. coli*-E kunne sendes til helgenomsekvensering hos Novogene, ble konsentrasjonen og renheten til prøvene bestemt ved hjelp av Qubit® 2.0 Fluorometer (Life Technologies Holdings, Singapore), NanoDrop™ 2000/2000C spektrofotometer og agarose gel-elektroforese. Dette ble gjort for å undersøke om prøvene tilfredsstilte kravene som Novogene har satt til mikrobiell genom sekvensering. For å undersøke om det hadde skjedd en degradering av DNA-et, ble prøvene kjørt på en 1% agarose-gel som beskrevet i avsnitt 3.5.2. Det ble imidlertid benyttet 2 µl DNA istedenfor 3 µl

PCR-produkt. Videre ble $A_{260/280}$ ble bestemt ved hjelp av NanoDrop™ 2000/2000C spektrofotometer på samme måte som beskrevet i avsnitt 3.4.1.

Ved hjelp av et Qubit® 2.0 Fluorometer ble konsentrasjonen til prøvene bestemt. Prøvene ble klargjort ved hjelp av et Qubit™ 1X dsDNA HS Assay Kit (Life Technologies Corporation, Eugene, Oregon, USA). Målingene ble gjort i henhold til protokollen som fulgte med kittet, samt var alle reagenser ved romtemperatur før bruk (Invitrogen™ Life Technologies Corporation, 2010). To standardløsninger ble laget ved at 10 µl av standardløsning 1 og 2 ble blandet med 190 µl arbeidsløsning som beskrevet i protokollen. Videre ble det laget prøveløsninger for de tre prøvene som skulle analyseres, ved at 197 µl arbeidsløsning ble blandet med 3 µl prøve i Qubit™ assay tubes (Life Technologies Corporation, Eugene, Oregon, USA). Standardløsningene og prøveløsningene ble deretter vortex-et i 2-3 sekunder, før de ble inkubert ved romtemperatur i 2 minutter. Etter inkubering ble de to standardløsningene målt, for å lage en standardkurve prøveløsningene kunne bli målt mot. Deretter ble prøveløsningene målt, og konsentrasjonen ble lest av. For prøve MJØSA10-*Pseu-E* og FOSS2-*Serr-E* var konsentrasjonen for høy i forhold til standardkurven, og prøvene ble derfor fortynnet frem til konsentrasjonen av prøvene var målbar. Den avleste konsentrasjonen ble deretter ganget med fortynningsfaktoren for å finne opprinnelig konsentrasjon i de ufortynnede DNA-prøvene.

Når alle kravene av Novogene var oppfylt, ble tre «safe-lock»-rør markert med nummer, før 20 µl DNA av hver enkelt prøve ble tilsatt i hvert sitt rør. Deretter ble prøvene fryst over natten, før de ble sendt av senioringeniør Ahmed Abdelghani til Novogene i England for helgensomsekvensering. Etter helgensomsekvensering ble rådataene behandlet av Professor Bjørn-Arne Lindstedt. Plattformen «Galaxy EU (Tyskland)» ble brukt til å lage en «assebly» av F- og R-sekvensene til prøvene FOSS9-*E. coli-E*, MJØSA10-*Pseu-E* og FOSS2-*Serr-E*.

For å screene etter resistensgener hos de ulike prøvene ble databasene «The Comprehensive Antibiotic Resistance Database» (Fuentes-Castillo et al.) og «NCBI National Database of Antibiotic Resistant Organisms (NDARO)» benyttet. Screening ble utført ved hjelp av verktøyet «ABRicate Mass screening of contigs for antimicrobial and virulence genes» (ABRicate) i «Galaxy». Deretter ble virulensgener identifisert ved hjelp av databasene «Virulence Factor Database» (VFDB) og «Ecoli_VF» (EVF), hvorav databasen «Ecoli_VF»

kun ble benyttet for *E. coli*-bakterier. Screeningen etter virulensgener ble også utført ved hjelp av «ABRicate» i «Galaxy». Prof. Bjørn-Arne Lindstedt sin egenutviklede database kalt «MyVirDB», ble også benyttet for å screene etter virulensgener hos de tre prøvene.

Videre ble verktøyet Prokaryotic genome annotation (PROKKA) i «Galaxy» benyttet for å omgjøre sekvensdataene til leselig data i GenBank-format i Excel. Dette ble gjort for å screene etter gener som koder for syre-resistens, MDR, transportsystemer, formasjon av biofilm og metallresistens. For å bekrefte identiteten til prøve FOSS9-*E. coli*-E, MJØSA10-*Pseu*-E og FOSS2-*Serr*-, som ble gitt etter Sanger-sekvensering av 16S rRNA-genene til de respektive prøvene, ble nettsiden «Public databases for molecular typing and microbial genome diversity» (PubMLST) benyttet.

Til slutt ble plattformene «MLST 2.0.9», «SeroTypeFinder», «PAst» og «ResFinder» på nettsiden til «Center for Genomic Epidemiology» benyttet, for å finne henholdsvis sekvenstypen, *E. coli*-serotype, *P. aeruginosa*-serotype og resistensgener samt punktmutasjoner som gir resistens.

3.10 Sensitivitet mot antibakterielle midler

For å undersøke følsomheten ovenfor ni ulike typer antibiotikum hos enkelte bakterieisolater ble MIC-test benyttet. Bakterieprøvene som skulle testes ble rendyrket på respektive antimikrobielle agarskåler, ved at en steril podenål med bakterien fra biobanken ble strøket over på agarskålene ved bruk av 16-streksmetoden. Deretter ble agarskålene inkubert ved 37°C i 1 døgn. Etersom enkelte bakterieprøver ikke hadde vokst ordentlig opp, ble bakterieprøvene strøket over på nye respektive agarskåler ved hjelp av en steril podenål og ved bruk av 16-streksmetoden. Agarskålene ble satt til inkubering ved 37°C i 1 døgn.

Etter inkubering ble det laget en bakteriesuspensjon av hver enkelt bakterie ved at en liten mengde bakterie ble overført til fortynningsrør med 9,9 mL ringers-løsning (0,85% NaCl) ved hjelp av en steril podenål. Den sterile podenålen med bakterien på ble rotert i fortynningsrøret slik at bakterien løsnet fra podenålen. Deretter ble fortynningsrørene vortex-et for å få en homogen løsning med en tetthet på ca. $1-2 \times 10^8$ CFU/ml. For å undersøke om tettheten til bakteriesuspensjonen var omtrent $1-2 \times 10^8$ CFU/ml ble 10 µl bakteriesuspensjon applisert på et Brand™ Bürker-tellekammer (Thermo Fisher Scientific Inc., Göteborg, Sverige). Deretter ble antall bakterieceller til stede i en rute, samt i kolonnen over og til høyre for ruten (vedlegg

6) telt ved hjelp av et mikroskop, før antall telte bakteriekolonier ble ganget med $1,6 \times 10^5$. Dersom tettheten var høyere enn $1-2 \times 10^8$ CFU/ml, ble 100 µl av bakteriesuspensjonen overført til et nytt fortynningsrør med 9,9 mL ringers-løsning. Antall bakterieceller i den fortynnede bakteriesuspensjonen ble telt på samme måte som beskrevet ovenfor, deretter ganget med $10 \times 1,6 \times 10^5$.

Videre ble en steril bomullspinne dyppet i bakteriesuspensjonen med tetthet nærmest 2×10^8 CFU/ml, før bomullspinnen ble sveipt på Müller-Hinton-agarskåler (Thermo Scientific, Wesel, Tyskland) i tre forskjellige retninger. Ulike MIC-Test Strips (Liofilchem S.r.l., Roseto degli Abruzzi, Italia) ble deretter plassert på Müller-Hinton-agarskålene ved hjelp av en steril pinsett, før skålene ble inkubert ved 37°C i 1 døgn. Det ble laget to paralleller av hver enkelt type antibiotika som det ble testet for (tabell 12). Etter inkubering ble MIC-verdien lest av ut ifra hvor stor hemmingssonen var, samt ble gjennomsnittverdien for de to parallellene sammenlignet med kliniske brytningspunkt for MIC-verdier ($R >$) fra EUCAST for å finne ut sensitiviteten ovenfor den typen antibiotikum.

Tabell 12. Konsentrasjonen, klassen samt typen antibiotika som ble benyttet for å undersøke sensitiviteten mot antimikrobielle midler hos bakterieprøve MJØSA10-Pseu-E, FOSS2-Serratia-E og FOSS9-E. coli-E.

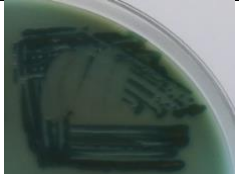



Antibiotikum	Klasse	Konsentrasjon (mg/L)
Ampicillin (Amp)	Penicilliner (utvidet spektrum)	0.016-256
Cefepime (FEP)	Kefalosporiner (fjerde generasjon)	0.002-32
Cefotaxime	Kefalosporiner (tredje generasjon)	0.016-256
Ciprofloxacin (CI)	Fluorokinoloner	0.002-32
Erythromycin (E)	Markolider	0.016-256
Meropenem (MP)	Karbapenemer	0.002-32
Nitrofurantoin (F)	Nitrofuraner	0.032-512
Penicillin G	Penicilliner	0.016-256
Tetracycline (TE)	Tetracycline-klassen	0.016-256





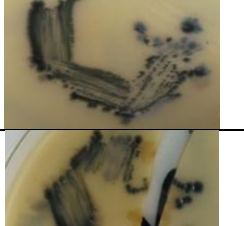
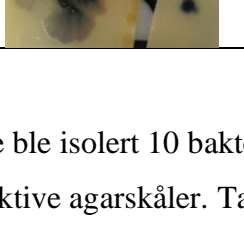
4 Resultat

4.1 Fenotypisk deteksjon

1000 µL grovfiltret vann samt et filter fra 100 µL finfiltret vann fra vannprøve M1, F1 og T1 ble dyrket opp på Brilliance™ ESBL Agar og Brilliance™ CRE Agar. Det ble observert vekst på samtlige skåler, hvorav bakteriekolonier av interesse ble rendyrket på nye respektive agarskåler. Tabell 13 viser bakterieprøvene som var av størst interesse, mens resterende bakterieprøver vises i vedlegg 2. Tabell 13 viser hvilken vannprøve bakterieprøvene ble hentet fra, veksten deres på agarskål samt hvilken farge koloniene hadde. I tillegg viser Tabell 13 antatt bakterie som ble bestemt ved hjelp av produktbladene til Brilliance™ ESBL Agar og Brilliance™ CRE Agar (Thermo Fisher Scientific Inc, u.å.; Thermo Fisher Scientific Inc., u.å.), samt resultatet fra BLAST-søket på sekvensert 16S rDNA.

Tabell 13. Resultater fra rendyrking av bakterier fra vannprøve M1, F1 og T1 på Brilliance™ ESBL Agar og Brilliance™ CRE Agar, samt resultat fra BLAST-søk på sekvensert 16S rDNA.

Prøve	Vannprøve	Petriskål	Kolonifarge	Antatt bakterie	16S rDNA BLAST-resultat
MJØSA5-Sten-C	M1		Mørkeblå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Stenotrophomonas</i> spp.
MJØSA6-Sten-C	M1		Mørkeblå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Stenotrophomonas</i> spp.
MJØSA7-Sten-C	M1		Mørkeblå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Stenotrophomonas</i> spp.
FOSS1-Sten-C	F1		Blanding av blå, grønn og brun	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Stenotrophomonas</i> spp.

MJØSA10- <i>Pseu</i> -E	M1		Brunrød	<i>Proteus</i> spp., <i>Morganella</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp. eller <i>Providencia</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>
FOSS2- <i>Serr</i> -E	F1		Turkis	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Serratia</i> spp.
FOSS3- <i>Serr</i> -E	F1		Turkis	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Serratia</i> spp.
FOSS6- <i>Serr/EB</i> -E	F1		Turkis	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Serratia</i> spp.
FOSS9- <i>E. coli</i> -E	F1		Mørkeblå/Svart	<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> stamme 18
FOSS10- <i>E. coli</i> -E	F1		Mørkeblå/Svart	<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> stamme 2022CK- 00557

Tabell 13 viser at de ble isolert 10 bakteriekolonier av interesse, hvorav alle hadde vekst ved rendyrking på respektive agarskåler. Tabellen viser at det ble isolert seks bakteriekolonier fra Fossbekken (F1) og fire fra Mjøsa (M1). Tre av de isolerte bakteriekoloniene fra Fossbekken hadde en turkis lignende farge, som indikerte at bakteriekoloniene kunne tilhøre KESC-gruppen, altså en av bakterieslektene *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. eller *Citrobacter* spp. (Thermo Fisher Scientific Inc., u.å.). BLASTn-søket gjort på konsensussekvensen av amplifisert 16S rDNA fra bakterieprøvene viste at prøvene mest trolig tilhørte bakterieslekten *Serratia* spp. Videre hadde to av de resterende bakteriekoloniene isolert fra Fossbekken en mørkeblå/svart farge, som indikerte at bakteriekoloniene tilhørte en *E. coli*-stamme. BLASTn-søket gjort på 16S rDNA fra disse bakteriene tydet på at bakteriene tilhørte henholdsvis *E. coli* stamme 18 og *E. coli* stamme 2022CK-00557. Den siste bakteriekolonien

isolert fra Fossbekken hadde en blå-grønn-brun farge, som ifølge protokollen tydet på at bakteriekolonien kunne tilhøre KESC-gruppen (Thermo Fisher Scientific Inc, u.å.). BLASTn-søket på 16S rDNA fra denne bakterien antydte at bakterien kunne tilhøre slekten *Stenotrophomonas* spp. Tre av de isolerte bakteriene fra Mjøsa hadde mørkeblå farge, som tydet på at disse bakteriekoloniene tilhørte en av bakterieslektene *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. eller *Citrobacter* spp. Resultatene fra BLASTn-søket på 16S rDNA fra disse bakterieprøvene tydet på at isolatene kunne tilhøre bakterieslekten *Stenotrophomonas* spp. Den siste bakteriekolonien isolert fra Mjøsa, kunne ifølge protokollen tilhøre en av slektene *Proteus* spp., *Morganella* spp. eller *Providencia* spp. på grunn av bakteriens brunrøde farge. Bakterieisolatet kunne imidlertid også tilhøre slekten *Pseudomonas* spp. ettersom *Pseudomonas*-slekten har vist seg å vokse med brun farge (Huang et al., 2010). BLASTn-søket gjort på konsensus-sekvensen av amplifisert 16S rDNA fra bakterieprøven tydet på at bakterien mest trolig var *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2 Sanger-sekvensering

Før bakterieprøvene kunne sendes til Sanger-sekvensering hos Eurofins i Tyskland, ble det kjørt en agarose gel-elektroforese av 16S rDNA PCR-produktene for å undersøke om det var produkt til stede. Resultatene fra gel-elektroforesen av 16S rDNA PCR-produktene vises i vedlegg 3. Totalt 31 bakterieprøver ble sendt til Sanger-sekvensering i Tyskland, og sekvenseringen av alle prøvene var vellykket. Etter Sanger-sekvensering av 16S rDNA ble det laget en konsensus-sekvens, som ble brukt for å finne bakterieidentiteten ved hjelp av BLASTn. Resultatene fra BLASTn-søket på konsensus-sekvensen til bakterieprøvene som ble sendt til sekvensering vises i vedlegg 4. BLASTn-søkene tydet på at syv av bakterieprøvene tilhørte bakterieslekten *Sphingomonas*, tolv tilhørte *Caulobacter*-slekten, fire tilhørte *Stenotrophomonas*-slekten, tre tilhørte bakterieslekten *Pseudomonas*, tre tilhørte *Serratia*-slekten, mens to tilhørte bakterieslekten *Escherichia*. Ettersom det ikke ble observert bånd hos to av prøvene var det bare 31 prøver som ble sendt til Sanger-sekvensering.

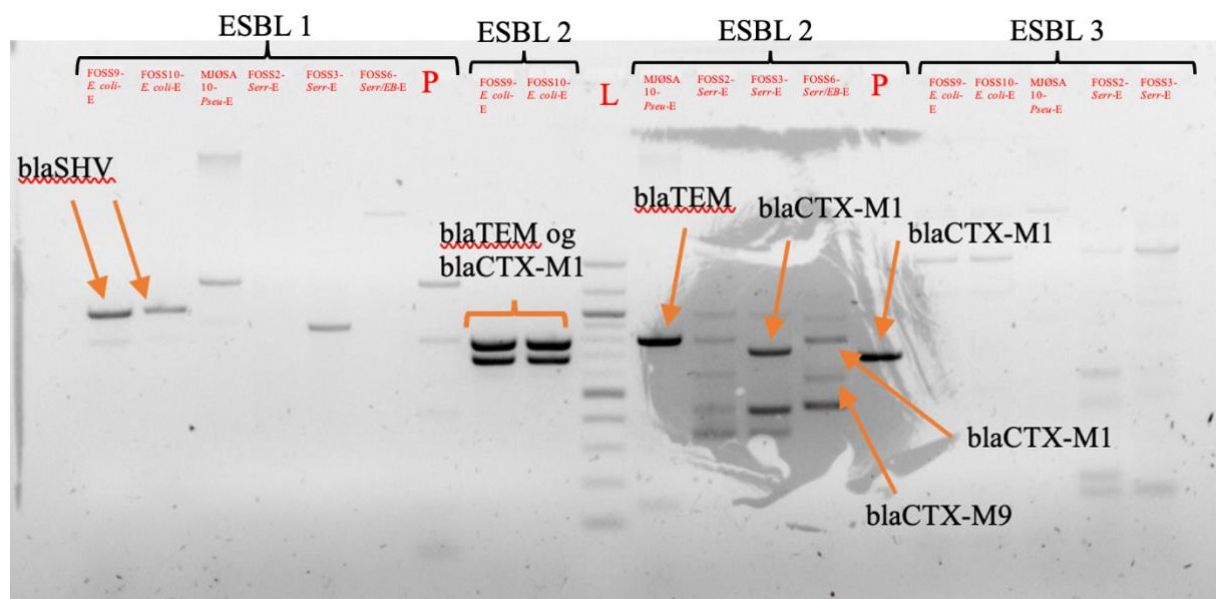
De rensede singlepleks PCR-produktene til bakterieprøve FOSS9-*E. coli*-E og FOSS10-*E. coli*-E, som var antatt å inneholde *bla*TEM- og *bla*CTX-M gruppe 1-gener ble sendt til Sanger-sekvensering hos Eurofins i Tyskland. Etter Sanger-sekvensering ble sekvensene analysert ved hjelp av BLASTn. Resultatet fra BLASTn-søket på sekvensene vises i vedlegg 5. BLASTn-søkene antydte at bakterieprøve FOSS9-*E. coli*-E innehar et gen som koder for klasse A β -laktamase (*bla*TEM) og et gen som koder for klasse A β -laktamase (*bla*CTX-M).

BLASTn-søket tydet også på at prøve FOSS10-*E. coli*-E innehar et gen som koder for et β -laktam resistensprotein (*bla*TEM) samt et gen som koder for klasse A β -laktamase (*bla*CTX-M).

4.3 Deteksjon av resistensgener

4.3.1 Agarose gel-elektroforese av multipleks PCR-produkter

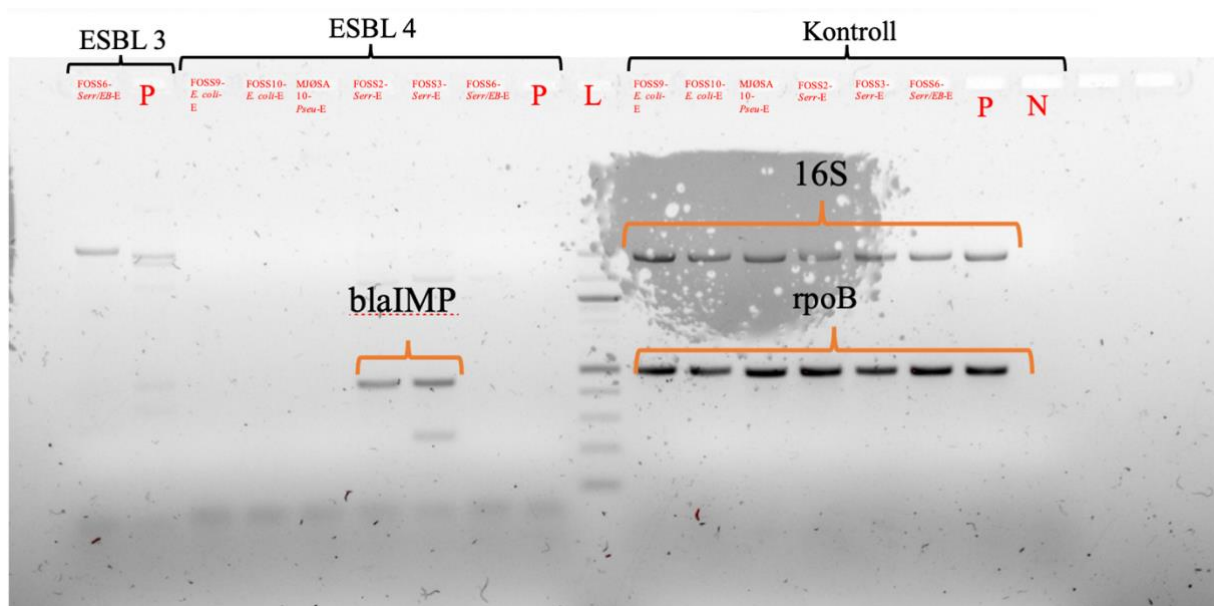
Det ble utført multipleks PCR på enkelte av de interessante bakterieprøvene for å undersøke om de hadde ESBL-resistensgener. **Error! Reference source not found.** Figur 7 viser resultatet fra agarose gel-elektroforesen for ESBL 1-3 multipleks PCR-produktene, mens **Error! Reference source not found.** viser resultatene fra agarose gel-elektroforesen for ESBL 3, 4 og kontroll multipleks PCR-produktene. Tabell 14 viser en tolkning av agarose gel-elektroforese-resultatene for ESBL 1-4 samt kontroll.



Figur 7. Gelbilde av multipleks PCR-resultater for ESBL 1 (*bla*CTX-M2, *bla*OXA og *bla*SHV), ESBL 2 (*bla*CTX-M9, *bla*CTX-M1 og *bla*TEM) og ESBL 3 (*bla*NDM, *bla*VIM og *bla*KPC) for prøve FOSS9-*E. coli*-E, FOSS10-*E. coli*-E, MJØSA10-*Pseu*-E, FOSS2-*Serr*-E, FOSS3-*Serr*-E, FOSS6-*Serr/EB*-E og positiv prøve P. Ladder er i brønnen i midten av gelen, markert med rød L.

Figur 7 viser at det ble observert flere synlige DNA-bånd hos primermiks ESBL 1-3, hvorav noen av båndene var sterkere enn andre. De synlige båndene ble sammenlignet med ladder (L), for å undersøke om størrelsen på de synlige båndene stemte overens med størrelsen på noen av ESBL-genene i primermiksen. Figuren viser at det ble observert et relativt sterkt bånd

ved ca. 900 bp hos prøve FOSS9-*E. coli*-E og et relativt svakt bånd ved ca. 1000 bp hos prøve FOSS10-*E. coli*-E i primermiks ESBL 1, som kunne tyde på *bla*SHV-gener. Videre viser figuren at det ble observert to sterke bånd ved ca. 690 bp og 790 bp hos de samme bakterieprøvene i primermiks ESBL 2, som antydte *bla*TEM- og *bla*CTX-M gruppe 1-gener. Det ble også observert et sterkt bånd ved ca. 800 bp hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E i primermiks ESBL 2, som tydet på at bakterieprøven inneholdt *bla*TEM-gener. Figur 7 viser videre at det ble observert to sterke bånd ved ca. 410 bp og 700 bp hos prøve FOSS3-*Serr*-E i primermiks ESBL 2, hvorav det kun var et bånd som antydte resistente ESBL-gener. Plasseringen på dette båndet tydet på at bakterieprøve FOSS3-*Serr*-E inneholdt gener tilhørende *bla*CTX-M gruppe 1. Det ble også observert to relativt svake bånd ved ca. 600 bp og 800 bp hos prøve FOSS6-*Serr/EB*-E i primermiks ESBL 2, som antydte *bla*CTX-M gruppe 1 og *bla*CTX-M gruppe 9-gener. Det sterke båndet ved ca. 700 bp som ble observert hos prøve P (positiv prøve) i primermiks ESBL 2, tydet på at prøve P inneholdt gener tilhørende *bla*CTX-M gruppe 1.



Figur 8. Gelbilde av multiplex PCR-resultater for ESBL 3 (*bla*NDM, *bla*VIM og *bla*KPC), ESBL 4 (*bla*CMY, *bla*OXA-48 og *bla*IMP) og kontroll (*rpoB* og 16S) for prøve FOSS9-*E. coli*-E, FOSS10-*E. coli*-E, MJØSA10-*Pseu*-E, FOSS2-*Serr*-E, FOSS3-*Serr*-E, FOSS6-*Serr/EB*-E, positiv prøve P og negativ prøve N. Ladder er i brønnen i midten av gelen, markert med rød L.

Figur 8 viser at det ble observert noen synlige DNA-bånd hos primermiks ESBL 3, 4 og kontroll, hvorav styrken på båndene var varierende. De synlige båndene ble sammenlignet med ladder (L), for å undersøke om størrelsen på de synlige båndene stemte overens med størrelsen på noen av ESBL-genene i primermiksen. Figuren viser at det ble observert to synlige bånd ved ca. 410 bp hos prøve FOSS2-*Serr-E* og FOSS3-*Serr-E* i primermiks ESBL 4, og ut fra størrelsen på båndene i forhold til ladder antydet båndene *bla*IMP-gener. Videre viser figur 4 at det ble observert to synlige bånd ved ca. 500 bp og 1500 bp for alle prøvene i primermiks Kontroll, med unntak av prøve N (negativ kontroll), hvorav et av de to synlige båndene var sterkere enn det andre. Det svakeste båndet som ble observert hos alle prøvene, med unntak av prøve N, antydet at prøvene var positive for bakterielt DNA, mens det sterke båndet antydet at prøvene var positive for enterobacteriaceae DNA.

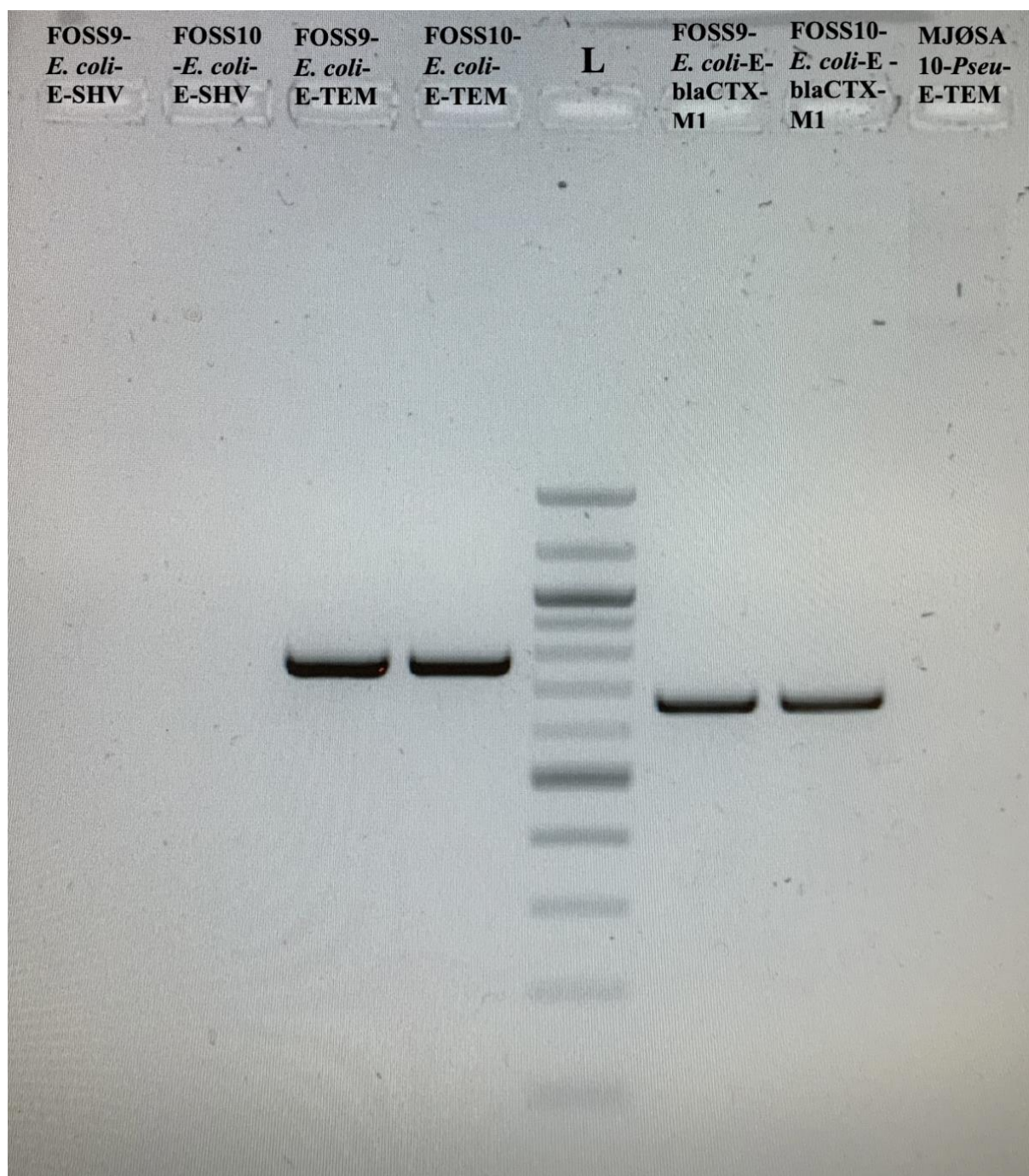
Tabell 14. Resultater fra multipleks PCR og agarose gel-elektroforese for ESBL 1-4 samt kontroll. + indikerer synlig bånd, mens – indikerer ingen synlige bånd på agarose gelen.

Prøve	Vannprøve	ESBL 1	ESBL 2	ESBL 3	ESBL 4	Kontroll
FOSS9- <i>E. coli-E</i>	F1	+	+	-	-	+
FOSS10- <i>E. coli-E</i>	F1	+	+	-	-	+
MJØSA10- <i>Pseu-E</i>	M1	-	+	-	-	+
FOSS2- <i>Serr-E</i>	F1	-	-	-	+	+
FOSS3- <i>Serr-E</i>	F1	-	+	-	+	+
FOSS6- <i>Serr/EB-E</i>	F1	-	+	-	-	+
Positiv kontroll		-	+	-	-	+
Negativ kontroll		-	-	-	-	-

Tabell 14 viser en tolkning av agarose gel-elektroforese-resultatene for ESBL 1-4 samt kontroll. Tabellen viser at prøve FOSS9-*E. coli-E* og FOSS10-*E. coli-E* hadde positive bånd i både primermiks ESBL 1 og primermiks ESBL 2. Videre viser Tabell 14 at det ble observert synlig bånd hos prøve MJØSA10-*Pseu-E* i primermiks ESBL 2, samt at det ble observert synlig bånd hos prøve FOSS2-*Serr-E* i primermiks ESBL 4. Det ble også observert synlige bånd hos prøve FOSS3-*Serr-E* i både primermiks ESBL 2 og primermiks ESBL 4. For prøve FOSS6-*Serr/EB-E* og positiv kontroll viser Tabell 14 at det ble observert synlige bånd i primermiks ESBL 2.

4.3.2 Agarose gel-elektroforese av singlepleks PCR-produkter

For å finne ut hvilke ESBL-resistensgener de positive prøvene fra multipleks PCR hadde, ble det kjørt singlepleks PCR på disse prøvene. Figur 9 viser resultatet fra agarose gel-elektroforesen for prøve FOSS9-*E. coli*-E, FOSS10-*E. coli*-E og MJØSA10-*Pseu*-E, hvor målgenene var *bla*SHV, *bla*TEM, og *bla*CTX-M gruppe 1. Vedlegg 10 viser resultatet fra agarose gel-elektroforesen for de resterende prøvene det ble kjørt singlepleks PCR på. Tabell 15 viser en tolkning av agarose gel-elektroforese-resultatene for samtlige prøver det ble kjørt singlepleks PCR på.



Figur 9. Gelbilde av singlepleks PCR for prøve FOSS9-*E. coli-E*, FOSS10-*E. coli-E* og MJØSA10-*Pseu-E* med målgen *bla*^{SHV}, *bla*^{TEM}, *bla*^{CTX-M1}. Ladder er i brønnen i midten av gelen, markert med L.

Figur 9 viser at det ble observert fire synlige bånd, hvorav to var hos prøve FOSS9-*E. coli-E* og to var hos FOSS10-*E. coli-E*. De synlige båndene ble sammenlignet med ladderen (L), for å undersøke om størrelsen på båndene stemte overens med størrelsen på målgenet. Figuren viser at det ble observert et sterkt bånd ved ca. 790 bp hos prøvene FOSS9-*E. coli-E* og FOSS10-*E. coli-E* hvor målgenet var *bla*^{TEM}. Plasseringen på båndene i forhold til ladderens antydte at prøvene FOSS9-*E. coli-E* og FOSS10-*E. coli-E* inneholdt *bla*^{TEM}-gener. Videre ble

det også observert et sterkt bånd ved ca. 690 bp hos de samme bakterieprøvene hvor målgenet var *bla*CTX-M gruppe 1. Størrelsen på båndene i forhold til ladderer tyder på at bakterieprøvene FOSS9-*E. coli*-E og FOSS10-*E. coli*-E inneholdt *bla*CTX-M gruppe 1-gener.

Tabell 15. Resultater fra singlepleks PCR for målgenene *bla*CTX-M2, *bla*OXA, *bla*SHV, *bla*CTX-M9, *bla*CTX-M1, *bla*TEM, *bla*CMY, *bla*OXA-48 og *bla*IMP. + indikerer synlig bånd, mens – indikerer ingen synlige bånd på agarose gel-elektroforese.

Prøve	Vann prøve	ESBL 1			ESBL 2			ESBL 4		
		<i>bla</i> CTX-M2	<i>bla</i> OXA	<i>bla</i> SHV	<i>bla</i> CTX-M9	<i>bla</i> CTX-M1	<i>bla</i> TEM	<i>bla</i> CMY	<i>bla</i> OXA-48	<i>bla</i> IMP
FOSS9- <i>E. coli</i> -E	F1	-	-	-	-	+	+	-	-	-
FOSS10- <i>E. coli</i> -E	F1	-	-	-	-	+	+	-	-	-
MJØSA10- <i>Pseu</i> -E	M1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FOSS2- <i>Serr</i> -E	F1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FOSS3- <i>Serr</i> -E	F1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FOSS6- <i>Serr</i> / <i>EB</i> -E	F1	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabell 15 viser en tolkning av agarose gel-elektroforese-resultatene for prøve FOSS9-*E. coli*-E, FOSS10-*E. coli*-E, MJØSA10-*Pseu*-E, FOSS2-*Serr*-E, FOSS3-*Serr*-E og FOSS6-*Serr*/*EB*-E. Tabellen viser at prøve FOSS9-*E. coli*-E og FOSS10-*E. coli*-E hadde positive bånd hvor målgenet var *bla*TEM og *bla*CTX-M gruppe 1, som antydte at bakterieprøvene inneholdt *bla*CTX-M gruppe 1- og *bla*TEM-gener. Det ble ikke observert synlige bånd hos resterende bakterieprøver.

4.4 Deteksjon av virulensgener

Det ble utført singlepleks PCR på de trolig *E. coli*-bakteriene for å undersøke om de innehar virulensgener. Tabell 16 viser en tolkning av agarose gel-elektroforese-resultatene for prøve FOSS6-*Serr/EB-E*, FOSS9-*E. coli-E* og FOSS10-*E. coli-E*.

Tabell 16. Resultater fra singlepleks PCR for virulensgenene *Stx1*, *Stx2*, *eaeA*, *ST1b*, *LTI*, *ipaH* og *aggR*. + indikerer synlig bånd, mens – indikerer ingen synlige bånd på agarose gel-elektroforesen. * indikerer at det ikke var forventet noe resultat.

Prøve	Vannprøve	Stx1	Stx2	eaeA	ST1b	LTI	ipaH	aggR
FOSS6- <i>Serr/EB-E</i> *	F1	-	-	-	-	-	-	-
FOSS9- <i>E. coli-E</i>	F1	-	-	-	-	-	-	-
FOSS10- <i>E. coli-E</i>	F1	-	-	-	-	-	-	-

Tabell 16 viser at det ikke ble observert noen synlige bånd for de ulike virulensgenene det ble testet for hos bakterieprøve FOSS6-*Serr/EB-E*, FOSS9-*E. coli-E* og FOSS10-*E. coli-E*.

Primerne fungerer ikke for *Serratia*-slekten, og det var derfor ikke forventet resultat hos prøve FOSS6-*Serr/EB-E*.

4.5 Helgenomsekvensering

Etter helgenomsekvensering ble bakterieprøvene identifisert ved hjelp av PubMLST. Prøve FOSS9-*E. coli-E* ble identifisert til å være *Escherichia coli* ST131 med serotype O16:H5 og fylotype B2, mens prøve MJØSA10-*Pseu-E* var *Pseudomonas aeruginosa* ST308 med serotype O11. Identiteten til prøve FOSS2-*Serr-E* kunne ikke bestemmes, men det er stor sannsynlighet for at bakterien var *Serratia* spp. Tabell 17 viser hvilke bakterier PubMLST antok at prøve FOSS2-*Serr-E* kunne være.

Tabell 17. Identiteten til prøve FOSS2-*Serr-E* funnet ved hjelp av «PubMLST».

Organisme	Identitet (%)
<i>Serratia fonticola</i>	81
<i>Pseudomonas koreensis</i>	7
<i>Castellaniella denitrificans</i>	3
<i>Pseudomonas protegens</i>	1

4.5.1 Screening etter viktige resistensgener

For å screene etter viktige resistensgener hos prøve FOSS9-*E. coli*-E, ble «assembly»-sekvensen til prøve FOSS9-*E. coli*-E skannet med «The Bacterial Antimicrobial Resistance Reference Gene Database» fra NCBI. Resultatene fra screeningene vises i tabell 18. Alle resistensgener funnet hos prøve FOSS9-*E. coli*-E ved hjelp av «Comprehensive Antibiotic Resistance Database» vises i vedlegg 12.

Tabell 18. Viktige resistensgener funnet hos prøve FOSS9-*E. coli*-E ved hjelp av «The Bacterial Antimicrobial Resistance Reference Gene Database» fra NCBI.

Resistensgen	Prosent identitet (%)	Coverage (%)	Resistent mot	Kommentar
blaEC-5	99.47	100.00	Kefalosporiner	Kefalosporin-hydrolyserende klasse C B-laktamase EC-5
blaCTX-M-15	100.00	100.00	Kefalosporiner	Klasse A utvidet-spektrum B-laktamase CTX-M-15
blaTEM-1	100.00	100.00	B-laktam	Klasse A utvidet-spektrum B-laktamase TEM-1

Tabell 18 viser at prøve FOSS9-*E. coli*-E innehar resistensgenene blaCTX-M-15 og blaTEM-1, som begge koder for klasse A utvidet-spektrum β -laktamaser. Prøve FOSS9-*E. coli*-E innehar også resistensgenet blaEC-5, som koder for en kefalosporin-hydrolyserende klasse C β -laktamase.

Tabell 19 viser viktige resistensgener funnet hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E etter at «assembly»-sekvensen ble skannet med «The Bacterial Antimicrobial Resistance Reference Gene Database» fra NCBI. Alle resistensgener funnet hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E ved hjelp av «Comprehensive Antibiotic Resistance Database» vises i vedlegg 13.

Tabell 19. Viktige resistensgener funnet hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E ved hjelp av «The Bacterial Antimicrobial Resistance Reference Gene Database» fra NCBI.

Resistensgen	Prosent identitet (%)	Coverage (%)	Resistent mot	Kommentar
<i>aph(3')-IIb</i>	100.00	100.00	Kanamycin	Aminoglykosid O-fosfotransferase APH(3')-IIb
blaOXA-488	100.00	100.00	B-laktam	OXA-50 familie oksacillin-hydrolyserende klasse D β -laktamase OXA-488

blaPDC-19a	100.00	100.00	Cephalosporin	Klasse C β -laktamase PDC-19a
catB7	98.59	100.00	Kloramfenikol	Type B-4 kloramfenikol O-acetyltransferase CatB7
crpP	94.44	100.00	Fluorokinoloner	Ciprofloxacin resistensprotein CrpP
fosA-354827590	99.75	100.00	Fosfomycin	FosA-familie fosfomycin resistens glutation transferase

Tabell 19 viser at prøve MJØSA10-*Pseu*-E innehar seks viktige resistensgener. MJØSA10-*Pseu*-E innehar resistensgenet *aph(3')-IIb* som koder for et kromosomalt aminoglykosid-fosfotransferase-gen som forårsaker resistens mot en rekke aminoglykosider (Zeng & Jin, 2003). Resistensgenet blaOXA-488 som er en klasse D β -laktamase og resistensgenet blaPDC-19a som er en klasse C β -laktamase, ble også observert hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E. catB7 koder for et enzym som katalyserer overføringen av acetyl fra acetyl-CoA til et kloramfenikol-molekyl (Mülhardt & Beese, 2007; Wang & Liu, 2004). Videre ble også resistensgenene crpP, som koder for et modifierende enzym som gir resistens mot en rekke fluorokinoloner, og fosA-354827590, som gir resistens mot fosfomycin, observert (Hernández-García et al., 2021).

For å screene etter viktige resistensgener hos prøve FOSS2-*Serr*-E, ble «assebly»-sekvensen til prøve FOSS9-*E. coli*-E skannet med «The Bacterial Antimicrobial Resistance Reference Gene Database» fra NCBI. Det ble observert at prøve FOSS2-*Serr*-E innehar et resistensgen som var 96.17% likt resistensgenet blaFONA-6, som er en klasse A β -laktamase.

Ettersom identiteten til prøve FOSS2-*Serr*-E ikke kunne fastslås, ble det også screenet for viktige resistensgener ved å sammenligne FONA-proteinene til prøve FOSS2-*Serr*-E med den mest kjente FONA-varianten, FONA-8. FONA-8 er en klasse A β -laktamase. Det ble observert at FONA-varianten til prøve FOSS2-*Serr*-E hadde en mutasjon sammenlignet med FONA-8, hvor da alanin var mutert til valin i posisjon 24.

Det vil si at prøve FOSS2-*Serr*-E har en FONA-variant som ikke er navnsatt enda. FONA-proteinet i prøve FOSS2-*Serr*-E ble skannet med proteindatabasen «blastp» fra NCBI, og da ble det observert at *Serratia* sp. PL7 (NZ_CAMFLB010000042.1) og *Serratia fonticola* strain SF_ES21a-W (NZ_VKMJ01000245.1.) har proteinsekvenser som er en 100% match til

FONA-proteinet i prøve FOSS-Serr-E. Vedlegg 14 viser viktige resistensgener funnet hos prøve FOSS2-Serr-E ved hjelp av «Comprehensive Antibiotic Resistance Database».

4.5.2 Screening etter viktige virulensgener

«Assembly»-sekvensen til prøve FOSS9-*E. coli*-E ble skannet ved hjelp av databasen «Virulence Factor Database for *E. coli*» (ecoli_vf) for å screene etter viktige virulensgener. Tabell 20 viser de viktigste virulensgenene funnet hos prøve FOSS9-*E. coli*-E, mens resterende virulensgener finnes i vedlegg 15. «Assembly»-sekvensen ble også skannet med Professor Bjørn-Arne Lindstedt sin egen database «MyVirDB», hvorav de viktigste virulensgenene presenteres i tabell 21. Øvrige virulensgener funnet med databasen «MyVirDB» finnes i vedlegg 16.

Tabell 20. Viktige virulensgener identifisert hos prøve FOSS9-*E. coli*-E ved hjelp av Virulence Factor Database for *E. Coli* (ecoli_vf).

Virulensgen	Prosent identitet (%)	Coverage (%)	Kommentar
afaA	100.00	100.00	fimbrial hovedsubenhet AfaA
afaD	100.00	100.00	AfaD
afaE-I	100.00	100.00	AFA-I adhesin
draP	98.85	100.00	DraP
daaF	98.68	100.00	DaaF protein
fyuA	100.00	100.00	TonB-avhengig siderofor-reseptor underfamilie
irp1	99.92	100.00	ikke-ribosomal peptidsyntase (yersiniabaktin siderofor biosyntetisk protein)
irp2	99.92	100.00	ikke-ribosomal peptidsyntase (yersiniabaktin siderofor biosyntetisk protein)
iucA	99.89	100.00	aerobactin siderofor biosyntese protein
iucB	100.00	100.00	aerobactin siderofor biosyntese protein
iucC	100.00	100.00	aerobactin siderofor biosyntese protein
iucD	99.92	100.00	L-lysin 6-monooksygenase
iutA	100.00	100.00	Jern (ferric) aerobactin reseptor forløper IutA
kpsM	100.00	100.00	<i>E. coli</i> kpsM og kpsT gener involvert i polysakkaridtransport
malx	98.92	100.00	<i>Escherichia coli</i> stamme CFT073 β -cystathionase (r3) gen delvis cds, MalX (malX) og sacpa operon antiterminator R1 (r1) gener komplette cds, og F447 (f447) gen delvis cds.
papA	99.49	99.83	hovedpilin subenhet PapA
papB	98.73	99.68	pap operon regulatorisk protein PapB
papI	95.54	87.91	fimbrial regulatorisk protein
papX	100.00	100.00	PapX protein
sat	100.00	100.00	Sekretert autotransportør toksin
sitA	99.56	100.00	antatt jerntransportprotein periplasmisk-bindende protein SitA
sitB	99.64	100.00	SitB protein
sitC	100.00	100.00	jerntransporter indre membrankomponent
sitD	100.00	100.00	jerntransportprotein indre membrankomponent

trat	99.73	100.00	Plasmid R100 (fra <i>E. coli</i>) komplement resistens (traT) gen.
upaG/ehaG	100.00	100.00	Hypotetisk protein
usp	100.00	100.00	Uropatogent spesifikt protein

Tabell 20 viser at FOSS9-*E. coli*-E innehar 27 viktige virulensgener funnet ved «virulence Factor Database for *E. Coli*». *AfaA*, *afaD* og *afaE-I* er virulensgener som koder for afimbrielle adhesiner, som gjør det mulig for bakterier å feste seg til vevsoverflater hos verten (Garcia et al., 1994; Klemm & Schembri, 2000). Virulensgenet *fyuA* koder for en jern-yersiniabaktin-reseptor som er assosiert med uropatogene *E. coli*-stammer (Hancock et al., 2008; Spurbeck et al., 2012). *Irp1* og *irp2* er virulensgener som koder for to proteiner involvert i yersiniabaktin biosyntese (Pelludat et al., 1998). Fire virulensgener, *iucA*, *iucB*, *iucC* og *iucD*, som alle koder for proteiner er involvert i biosyntese av siderofor samt *iutA*, som koder for et ytre membranprotein som virker som en reseptor for jern-aerobaktin-komplekset, ble også identifisert (De Lorenzo & Neilands, 1986). *KpsM* er et virulensgen som koder for et membranprotein som er involvert i transporten av polysakkarider. Videre ble genen *malX*, som er assosiert med UPEC og er en del av en patogenisitets-øy (PAI) funnet (Yazdanpour et al., 2020). Videre ble *papA*-genet som koder for Pap pilli subenhet, *papB* som koder for et Pap operon regulatorisk protein, *PapI* som koder for et fimbrial regulatorisk protein og *papX* som koder for et ikke strukturelt protein identifisert (Båga et al., 1984; Reiss & Mobley, 2011). Virulensgenene *papA*, *papB*, *papI* og *papX* er alle en del av et genkluster som medierer produksjonen av pilli i uropatogen *E. coli* (Båga et al., 1985). Virulensgenet *sat* er en virulensderminat, som koder for et sekretert autotransportør protein som er involvert i patogenisiteten til uropatogene *E. coli*-stammer (Guyer et al., 2000). *SitA*, *sitB*, *sitC* og *sitD* som er en del av sitABCD-systemet hos bakterier ble også funnet. Virulensgenene koder for henholdsvis to proteiner (*sitAB*) og to membranproteiner (*sitCD*) som er involvert i jern- og mangantransport (Mbanga & Nyararai, 2015). *traT*-genet som er ansvarlig for komplement-resistensen til R100-plasmidet ble også identifisert (Binns et al., 1982). Videre ble også genen *upaG/ehaG*, som koder for et hypotetisk protein assosiert til UPEC funnet. *upaG* er involvert i adhesjon til humane blæreepitelceller, mens *ehaG* er en posisjonell ortolog av *upaG* (Totsika et al., 2012). Til slutt ble virulensgenet *usp*, som koder for et uropatogent spesifikt protein assosiert med UPEC identifisert (Yamamoto et al., 2001). *daaF* er en del av F1845 fimbriae-systemet, mens *draP* er en del av Afa/Dr Fimbriae-systemet (Servin, 2005).

Tabell 21. Viktige virulensgener funnet hos prøve FOSS9-*E. coli*-E ved hjelp av Professor Bjørn-Arne Lindstedt sin egen database «MyVirDB».

Gen	Kommentar	% Nukleotid match
aec35	Del av en selC-assosiert genomisk øy av den ekstraintestinale fuglepatogene <i>Escherichia coli</i> -stammen BEN2908	100
aec36	Del av en selC-assosiert genomisk øy av den ekstraintestinale fuglepatogene <i>Escherichia coli</i> -stammen BEN2908	99.93
afaA	AFA-III adhesin operon regulatorisk protein. Afa, et diffust fibrillært adhesin assosiert med enteropatogene <i>Escherichia coli</i>	100
afaE-1	Et adhesin assosiert med uropatogen <i>E. coli</i> .	100
autA	AutA og AutR, to nye globale transkripsjonsregulatorer, Facilitate fuglepatogen <i>Escherichia coli</i> -infeksjon	99.75
autR	AutA og AutR, to nye globale transkripsjonsregulatorer, Facilitate fuglepatogen <i>Escherichia coli</i> -infeksjon	99.34
c0426/upaB	Autotransportør (AT) adhesin fra UPEC-stamme CFT073	96.7
c0478/upaC	Autotransportør (AT) adhesin fra UPEC-stamme CFT073	98.8
c4485	UPEC-spesifikt gen identifisert ved bruk av CGH og in silico BSR-analyse av ti UPEC og fire fekale/kommensale stammer (Lloyd et al., 2007).	99.63
c4759	UPEC-spesifikt gen identifisert ved bruk av CGH og in silico BSR-analyse av ti UPEC og fire fekale/kommensale stammer (Lloyd et al., 2007).	99.35
fmlA (F9-fimbriae)	F9 Fimbriae av uropatogen <i>Escherichia coli</i> uttrykkes ved lav temperatur (Wurpel et al., 2014).	96.45
irp2	Yersiniabactin biosyntetisk protein. irp2- og fyuA-genene på øyer med høy patogenitet er involvert i patogenesen av infeksjoner forårsaket av fuglepatogen <i>Escherichia coli</i> (APEC).	99.41
papC	PapC-genet til uropatogen <i>Escherichia coli</i> er nødvendig for dannelsen av digalaktosid-bindende Pap pili (Norgren et al., 1987).	95.25
papX	PapX, en P fimbrial operon-kodet hemmer av motilitet i uropatogen <i>Escherichia coli</i> .	100
usp	<i>E. coli</i> uropatogene spesifikke protein (Usp) er et genotoksin aktivt mot pattedyrceller og er assosiert med stammer som provoserer prostatitt, pyelonefritt og bakteriemi	95.52
yehO (Autotransportør adhesin)	yehO spiller en rolle i patogenisiteten til APEC-stammen SEPT362. YehO-genet er sterkt uttrykt i lungene og milten under in vivo-infeksjonsanalyser av stamme SEPT362 (Pilatti et al., 2016)	97.71

Tabell 21 viser at prøve FOSS9-*E. coli*-E innehar 16 viktige virulensgener funnet ved Professor Bjørn-Arne Lindstedt sin egen database «MyVirDB», hvorav fem virulensgener også ble funnet ved databasen «Virulence Factor Database for *E. Coli*». *aec35* koder for en antatt transkripsjonsregulator av LacI-familien, mens *aec36* koder for en stor facilitator-superfamilie transportør (Chouikha et al., 2006). *aec35* og *aec36* er begge en del av en selC-assosiert genomisk-øy av den ekstraintestinale fuglepatogene *Escherichia coli*-stammen BEN2908. Virulensgenene *autA* og *autR* koder for to nye globale transkripsjonsregulatorer assosiert med fuglepatogen *E. coli*-infeksjon. Videre ble *upaB* og *upaC* som begge koder for

autotransportør adhesin assosiert med UPEC-stamme CFT073 identifisert. Virulensgenene *c4485* og *c4759* er to UPEC-spesifikke gener identifisert i ti UPEC og fire fekale/kommensale stammer (Lloyd et al., 2007). *fmlA* (F9-fimbriae), som er en funksjonell chaperone-usher fimbrial type som fremmer dannelsen av *E. coli* biofilmer, ble også funnet (Wurpel et al., 2014). *papC*-genet er nødvendig for at digalaktosid-bindende Pap pili skal kunne dannes i uropatogen *Escherichia coli* (Norgren et al., 1987). Til slutt ble genet *ychO*, som koder for et protein som er antatt å fungere som en adhesin i APEC-stammen SEPT362, funnet (Pilatti et al., 2016).

For å screene etter sentrale virulensgener hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E og prøve FOSS2-*Serr*-E ble «assembly»-sekvensen til prøve MJØSA10-*Pseu*-E og FOSS2-*Serr*-E skannet ved hjelp av databasen «Virulence Factor Database». Ingen av virulensgenene observert hos verken MJØSA10-*Pseu*-E eller FOSS2-*Serr*-E ble ansett til å være svært viktige, og samtlige virulensgener for prøve MJØSA10-*Pseu*-E vises derfor i vedlegg 17, mens virulensgenene observert hos prøve FOSS2-*Serr*-E finnes i vedlegg 18.

4.5.3 Screening etter antibiotikaresistens

For å finne hvilke resistensgener og punktmutasjoner som gir resistens prøve FOSS9-*E. coli*-E innehar, ble konsensus-sekvensen skannet ved bruk av databasen «ResFinder». Tabell 22 viser hvilke antibiotikum prøve FOSS9-*E. coli*-E er resistent mot, samt hvilke resistensgener prøven innehar. Vedlegg 19 viser alle antibiotikaene prøve FOSS9-*E. coli*-E ble screenet for resistens mot.

Tabell 22. Antibiotikum og syre/desinfeksjonsmiddel prøve FOSS9-*E. coli*-E er resistent mot, samt hvilke resistensgen prøven innehar ifølge databasen ResFinder.

Antibiotikum	Klasse	Anslått fenotype basert på WGS	Genetisk bakgrunn
Amoxicillin	β-laktam	Resistent	blaTEM-1B (blaTEM-1B_AY458016), blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
Ampicillin	B-laktam	Resistent	blaTEM-1B (blaTEM-1B_AY458016), blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
Aztreonam	B-laktam	Resistent	blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
Cefepime	B-laktam	Resistent	blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)

Cefotaxime	B-laktam	Resistent	blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
Ceftazidime	B-laktam	Resistent	blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
Ceftriaxone	B-laktam	Resistent	blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
Cephalothin	B-laktam	Resistent	blaTEM-1B (blaTEM-1B_AY458016)
Ciprofloxacin	Kinoloner	Resistent	gyrA (p.S83L)
Hydrogen peroksid	Peroksid	Resistent	sitABCD (sitABCD_AY598030)
Nalidixinsyre	Kinoloner	Resistent	gyrA (p.S83L)
Piperacillin	B-laktam	Resistent	blaTEM-1B (blaTEM-1B_AY458016), blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
Ticarcillin	B-laktam	Resistent	blaTEM-1B (blaTEM-1B_AY458016), blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)

Tabell 22 viser at prøve FOSS9-*E. coli*-E er resistent mot 12 ulike typer antibiotikum som tilhører tre forskjellige klasser og et desinfeksjonsmiddel/syre ifølge databasen «ResFinder». FOSS9-*E. coli*-E er resistent mot 10 ulike β -laktam-antibiotika, hvorav resistensen mot amoxicillin, ampicillin, piperacillin og ticarcillin er forårsaket av resistensgenene blaTEM-1B og blaCTX-M-15. Videre viser tabell 22 at resistensgenet blaCTX-M-15 er årsaken til at FOSS9-*E. coli*-E er resistent mot aztreonam, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone. Resistensen mot cephalothin, som ble identifisert hos prøve FOSS9-*E. coli*-E, skyldes resistensgenet blaTEM-1B. Prøven er også resistent mot ciprofloxacin og nalidixinsyre, som begge tilhører klassen kinoloner. Resistensen mot ciprofloxacin og nalidixinsyre skyldes resistensgenet *gyrA*, mens resistensen mot hydrogenperoksid, som ble identifisert, skyldes sitABCD-systemet.

«Konsensus»-sekvensen til prøve MJØSA10-*Pseu*-E ble skannet ved bruk av databasen «ResFinder», for å finne hvilke resistensgener og punktmutasjoner som gir resistens prøve MJØSA10-*Pseu*-E innehar. Hvilke antibiotikum prøve MJØSA10-*Pseu*-E er resistent mot, samt hvilke resistensgener prøven innehar presenteres i tabell 23. Alle antibiotikaene prøve MJØSA10-*Pseu*-E ble screenet for resistens mot presenteres i vedlegg 20.

Tabell 23. Antibiotikum MJØSA10-*Pseu-E* er resistent mot, samt hvilke resistensgen prøven innehar ifølge databasen ResFinder.

Antibiotikum	Klasse	Anslått fenotype basert på WGS	Genetisk bakgrunn
Amoxicillin	B-laktam	Resistent	blaPAO (blaPAO_AY083592)
Ampicillin	B-laktam	Resistent	blaPAO (blaPAO_AY083592)
Butiromycin	Aminoglykosid	Resistent	aph(3')-IIb (aph(3')-IIb_X90856)
Cefepime	B-laktam	Resistent	blaPAO (blaPAO_AY083592)
Ceftazidime	B-laktam	Resistent	blaPAO (blaPAO_AY083592)
Kloramfenikol	amfenikol	Resistent	catB7 (catB7_AF036933)
Ciprofloxacin	kinolon	Resistent	crpP (crpP_HM560971)
Fosfomycin	fosfomycin	Resistent	fosA (fosA_ACWU01000146)
Gentamicin	aminoglykosid	Resistent	aph(3')-IIb (aph(3')-IIb_X90856)
Kanamycin	aminoglykosid	Resistent	aph(3')-IIb (aph(3')-IIb_X90856)
Neomycin	aminoglykosid	Resistent	aph(3')-IIb (aph(3')-IIb_X90856)
Paromomycin	aminoglykosid	Resistent	aph(3')-IIb (aph(3')-IIb_X90856)
Ribostamycin	aminoglykosid	Resistent	aph(3')-IIb (aph(3')-IIb_X90856)
Ukjent β -laktam	B-laktam	Resistent	blaOXA-488 (blaOXA-488_CP017969)

Tabell 23 viser at prøve MJØSA10-*Pseu-E* er resistent mot 14 ulike typer antibiotikum fem forskjellige klasser ifølge databasen «ResFinder». Prøven er resistent mot butiromycin, gentamicin, kanamycin, neomycin, paromomycin og ribostamycin som alle er aminoglykosider. Resistensen mot disse seks aminoglykosidene skyldes resistensgenet *aph(3')-IIb*. Videre viser tabell 23 at prøve MJØSA10-*Pseu-E* er resistent mot fem β -laktam-antibiotika, hvor resistensen mot amoxicillin, ampicillin, cefepime og ceftazidime er forårsaket av blaPAO. Resistensgenet blaOXA-488 er årsaken til resistensen mot det siste β -laktam-antibiotikaet, som er et ukjent antibiotikum. MJØSA10-*Pseu-E* er også resistent mot kloramfenikol, ciprofloxacin og fosfomycin, hvorav resistensen er forårsaket av henholdsvis *catB7*, *crpP* og *fosA*.

For å screene etter hvilke punktmutasjoner som gir resistens samt hvilke resistensgener prøve FOSS2-*Serr-E* innehar, ble «konsensus»-sekvensen skannet ved bruk av databasen «ResFinder». Det ble observert at prøve FOSS2-*Serr-E* var resistent mot et ukjent β -laktam-antibiotika, som er forårsaket av resistensgenet blaFONA-6 (blaFONA-6_AJ251244). Alle antibiotikaene prøve FOSS2-*Serr-E* ble screenet for resistens mot presenteres i vedlegg 21.

4.5.4 Screening etter gener som koder for metallresistens

For å undersøke om prøve FOSS9-*E. coli-E* innehar gener som koder for metallresistens, ble sekvensdataene omgjort til leselig data i GenBank-format i excel ved hjelp av verktøyet

«Prokaryotic genome annotation (PROKKA)» i «Galaxy». Hvilke metall-resistensgener prøve FOSS9-*E. coli*-E innehar presenteres i tabell 24.

Tabell 24. Viktige metall-resistensgener funnet hos prøve FOSS9-*E. coli*-E ved hjelp av «Rapid prokaryotic genome annotation (PROKKA)».

Gener som koder for metallresistens	Kommentar
bhsA	Ytre membranprotein involvert i kobberpermeabilitet, stressresistens og dannelse av biofilm
ybbM	Antatt metallresistens-protein
rcnA	Membranprotein som gir nikkel- og koboltresistens

FOSS9-*E. coli*-E innehar tre gener som er involvert i resistens mot metaller. Resistensgenet *bhsA*, som koder for et ytre membranprotein som er involvert i kobberpermeabilitet, stressresistens og dannelse av biofilm, ble identifisert. *ybbM*, som koder for et antatt metallresistens-protein, ble også funnet. I tillegg ble også *rcnA* som koder for et membranprotein som forårsaker nikkel- og koboltresistens identifisert.

Verktøyet «PROKKA» i «Galaxy» ble benyttet for å screene etter metall-resistensgener hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E. Tabell 25 viser hvilke gener som koder for metallresistens prøve MJØSA10-*Pseu*-E innehar.

Tabell 25. Viktige metall-resistensgener funnet hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E ved hjelp av Rapid prokaryotic genome annotation (PROKKA).

Gener som koder for metallresistens	Kommentar
<i>czcC</i>	Kobolt-sink-kadmium-resistens protein CzcC
<i>czcA</i>	Kobolt-sink-kadmium-resistens protein CzcA
<i>czcB</i>	Kobolt-sink-kadmium-resistens protein CzcB
<i>arsR2</i>	Arsen-resistens transkripsjonsregulator
<i>copB</i>	Kobber-resistens protein B
<i>copA</i>	Kobber-resistens protein A

Tabell 25 viser at MJØSA10-*Pseu*-E innehar seks gener som er assosiert med metallresistens. Resistensgenene *czcA*, *czcB* og *czcC*, som alle koder for et kobolt-sink-kadmium-resistens protein, ble identifisert. Videre ble *copA* og *copB*, som koder for kobber-resistens protein A og kobber-resistens protein B funnet. *arsR2*, som koder for en Arsen-resistens transkripsjonsregulator, ble også identifisert.

For å finne ut om prøve FOSS2-*Serr*-E innehar gener som koder for metallresistens, ble verktøyet «PROKKA» i «Galaxy» benyttet. Metall-resistensgenene funnet hos prøve FOSS2-*Serr*-E presenteres i tabell 26.

Tabell 26. Viktige gener som koder for metallresistens funnet hos prøve FOSS2-*Serr*-E ved hjelp av verktøyet «Rapid prokaryotic genome annotation (PROKKA)».

Gener som koder for metallresistens	Kommentar
<i>pcoC</i>	Kobber-resistens protein C
<i>acr3</i>	Arsenikk resistens protein Acr3
<i>cnrA</i>	Nikkel- og kobolt-resistens protein CnrA
<i>copA</i>	Kobber-resistens protein A
<i>arsR2</i>	Arsen-resistens transkripsjonsregulator
<i>czcC</i>	Kobolt-sink-kadmium-resistens protein CzcC
<i>czcB</i>	Kobolt-sink-kadmium-resistens protein CzcB
<i>czcA</i>	Kobolt-sink-kadmium-resistens protein CzcA

De åtte resistensgenene prøve FOSS2-*Serr*-E innehar som er involvert i metallresistens presenteres i tabell 26. *pcoC* som koder for kobber-resistens protein C, og *copA* som koder for kobber-resistens protein A ble identifisert. Videre ble også *acr3* som koder for et arsenikk-resistens protein, og *arsR2* som koder for en arsen-resistens transkripsjonsregulator funnet. Resistensgenet *cnrA*, som ble identifisert i prøve FOSS2-*Serr*-E, koder for et nikkel- og kobolt-resistens protein. I tillegg ble *czcA*, *czcB* og *czcC*, som alle koder for et kobolt-sink-kadmium-resistens protein identifisert.

4.5.5 Screening etter gener som koder for MDR

For å undersøke om prøve FOSS9-*E. coli*-E innehar gener som koder for MDR, ble sekvensdataene omgjort til leselig data i GenBank-format i excel ved hjelp av verktøyet «Prokaryotic genome annotation (PROKKA)» i «Galaxy». Det ble ikke observert noen MDR-gener hos FOSS9-*E. coli*-E.

Verktøyet «PROKKA» i «Galaxy» ble benyttet for å screene etter MDR-gener hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E. Tabell 27 viser hvilke gener som koder for MDR prøve MJØSA10-*Pseu*-E innehar.

Tabell 27. Viktige multidrug-resistensgener identifisert hos prøve MJØSA10-Pseu-E ved bruk av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Resistensgen	Kommentar
mdtA	Multidrug resistens protein MdtA
mdtB	Multidrug resistens protein MdtB
mexA	Multidrug resistens protein MexA
mdtE	Multidrug resistens protein MdtE
mdtD	Antatt multidrug resistens protein MdtD
mdtC	Multidrug resistens protein MdtC
mdtK	Multidrug resistens protein MdtK
mexB	Multidrug resistens protein MexB
mexR	Multidrug resistens operon repressor
bmrA	Multidrug resistens ABC transporter
stp	Multidrug resistens protein Stp

I tabell 27 presenteres de 11 genene involvert i MDR so ble funnet hos prøve FOSS9-*E. coli*-E. Både *mdtA*, *mdtB* og *mdtC* koder for et MDR-protein som er involvert i et RND-legemiddel-effluks-system (Nagakubo et al., 2002). Videre ble *mdtD*, som koder for en antatt stor facilitator-superfamilie multidrug effluks pumpe funnet (Leblanc et al., 2011). Genet *mdtE*, som koder for et MDR-protein involvert i mdtEF-toIC tredelt effluks-systemet, identifisert (Miryala & Ramaiah, 2019). *mdtK*, som koder for «multidrug and toxic compound extrusion (Moremi et al.)» familiens multidrug transportør ble også funnet (Horiyama et al., 2010; Pietsch et al., 2016). I tillegg ble både *mexA* og *mexB*, som koder for et MDR-protein involvert i effluks-systemet MexAB-OprM identifisert (Srikumar et al., 2000). Videre ble også *mexR* som koder for en MDR operon repressor funnet. Til slutt ble *bmrA*, som koder for en MDR ABC-transportør, og *stp* som koder for et MDR-protein funnet.

For å finne ut om prøve FOSS2-*Serr*-E innehar gener som koder for MDR, ble verktøyet «PROKKA» i «Galaxy» benyttet. MDR-genene funnet hos prøve FOSS2-*Serr*-E presenteres i tabell 28.

Tabell 28. Viktige multidrug-resistensgener identifisert hos prøve FOSS2-*Serr*-E ved bruk av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Resistensgen	Kommentar
mdtO	Multidrug resistens protein MdtO
mdtN	Multidrug resistens protein MdtN
stp	Multidrug resistens protein Stp
bmr3	Multidrug resistens protein 3
mdtA	Multidrug resistens protein MdtA
mdtH	Multidrug resistens protein MdtH
mdtD	Antatt multidrug resistens protein MdtD

mdtC	Multidrug resistens protein MdtC
mdtB	Multidrug resistance protein MdtB
emrY	Antatt multidrug resistens protein EmrY
emrK	Antatt multidrug resistens protein EmrK
mdtK	Multidrug resistens protein MdtK
emrD	Multidrug resistens protein D
mdtL	Multidrug resistens protein MdtL
yheI	Antatt multidrug resistens ABC transporter
mdlB	Multidrug resistens lignende ATP-bindende protein
norM	Multidrug resistens protein NorM
mexA	Multidrug resistens protein MexA
mexB	Multidrug resistens protein MexB
mdtG	Multidrug resistens protein MdtG
bmrA	Multidrug resistens ABC transportør

Tabell 28 viser at prøve FOSS2-*Serr-E* innehar 21 gener som assosieres med MDR. Genene *mdtA*, *mdtB*, *mdtC* og *mdtK* som koder for MDR-proteiner samt *mdtD* som koder for en antatt multidrug effluks-pumpe ble identifisert. *mdtO* som koder for multidrug effluks-system komponent og *mdtN* som koder for et MDR-protein involvert i legemiddel transport ble også funnet (Ranjith et al., 2019). Genet *mdtH*, som koder for et MDR-protein involvert i et stort facilitator-superfamilie multidrug effluks-system ble identifisert (Debroy et al., 2020). I tillegg ble både *mdtG* og *mdtL* som koder for legemiddel-efflukspumper funnet (Yu et al., 2020). Genene som ble identifisert som *emrY* og *emrK* koder for antatte MDR-proteiner, mens *emrD* koder for et MDR-protein. Videre ble også *mexA*, *mexB* og *stp* som alle koder for et MDR-protein samt *bmrA* som koder for en MDR ABC-transportør funnet. Et tredje multidrug transportør gen, *bmr3*, som koder for et MDR-protein ble også identifisert (Ohki & Murata, 1997). Til slutt ble *yheI*, som koder for en antatt MDR ABC-transportør, *mdlB* som koder for et MDR-lignende ATP-bindende protein og *norM* som koder for et MDR-protein funnet.

4.5.6 Screening etter gener som koder for resistens mot syrer og desinfeksjonsmidler

For å undersøke om prøve FOSS9-*E. coli-E* innehar gener som koder for resistens mot syrer og/eller desinfeksjonsmidler, ble sekvensdataene omgjort til leselig data i GenBank-format i excel ved hjelp av verktøyet «Prokaryotic genome annotation» i «Galaxy». Hvilke resistensgener prøve FOSS9-*E. coli-E* innehar mot syrer og/eller desinfeksjonsmidler presenteres i tabell 29.

Tabell 29. Viktige gener som koder for resistens mot syrer og desinfeksjonsmidler identifisert hos prøve FOSS9- *E. coli*-E ved bruk av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Gen	Kommentar
yagU	Indre membranprotein som bidrar til syrerestens
ydeP	Syre-resistens protein
ariR	Regulator for syrerestens, påvirket av indol
yhiM	Indre membranprotein med en rolle i syrerestens
hdeA	Syre-resistent membran protein, mulig chaperone
hdeD	Syre-resistent membran protein
yicO	Antatt membranprotein med forbindelse til resistens mot novobiocin og deoxycholate
yceO	Lite protein involvert i dannelse av biofilm og respons på syrestress
mdfA	Resistensgen som virker på kvartenære ammoniumforbindelser (QAC)
sugE	Resistensgen som virker på kvartenære ammoniumforbindelser (QAC)

Tabell 29 viser at prøve FOSS9- *E. coli*-E innehar ti gener som er involvert i resistens mot syrer og/eller desinfeksjonsmidler. *yagU* og *yhiM*, som begge koder for et indre membranprotein som bidrar til syrerestens, og *ydeP* som koder for er syre-resistens protein ble identifisert. *hdeA* og *hdeD*, som begge koder for syrerestente membranproteiner, hvorav *hdeA* er en mulig chaperone, ble også funnet. Videre ble resistensgenene *mdfA* og *sugE*, som virker på kvartenære ammoniumforbindelser (QAC) identifisert. *ariR*, som koder for en regulator for syrerestens ble også funnet. I tillegg ble *yceO* som koder for et lite protein som er involvert i dannelse av biofilm og respons på syrestress samt *yicO* som koder for et antatt membranprotein assosiert med resistens mot novobiocin og deoxycholat identifisert.

Verktøyet «PROKKA» i «Galaxy» ble benyttet for å screene etter gener som koder for resistens mot syrer og/eller desinfeksjonsmidler hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E. Tabell 30 viser hvilke gener prøve MJØSA10-*Pseu*-E innehar som koder for syrerestens og/eller resistens mot desinfeksjonsmidler.

Tabell 30. Viktige gener som koder for resistens mot syrer og desinfeksjonsmidler identifisert hos prøve MJØSA10-*pseu*-E ved bruk av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Gen	Kommentar
yaaA	Peroksid stress resistens protein YaaA
ohrB	Organisk hydroperoksid resistens protein OhrB
ohrR	Organisk hydroperoksid resistens transkripsjons regulator
farB	Fettsyre-resistens protein FarB

De fire resistensgenene assosiert med resistens mot syrer og/eller desinfeksjonsmidler som ble funnet hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E presenteres i tabell 30. Resistensgenet *yaaA* som koder

for et peroksid stressresistens protein, samt *farB* som koder for et fettsyre-resistens protein ble identifisert. I tillegg ble *ohrB* som koder for et organisk hydroperoksid resistens protein, og *ohrR* som koder for en organisk hydroperoksid resistens transkripsjonsregulator funnet.

For å finne ut om prøve FOSS2-*Serr-E* innehar gener som koder for resistens mot syrer og/eller desinfeksjonsmidler, ble verktøyet «PROKKA» i «Galaxy» benyttet. Genene som koder for syrer resistens og/eller resistens mot desinfeksjonsmidler funnet hos prøve FOSS2-*Serr-E* presenteres i tabell 31.

Tabell 31. Viktige gener som koder for resistens mot syrer og desinfeksjonsmidler identifisert hos prøve FOSS2-*Serr-E* ved bruk av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Resistensgen	Kommentar
<i>ohrB</i>	Organisk hydroperoksid resistens protein OhrB
<i>ohrR</i>	Organisk hydroperoksid resistens transkripsjons regulator
<i>yaaA</i>	Peroksid stress resistens protein YaaA

Tabell 31 viser at det ble identifisert tre resistensgener assosiert med syre- og desinfeksjonsresistens i prøve FOSS2-*Serr-E*. *yaaA* som koder for et peroksid stressresistens protein, *ohrB* som koder for et organisk hydroperoksid resistens protein, og *ohrR* som koder for en organisk hydroperoksid resistens transkripsjonsregulator ble identifisert.

4.5.7 Screening etter toksiner og antitoksiner

For å undersøke om prøve FOSS9-*E. coli-E* innehar toksiner og antitoksiner, ble sekvensdataene omgjort til leselig data i GenBank-format i excel ved hjelp av verktøyet «Prokaryotic genome annotation» i «Galaxy». Hvilke toksiner/antitoksiner prøve FOSS9-*E. coli-E* innehar presenteres i tabell 32.

Tabell 32. Viktige toksiner og antitoksiner identifisert hos prøve FOSS9-*E. coli-E* ved bruk av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Gen	Toksin/antitoksin
<i>hipB</i>	HipB-HipA antitoksin/toksinkompleks og DNA-bindende transkripsjonsrepressor
<i>cbeA</i>	CP4-44-profag, antitoksin fra CbtA-CbeA-toksin-antitoksinsystemet
<i>cbtA</i>	CP4-44-profag, toksin fra CbtA-CbeA toksin-antitoksin-systemet
<i>higA</i>	Antitoksin fra HigB-HigA toksin-antitoksin-systemet
<i>higB</i>	Translasjonsavhengig mRNA-interferase, toksin fra HigB-HigA toksin-antitoksin-systemet
<i>prIF</i>	PrIF antitoksin
<i>pspC</i>	PspC transkripsjonsregulator, toksin fra et PspC-PspB toksin-antitoksin-par
<i>pspB</i>	Stimulerer PspC-mediert transkripsjonell aktivering av psp-operonet, antitoksin fra et PspC-PspB-toksin-antitoksin-par

<i>higB-2</i>	Toksin HigB-2
<i>ccdA</i>	Antitoksin CcdA
<i>ccdB</i>	Toksin CcdB
<i>ldrD</i>	LdrD-peptid av LdrD-RdID-toksin-antitoksinsystemet
<i>tabA</i>	Toksin-antitoksin biofilmprotein
<i>cptA</i>	Toksin fra CptA-CptB toksin-antitoksin-systemet
<i>cptB</i>	Antitoksin fra CptA-CptB toksin-antitoksin-systemet
<i>higA-2</i>	Antitoksin HigA-2
<i>relE2</i>	Toksin RelE2
<i>ratA</i>	50S ribosomalt underenhetsbindende toksin av et forutsagt toksin-antitoksin-par
<i>yoeB</i>	Toksin fra YoeB-YefM toksin-antitoksin-paret
<i>yefM</i>	YefM-antitoksin av YoeB-YefM-toksin-antitoksin-paret og DNA-bindende transkripsjonsrepressor
<i>higB2</i>	Antatt toksin HigB2
<i>higA1</i>	Antitoksin HigA1
<i>hipA</i>	Serin/treonin-protein kinase toksin HipA
<i>higB-1</i>	Toksin HigB-1

Tabell 32 presenterer de 24 toksingenene som ble funnet hos prøve FOSS9-*E. coli*-E. Genene *higB-1*, *higB-2*, *relE2* og *higB2* som koder for henholdsvis toksin HigB-1, toksin HigB-2, toksin RelE2 og antatt toksin HigB2 ble identifisert. Videre ble *higA1* som koder for antitoksin HigA1 og *higA-2* som koder for Antitoksin HigA-2 funnet. Toksingenet *hipA* koder for serin/treonin-proteinkinase toksinet HipA, mens toksingenet *hipB* koder for et DNA-bindende protein som er en *hipA*-repressor (Falla & Chopra, 1998; Korch et al., 2003). *ccdB* som koder for toksinet CcdB og *ccdA* som koder for antitoksinet CcdA ble også identifisert. Videre ble også *cbtA* som koder for et toksin fra CbtA-CbeA toksin-antitoksinsystemet og *cbeA* som koder for et antitoksin fra CbtA-CbeA-toksin-antitoksinsystemet funnet. *higA* koder for et antitoksin fra HigB-HigA toksin-antitoksinsystemet, mens *higB* koder for en translasjonsavhengig mRNA-interferase assosiert med HigB-HigA toksin-antitoksinsystemet. Videre koder *yefM* for YefM-antitoksinet og *yoeB* koder for et toksin, hvorav begge tilhører YoeB-YefM-toksin-antitoksinparet. Tabell 32 viser videre at *tabA* som koder for et toksin-antitoksin biofilmprotein, *cptA* som koder for et toksin fra CptA-CptB toksin-antitoksinsystemet og *cptB* som koder for et antitoksin fra CptA-CptB toksin-antitoksinsystemet ble identifisert. Toksingenet *ldrD* som ble funnet koder for et LdrD-peptid av LdrD-RdID-toksin-antitoksinsystemet, mens genet *prlF* koder for PrlF antitoksin. I tillegg ble *ratA*, som koder for et 50S-ribosomalt underenhetsbindende toksin av et antatt toksin-antitoksin-par identifisert. Til slutt ble også *pspC* som koder for et toksin fra et PspC-PspB toksin-antitoksinpar og *pspB* som koder for et antitoksin fra et PspC-PspB-toksin-antitoksinpar funnet.

Verktøyet «PROKKA» i «Galaxy» ble benyttet for å screene etter toksiner og antitoksiner hos prøve MJØSA10-*Pseu-E*. Tabell 33 viser hvilke toksiner/antitoksiner prøve MJØSA10-*Pseu-E* innehar.

Tabell 33. Viktige toksiner og antitoksiner identifisert hos prøve MJØSA10-*Pseu-E* ved bruk av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Gen	Toksin/antitoksin
tcpE	Toksin co-regulert pilus biosyntese protein E
parE1	Toksin ParE1
toxR	Eksotoksin A regulatorisk protein
apxIB	Toxin RTX-I translokasjon ATP-bindende protein
ratA	Ribosom assosiasjons toksin RatA
eta	Eksotoksin A
vgrG1	Aktin-tverrbindende toksin VgrG1

Tabell 33 viser at MJØSA10-*Pseu-E* innehar 7 toksingener. *tcpE* som koder for et toksin ko-regulert pilus biosyntese protein, og *toxR* som koder for et eksotoksin A regulatorisk protein ble identifisert. Videre ble *apxIB* som koder for et toksin RTX-I translokasjon ATP-bindende protein, og *ratA* som koder for et ribosom assosiasjonstoksin også identifisert. I tillegg ble *parE1*, som koder for toksinet ParE1 som hindrer celledeling, samt *eta* som koder for Eksotoksin A som blant annet kan hemme proteinsyntese funnet (Allured et al., 1986; Fiebig et al., 2010). Til slutt ble også *vgrG1* som koder for det aktin-tverrbindende toksinet VgrG1 identifisert.

For å finne ut om prøve FOSS2-*Serr-E* innehar toksiner og antitoksiner, ble verktøyet «PROKKA» i «Galaxy» benyttet. Toksiner og/eller antitoksiner funnet hos prøve FOSS2-*Serr-E* presenteres i tabell 34.

Tabell 34. Viktige toksiner og antitoksiner identifisert hos prøve FOSS2-*Serr-E* ved bruk av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Gen	Toksin/antitoksin
higB2	Antatt toksin HigB2
vgrG1	Aktin-tverrbindende toksin VgrG1
apxIB_1	Toksin RTX-I translokasjon ATP-bindende protein
hokC	Giftig protein HokC
hipA	Serin/treonin-protein kinase toksin HipA
hipB	Antitoksin HipB
ccdB	Toksin CcdB
ltxB_1	Leukotoksin eksport ATP-bindende protein LtxB

ratA	Ribosom assosiasjonstoksin RatA
pasI	Persistens og stressresistent antitoksin
ghoS	Endoribonuklease antitoksin GhoS
ghoT	Toksin GhoT
tomB	Hha toksisitetsmodulator TomB
relE	mRNA interferase toksin RelE
relB	Antitoksin RelB
tdeA	Giftstoff og legemiddeleksportprotein A
higA	Antitoksin HigA
yenB	Toksin underenhet YenB
yafQ	mRNA interferase toksin YafQ
symE	Giftig protein SymE
mazE	Antitoksin MazE
mazF	Endoribonuklease-toksin MazF
fitB	Toksin FitB

Prøve FOSS2-*Serr*-E innehar 23 toksingener, hvorav alle presenteres i tabell 34. Genene *higB2*, *vgrG1*, *ccdB*, *ghoT* og *fitB* koder for henholdsvis antatt toksin HigB2, aktin-tverrbindende toksin VgrG1, toksin CcdB, toksin GhoT og toksin FitB. Videre ble *hipB* som koder for antitoksin HipB, *relB* som koder for antitoksin RelB, *higA* som koder for antitoksinet HigA og *mazE* som koder for antitoksin MazE identifisert. *apxIB* som ble identifisert koder for et toksin RTX-I translokasjon ATP-bindende protein, mens *hokC* koder for det toksiske proteinet HokC. *hipA* og *ratA*, som nevnt tidligere, koder for henholdsvis serin/treonin-proteinkinase toksinet HipA og ribosom assosiasjonstoksinet RatA. Videre ble genene *mazF* som koder for endoribonuklease-toksin MazF, og *ghoS* som koder for endoribonuklease antitoksin GhoS identifisert. *itxB* koder for det leukotoksin eksport ATP-bindende proteinet LtxB, mens *tdeA* koder for toksin og legemiddeleksport-protein A. I tillegg ble *symE* som koder for toksisk protein SymE og *yenB* som koder for toksin underenhet YenB identifisert. *relE* koder for mRNA interferase toksin RelE og *yafQ* koder for mRNA interferase toksin YafQ. Til slutt ble også *pasI* som koder for et persistens og stressresistent antitoksin, samt *tomB* som koder for Hha toksisitetsmodulator TomB identifisert.

4.5.8 Gener involvert i dannelsen av biofilm

For å undersøke om prøve FOSS9-*E. coli*-E innehar gener som bidrar til biofilmdannelse, ble sekvensdataene omgjort til leselig data i GenBank-format i excel ved hjelp av verktøyet «Prokaryotic genome annotation» i «Galaxy». Hvilke biofilmgener prøve FOSS9-*E. coli*-E innehar presenteres i tabell 35.

Tabell 35. Viktige biofilm-gener funnet hos prøve FOSS9-*E. coli*-E ved hjelp av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Gener som koder for metallresistens	Kommentar
<i>bhsA</i>	Ytre membranprotein involvert i kobberpermeabilitet, stress-resistens og biofilmdannelse
<i>flu</i>	CP4-44-profag, antigen 43 (Ag43) fasevariabel biofilmdannelse autotransportør
<i>bssR</i>	Regulator for biofilmdannelse
<i>pgaD</i>	Indre membranprotein involvert i biofilmdannelse
<i>yceO</i>	Lite protein involvert i biofilmdannelse og syrestressrespons
<i>bssS</i>	Regulator av biofilmdannelse
<i>tabA</i>	Toksin-antitoksin biofilmprotein
<i>bdm</i>	Biofilmavhengig modulasjonsprotein
<i>ymgC</i>	Protein involvert i biofilmdannelse

De ni genene FOSS9-*E. coli*-E innehar som er assosiert til biofilmdannelse presenteres i tabell 34. Genene *bhsA* og *yceO*, som er nevnt tidligere i avsnitt 4.5.4 ble funnet. Videre ble *bssR* og *bssS* som begge koder for en regulator involvert i biofilmdannelse identifisert. *ymgC* som koder for et protein som er involvert i biofilmdannelse, og *pgaD* som koder for et indre membranprotein involvert i biofilmdannelse ble også identifisert. I tillegg ble *bdm* som koder for et biofilmavhengig modulasjonsprotein, og *tabA* som koder for et toksin-antitoksin biofilmprotein funnet. Genet *flu*, som koder for det ytre membranproteinet antigen 43 ble i tillegg funnet (Van der Woude & Henderson, 2008).

Verktøyet «PROKKA» i «Galaxy» ble benyttet for å screene etter gener involvert i biofilmdannelse hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E. Tabell 36 viser biofilm-gener prøve MJØSA10-*Pseu*-E innehar.

Tabell 36. Viktige biofilm-gener funnet hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E ved hjelp av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Resistensgen	Kommentar
<i>bdcA</i>	Syklisk-di-GMP-bindende biofilm spredningsformidler protein
<i>wspC</i>	Antatt biofilmdannelse metyltransferase <i>wspC</i>
<i>bdIA</i>	Biofilm dispersjonsprotein <i>BdIA</i>

Tabell 36 viser at MJØSA10-*Pseu*-E innehar tre gener som er involvert i biofilmdannelse. *bdIA* som koder for et biofilm dispersjonsprotein, og *bdcA* som koder for et syklisk-di-GMP-bindende biofilm spredningsformidler protein ble identifisert. Genet *wspC*, som koder for en antatt biofilmdannelse metyltransferase ble også identifisert.

For å finne ut om prøve FOSS2-*Serr-E* innehar gener knyttet til biofilmdannelse, ble verktøyet «PROKKA» i «Galaxy» benyttet. Gener involvert i dannelse av biofilm funnet hos prøve FOSS2-*Serr-E* presenteres i tabell 37.

Tabell 37. Viktige biofilm-gener funnet hos prøve FOSS2-*Serr-E* ved hjelp av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Resistensgen	Kommentar
<i>bdlA</i>	Biofilm dispersjonsprotein BdlA
<i>bdcA</i>	Syklisk-di-GMP-bindende biofilm spredningsformidler protein
<i>wspC</i>	Antatt biofilmdannelse metyltransferase WspC
<i>bigR</i>	Biofilm vekstassosiert repressor

Tabell 37 presenterer de fire genene assosiert med biofilmdannelse som ble funnet hos prøve FOSS2-*Serr-E*. Genet *wspC*, som koder for en antatt biofilmdannelse metyltransferase ble identifisert, i likhet med *bdlA* som koder for et biofilm dispersjonsprotein. I tillegg ble *bdcA* som koder for et syklisk-di-GMP-bindende biofilm spredningsformidler protein, og genet *bigR* som koder for en biofilm vekstassosiert repressor identifisert.

4.5.9 Efflukspumper

For å undersøke om prøve FOSS9-*E. coli-E* innehar gener som koder for efflukspumper, effluks-transportører og effluks-systemer, ble sekvensdataene omgjort til leselig data i GenBank-format i excel ved hjelp av verktøyet «Prokaryotic genome annotation» i «Galaxy». Hvilke efflukspumper, effluks-transportører og effluks-systemer prøve FOSS9-*E. coli-E* innehar vises i tabell 38.

Tabell 38. Viktige gener som koder for efflukspumper, effluks-transportører og effluks-systemer funnet hos prøve FOSS9-*E. coli-E* ved hjelp av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Gen	Kommentar
<i>MdfA</i>	Multidrug effluks transportør MdfA
<i>MdtG</i>	Multidrug effluks transportør MdtG
<i>MdtE</i>	MdtEF-TolC multidrug effluks transport system - membranfusjonsprotein
<i>MdtF</i>	MdtEF-TolC multidrug effluks transport system - permease subenhet
<i>Bcr</i>	Multidrug effluks transportør Bcr
<i>MdtA</i>	MdtABC-TolC multidrug effluks transport system - antatt membranfusjonsprotein
<i>MdtB</i>	MdtABC-TolC multidrug effluks transport system - membranunderenhet
<i>MdtC</i>	MdtABC-TolC multidrug effluks transport system - membran subenhet
<i>EmrD</i>	multidrug effluks transportør EmrD
<i>MdtL</i>	multidrug effluks transportør MdtL

sdsR	SdsRQP multidrug effluks transport system - predikert membranfusjonsprotein
sdsQ	SdsRQP multidrug effluks transportsystem - ukarakterisert komponent
sdsP	SdsRQP multidrug effluks transport system - predikert ytre membranfaktor
emrA	EmrAB-TolC multidrug effluks transport system - membranfusjonsprotein
emrB	EmrAB-TolC multidrug effluks transportsystem - membranunderenhet
EmrE	Multidrug effluks transportør EmrE
MdtM	Multidrug effluks transportør MdtM
MdtK	multidrug effluks transportør MdtK
acrE	AcrEF-TolC multidrug effluks transport system - membranfusjonsprotein
acrF	AcrEF-TolC multidrug effluks transport system - permease subenhet
emrK	EmrKY-TolC multidrug effluks transport system - membranfusjonsprotein
emrY	EmrKY antatt multilegemiddel effluk stransportør – membran underenhet
acrD	AcrAD-TolC multidrug effluks transportsystem - permease subenhet
crcB	F- efflukstransportør / involvert i resistens

FOSS9-*E. coli*-E innehar 24 gener som vises i tabell 38. Genene *mdfA*, *mdtG*, *mdtL*, *mdtM*, *mdtK*, *emrD*, *emrE* og *bcr* ble identifisert, hvorav alle koder for en multidrug effluks transportør. Videre ble *mdtA*, *mdtB* og *mdtC* som er involvert i MdtABC-TolC multidrug effluks transportsystemet, samt *mdtE* og *mdtF* som er involvert i MdtEF-TolC multidrug effluks-transportsystem funnet. *mdtA* koder for et antatt membranfusjonsprotein og *mdtB* samt *mdtC* koder for en membran subenhet, mens *mdtE* koder for et membranfusjonsprotein og *mdtF* koder for en permease subenhet. Genene *sdsR*, *sdsQ* og *sdsP* som ble funnet, er tilknyttet SdsRQP multidrug effluks transportsystemet, hvorav *sdsR* koder for et forutsagt membranfusjonsprotein, *sdsQ* for en ukarakterisert komponent og *sdsP* forutsagt ytre membranfaktor. I tillegg ble *emrA* og *emrB* som er en del av EmrAB-TolC multidrug effluks transportsystemet identifisert. *emrA* koder for et membranfusjonsprotein, mens *emrB* koder for en membran subenhet. *acrD* koder for en permase subenhet involvert i AcrAD-TolC multidrug effluks transportsystemet, mens *crcB* koder for en F-effluks transportør involvert i resistens. *acrE* og *acrF* ble også funnet, hvorav *acrE* koder for et membranfusjonsprotein og *acrF* koder for en permase subenhet. Til slutt ble også *emrK* som koder for et membranfusjonsprotein og *emrY* som koder en membran subenhet.

Verktøyet «PROKKA» i «Galaxy» ble benyttet for å screene etter koder for efflukspumper, effluks-transportører og effluks-systemer hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E. Tabell 39 viser efflukspumper, effluks-transportører og effluks-systemer prøve MJØSA10-*Pseu*-E innehar.

Tabell 39. Viktige gener som koder for efflukspumper, effluks-transportører og effluks-systemer funnet hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E ved hjelp av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Gen	Kommentar
-----	-----------

acrB	Multidrug effluks pumpe underenhet AcrB
mntP	Antatt mangan effluks pumpe MntP
czcD	Metall kation effluks system protein CzcD
aaeB	p-hydroksybenzoyl effluks pumpe underenhet AaeB
aaeA	p-hydroksybenzoyl effluks pumpe underenhet AaeA
jefA	Legemiddel effluks pumpe JefA
kefB	Glutation-regulert kalium-effluks system protein kefB
ttgF	Toluene efflukspumpe ytre membranprotein TtgF
acrA	Multidrug effluks pumpe subenhet AcrA
bepF	Effluks pumpe periplasmatisk linker BepF
oqxB7	multidrug effluks RND transporter permease subenhet OqxB7
corC	Magnesium og kobolt effluks protein CorC
fieF	Effluks pumpe for jernholdig jern FieF
acrB	Multidrug effluks pumpe underenhet AcrB

Tabell 39 viser at prøve MJØSA10-Pseu-E innehar 13 gener som er assosiert med effluks-systemer. *acrA* som koder for multidrug efflukspumpe subenhet AcrA og *acrB* som koder for multidrug efflukspumpe subenhet AcrB ble identifisert. *aaeA* koder for p-hydroksybenzoyl efflukspumpe subenhet AaeA, mens *aaeB* koder for p-hydroksybenzoyl efflukspumpe subenhet AaeB. Genet *czcD* som koder for metall kation effluksystem protein CzcD, og genet *jefA* som koder for legemiddel efflukspumpe JefA ble identifisert. Videre koder *mntP* for antatt mangan efflukspumpe MntP, *corC* koder for magnesium og kobolt effluksprotein CorC, mens *fieF* koder for efflukspumpe for jernholdig jern FieF. I tillegg ble *kefB* som koder for glutation-regulert kalium-effluksystem protein KefB og *ttgF* som koder for toluene efflukspumpe ytre membranprotein TtgF identifisert. Til slutt ble også *bepF* som koder for efflukspumpe periplasmatisk linker BepF og *oqxB7* som koder for multidrug effluks RND transportør permease subenhet OqxB7 funnet.

For å finne ut om prøve FOSS2-Serr-E innehar gener som koder for efflukspumper, effluks-transportører og effluks-systemer, ble verktøyet «PROKKA» i «Galaxy» benyttet. Efflukspumper, effluks-transportører og effluks-systemer funnet hos prøve FOSS2-Serr-E presenteres i tabell 40.

Tabell 40. Viktige gener som koder for efflukspumper, effluks-transportører og effluks-systemer funnet hos prøve FOSS2-Serr-E ved hjelp av «Rapid prokaryotic genome annotation».

Gen	Kommentar
Ukjent	Antatt multidrug-effluks transporter
BepC	Ytre membran-effluksprotein BepC
ttgC	Antatt effluks pumpe ytre membranprotein
TtgB	Antatt effluks pumpe membran transportør TtgB

TtgA	Antatt effluks pumpe periplasmatisk linker TtgA
TtgI	Toluen effluks pumpe ytre membranprotein TtgI
TtgI	Multidrug effluks pumpe underenhet TtgI
AaeB	p-hydroksybenzoic syre effluks pump subenhet AaeB
AaeA	p-hydroksybenzoic syre effluks pump subenhet AaeA
MntP	Antatt mangan effluks pumpe MntP
FieF	Effluks pumpe av jernholdig jern FieF
Ukjent	Antatt multidrug-effluks transportør
JefA	Legemiddel effluks pumpe JefA
AcrA	Multidrug effluks pumpe underenhet AcrA
ttgD	Toluen effluks pumpe periplasmatisk linkerprotein ttgD
TtgF	Toluen effluks pumpe ytre membranprotein TtgF
OqxB9	Multidrug effluks RND transporter permease subenhet OqxB9
BepF	Effluks pumpe periplasmatisk linker BepF
OqxB7	Multidrug effluks RND transportør permease subenhet OqxB7
BepG	Effluks pumpe membran transportør BepG
AcrZ	Multidrug effluks pumpe tilleggsprotein AcrZ
MneP	Mangan effluks system protein MneP
BepE	Effluks pumpe membran transporter BepE
CorC	Magnesium og kobolt effluks protein CorC
Ukjent	Kloramfenikol efflukspumpe

De 25 genene som assosieres med effluks-systemer som ble identifisert i prøve FOSS2-*Serr-E* presenteres i tabell 40. Både *ttgI*, *ttgC* og *ttgF*, som koder for et toluen efflukspumpe ytre membranprotein, mens *ttgB* koder for en antatt efflukspumpe membrantransportør TtgB. *aaeA* koder for p-hydroksybenzoic syre effluks pump subenhet AaeA og *aaeB* koder for p-hydroksybenzoic syre effluks pump subenhet AaeB. *mntP* koder for antatt mangan efflukspumpe MntP, *fieF* koder for efflukspumpe av jernholdig jern FieF og *jefA* koder for legemiddel-efflukspumpe JefA. Videre ble *bepC* som koder for ytre membranprotein effluksprotein BepC og *mneP* som koder for mangan effluks-system protein MneP identifisert. Genet *acrA* som koder multidrug efflukspumpe subenhet AcrA og genet *arcZ* som koder for multidrug efflukspumpe tilleggsprotein AcrZ ble i tillegg identifisert. *oqxB7* koder for multidrug effluks RND transportør-permease subenhet OqxB7 og *oqxB9* koder for multidrug effluks RND transportør-permease subenhet OqxB9. *ttgA* koder for antatt efflukspumpe periplasmatisk linker TtgA, mens *ttgD* koder for toluen efflukspumpe periplasmatisk linkerprotein ttgD. Videre koder både *bepE* og *bepG* for en effluks pumpe membran transportør, mens *bepF* koder for effluks pumpe periplasmatisk linker BepF. *corC* koder for magnesium og kobolt effluks protein CorC. Til slutt ble 3 ukjente gener, hvorav 2 koder for en antatt multidrug-effluks transportør og 1 for en kloramfenikol efflukspumpe.

4.5.10 Plasmider

For å undersøke om prøve FOSS9-*E. coli*-E innehar plasmider ble verktøyet «PlasmidFinder 2.0» benyttet. Hvilke plasmider prøve FOSS9-*E. coli*-E innehar presenteres i tabell 42.

Tabell 41. Viktige plasmider identifisert hos FOSS9-*E. coli*-E ved hjelp av «PlasmidFinder 2.0».

Plasmid	Prosent identitet (%)	Query / Templat lengde	Accession
IncFII(29)	96.91	259 / 259	CP003035
IncFII(pEH01)	97.93	726 / 726	CP063521.1
IncI1-I(Alpha)	100	142 / 142	AP005147
IncI2(Delta)	98.42	316 / 316	AP002527
IncY	99.74	765 / 765	K02380

Tabell 41 viser at prøve FOSS9-*E. coli*-E innehar 5 plasmider. IncFII(29) og IncFII(pEH01) er to plasmider som tilhører IncFII-gruppen (Headd & Bradford, 2020). IncFII-plasmider påvises hyppig i *E. coli*-stammer, og assosieres med den globale spredningen av genet *bla*CTX-M-15 i *E. coli* ST131 (Bonnin et al., 2012). Plasmidet IncI1-I(Alpha) relateres til spredningen av ARG blant familien Enterobacteriaceae, ettersom plasmidet kan være bærer av en rekke ARG, som eksempelvis CTX-M (Yoon & Lee, 2022). IncI2(Delta) er en type IncI2-plasmid som kan bære viktige gener som koder for antibiotikaresistens, i tillegg til at plasmidet er bærer av gener som er essensielle for konjugativ overføring (Meinersmann, 2019). IncY er et plasmid som regelmessig påvises i bakterier som *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* og *Salmonella*. Plasmidet er bærer av antibiotikaresistens genet *bla*CTX-M-15, men det har også blitt rapportert funn av *mcr*-I-genet på et IncY-plasmid (Zhang et al., 2017).

Verktøyet «PlasmidFinder 2.0» ble benyttet for å screene etter plasmider hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E og FOSS2-*Serr*-E. Det ble verken observert plasmider hos prøve MJØSA10-*Pseu*-E eller prøve FOSS2-*Serr*-E.

4.5.11 Sammenligning av virulensfaktorer i ulike *E. coli*-isolater

Tabell 42 viser en sammenligning av prøve virulensfaktorene som ble funnet i prøve FOSS9-*E. coli*-E, P5.SV.MB_ESBL, P2.SP.MB_ESBL og P1(E)Nid_*E. coli* som er hentet fra forskjellige vannkilder. Prøvene ble sammenlignet for genene *chuA*, *fyuA*, *yfcV* og *vat*, hvor grønn farge indikerer påvist gen, mens rød farge indikerer ikke påvist gen. I tillegg ble UPEC, APEC, ExPEC virulensfaktorer og IPEC virulensfaktorer sammenlignet.

Tabell 42. Sammenligning av prøve FOSS9-*E. coli*-E, P5.SV.MB_ESBL, P2.SP.MB_ESBL og P1(E)Nid_ *E. coli*. Prøvene ble sammenlignet for *chuA*, *fyuA*, *yfcV* og *vat*, hvorav grønn farge indikerer påvist gen, mens rød farge indikerer at genet ikke ble påvist. I tillegg ble UPEC, APEC, ExPEC virulensfaktorer og IPEC virulensfaktorer sammenlignet (Spurbeck et al., 2012).

Isolat	Gener*				UPEC/APEC*		ExPEC virulensfaktorer	IPEC virulensfaktorer
	<i>chuA</i>	<i>fyuA</i>	<i>yfcV</i>	<i>vat</i>				
P2.SP.MB_ESBL					Nei	Nei	APECO1_2080	<i>cfaB</i> , <i>ehaG</i> , <i>lpfA</i>
P5.SV.MB_ESBL					Nei	Nei	APECO1_2080	<i>cfaB</i> , <i>ehaG</i> , <i>lpfA</i>
P1(E)Nid_ <i>E. coli</i>					Nei	Nei	APECO1_2080, <i>autAR</i> , <i>etrA</i> , <i>fbpB</i> , <i>pic</i>	<i>capU</i> , <i>ehaC</i> , <i>eilA</i> , <i>espY3</i> , <i>ipaH</i>
FOSS9- <i>E. coli</i> -E					Ja	Ja	<i>aec35-37</i> , <i>afaE1</i> , <i>autAR</i> , <i>upaB</i> , <i>upaC</i> , <i>c4485</i> , <i>c4759</i> , <i>draP</i> , <i>irp1</i> , <i>irp2</i> , <i>aerobactin</i> , <i>iutA</i> , <i>kpsMII</i> , <i>malX</i> , <i>pap-pili</i> , <i>sat</i> , <i>tagBC</i> , <i>usp</i>	<i>draP</i> , <i>nfaB</i>


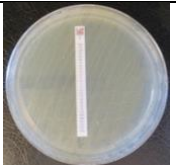
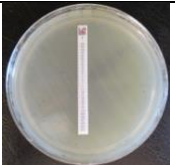
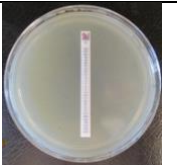
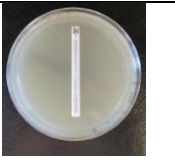
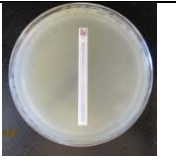

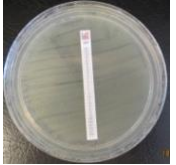
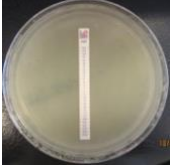
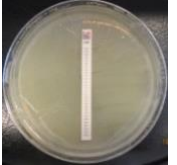
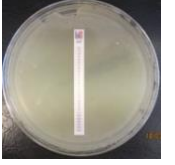
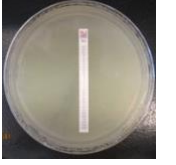
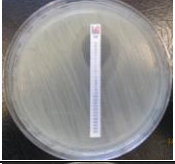


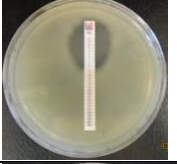

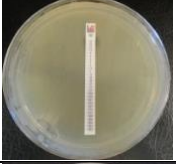


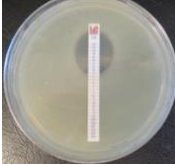

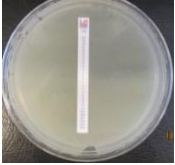


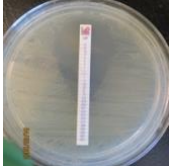




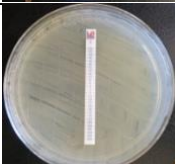

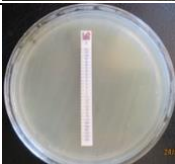
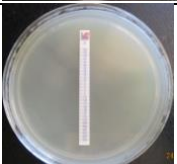





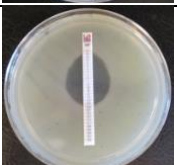


Tabell 42 viser en sammenligning av prøve FOSS9-*E. coli*-E, P5.SV.MB_ESBL, P2.SP.MB_ESBL og P1(E)Nid_ *E. coli* for enkelte resistensgener, UPEC, APEC, ExPEC virulensfaktorer og IPEC virulensfaktorer. Genene *chuA*, *fyuA*, *yfcV* og *vat* ble ikke påvist hos prøve P2.SP.MB_ESBL og prøve P5.SV.MB_ESBL. P1(E)Nid_ *E. coli* innehar *chuA*-genet, mens FOSS9-*E. coli*-E innehar genene *chuA*, *fyuA* og *yfcV*. *vat*-genet ble ikke påvist hos verken P1(E)Nid_ *E. coli* eller FOSS9-*E. coli*-E. I tillegg ble ikke *fyuA* og *yfcV* påvist hos P1(E)Nid_ *E. coli*. UPEC/APEC ble kun identifisert hos prøve FOSS9-*E. coli*-E. Alle prøvene innehar ExPEC virulensfaktorer, hvorav prøve P2.SP.MB_ESBL og prøve P5.SV.MB_ESBL innehar virulensfaktoren APECO1_2080. Virulensfaktorene APECO1_2080, *autAR*, *etrA*, *fbpB* og *pic* ble påvist hos P1(E)Nid_ *E. coli*, mens *aec35-37*, *afaE1*, *autAR*, *upaB*, *upaC*, *c4485*, *c4759*, *draP*, *irp1*, *irp2*, *aerobactin*, *iutA*, *kpsMII*, *malX*, *pap-pili*, *sat*, *tagBC* og *usp* ble påvist hos FOSS9-*E. coli*-E. Det ble også identifisert IPEC virulensfaktorer hos alle prøvene, hvorav *cfaB*, *ehaG*, *lpfA* ble påvist hos både P2.SP.MB_ESBL og P5.SV.MB_ESBL. Hos prøve P1(E)Nid_ *E. coli* ble *capU*, *ehaC*, *eilA*, *espY3* og *ipaH* identifisert. Prøve FOSS9-*E. coli*-E innehar virulensfaktorene *draP* og *nfaB*.

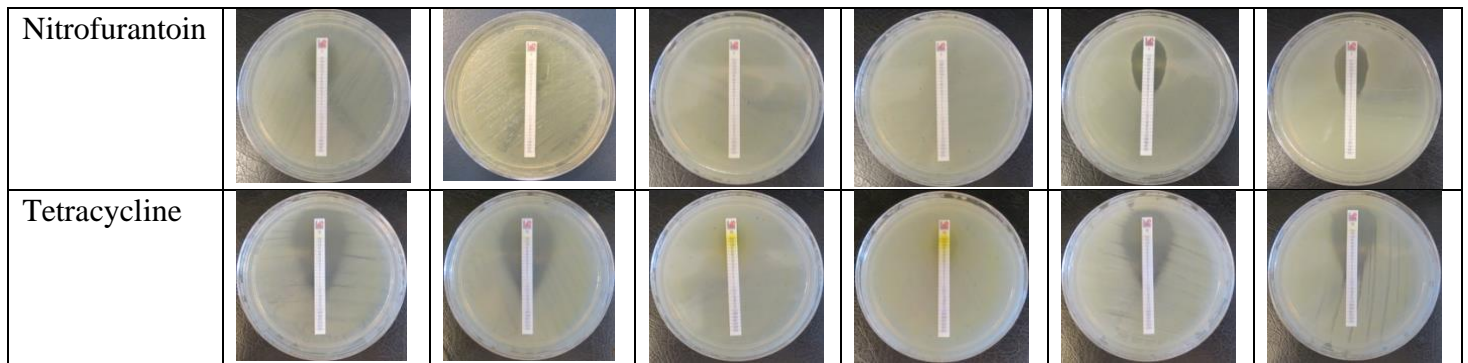
4.6 Sensitivitet mot antibakterielle midler

Følsomheten bakterieprøvene FOSS2-*Serr*-E, MJØSA10-*Pseu*-E og FOSS9-*E. coli*-E hadde ovenfor ni ulike typer antibiotikum ble undersøkt ved hjelp av minimum inhibitory

concentration-test. Tabell 43 viser bilder av agarskålene etter sensitivitetstesting av bakterieprøve FOSS2-*Serr-E*, MJØSA10-*Pseu-E* og FOSS9-*E. coli-E*. Tabell 44 viser gjennomsnittlig avlest MIC-verdi etter sensitivitetstesting av ni typer antibakterielle midler i to paralleller. Tabellen viser også klinisk brytningspunkt for MIC-verdier ($R >$) for *Pseudomonas* spp. og ordenen *Enterobacterales* fra EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2023).

Tabell 43. Bilde av agarskåler etter sensitivitetstesting av bakterieprøve FOSS2-*Serr-E*, MJØSA10-*Pseu-E* og FOSS9-*E. coli-E* mot ni ulike typer antibakterielle midler.

Antibiotikum	FOSS2- <i>Serr-E</i>		MJØSA10- <i>Pseu-E</i>		FOSS9- <i>E. coli-E</i>	
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 1	Parallell 2
Penicillin G						
Ampicillin						
Cefepime						
Cefotaxime						
Ciprofloxacin						
Erythromycin						
Meropenem						



Tabell 43 viser at de tre bakterieprøvene FOSS2-*Serr-E*, MJØSA10-*Pseu-E* og FOSS9-*E. coli-E* hadde ulik følsomhet ovenfor ulike typer antibiotikum. Tabellen viser at det ikke ble observert inhiberingssone på agarskålene med penicillin G-, ampicillin-, eller erythromycin-strips hos noen av bakterieprøvene. Videre viser tabellen at det ble observert inhiberingssoner av ulik størrelse på agarskålene med meropenem- og ciprofloxacin-strips hos alle bakterieprøvene som ble testet. På agarskålene med nitrofurantoin- og tetracycline-strips ble det observert inhiberingssoner hos bakterieprøve FOSS2-*Serr-E* og FOSS9-*E. coli-E*. Det ble også observert inhiberingssone på agarskålen med cefotaxime-strips for prøve MJØSA10-*Pseu-E*. Tabell 43 viser videre at det ble observert inhiberingssoner på agarskålene med cefepime-strips for prøve FOSS2-*Serr-E* og MJØSA10-*Pseu-E*. På den ene agarskålen med cefepime-strips for prøve FOSS9-*E. coli-E*, ble det observert en svært liten inhiberingssone.

Tabell 44. Gjennomsnittlig avlest MIC-verdi under sensitivitetstesting av prøve MJØSA10-*Pseu-E*, FOSS2-*Serr-E* og FOSS9-*E. coli-E* samt ECOFF-verdier for *P. aeruginosa* og *E. coli* (Testing, u.å.). I tillegg vises klinisk brytningspunkt for MIC-verdier ($R >$) for ordenen *Enterobacterales* fra EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2023). * indikerer at gjennomsnittlig avlest MIC-verdi er høyere enn ECOFF-verdi eller klinisk brytningspunkt fra EUCAST.

Antibiotikum	Klasse	ECOFF-verdier for <i>P. aeruginosa</i> fra EUCAST	MJØSA 10- <i>Pseu-E</i>	Klinisk brytningspunkt for MIC-verdier ($R >$) for <i>Enterobacterales</i> fra EUCAST	FOSS2- <i>Serr-E</i>	ECOFF-verdier for <i>E. coli</i> fra EUCAST	FOSS9- <i>E. coli-E</i>
Penicillin G	Penicilliner	–	≥ 256	–	≥ 256	–	≥ 256

Ampicillin	Penicilliner (utvidet spektrum)	–	≥ 256	8	≥ 256*	8	≥ 256*
Cefepime	Kefalosporiner (fjerde generasjon)	8	1	4	2,5	0,125	≥ 32*
Cefotaxime	Kefalosporiner (tredje generasjon)	64	14	2	≥ 256*	0,25	≥ 256*
Ciprofloxacin	Fluorokinoloner	0.5	0.5	0.5	0.094	0,06	1.125*
Erythromycin	Markolider	–	≥ 256	–	≥ 256	–	≥ 256
Meropenem	Karbapenemer	2	0.50	8	0.125	0,06	0.1065
Nitrofurantoin	Nitrofuraner	–	≥ 512	64	56	64	12
Tetracycline	Tetracycline-klassen	64	≥ 256	–	0.75	8	1.5

Tabell 44 viser at gjennomsnittlig avlest MIC-verdi for ciprofloxacin, cefotaxime, cefepime og ampicillin for prøve FOSS9-*E. coli*-E, var høyere enn ECOFF-verdiene satt av EUCAST. Tabellen viser også at det ikke ble observert inhiberingssone på agarskålene med erythromycin- og penicillin G-strips (MIC-verdi ≥ 256) for prøve FOSS9-*E. coli*-E. Det er imidlertid ikke satt en ECOFF-verdi eller et klinisk brytningspunkt for de antibakterielle midlene erythromycin og penicillin G for *E. coli* eller *Enterobacterales* av EUCAST. Den observerte MIC-verdien for nitrofurantion hos FOSS9-*E. coli*-E var lavere enn ECOFF-verdien, og det samme gjaldt for tetracycline. Den observerte MIC-verdien for meropenem var imidlertid høyere enn ECOFF-verdien satt av EUCAST. Videre ble det observert at gjennomsnittlig avlest MIC-verdi for ampicillin, tetracycline og cefotaxime for prøve FOSS2-*Serr*-E, var høyere enn det kliniske brytningspunktet for *Enterobacterales* fra EUCAST. For erythromycin og penicillin G var avlest MIC-verdi ≥ 256, og det ble derfor ikke observert inhiberingssone på prøve FOSS2-*Serr*-E for disse antibiotikaene. Den avleste MIC-verdien for nitrofurantion, cefepime, meropenem og ciprofloxacin var lavere enn det kliniske brytningspunktet for *Enterobacterales* satt av EUCAST. Tabell 44 viser også at det ikke ble observert inhiberingssone på agarskålene med tetracycline-, nitrofurantoin-, erythromycin-,

ampicillin- og penicillin G-strips for prøve MJØSA10-*Pseu*-E. Videre ble det observert at gjennomsnittlig avlest MIC-verdi for ciprofloxacin var lik ECOFF-verdien satt av EUCAST, mens den observerte gjennomsnittlige avleste MIC-verdien for cefotaxime og cefepime var lavere enn ECOFF-verdien.

4.6.1.1 Sammenligning av antibiotikaresistens i ulike bakterieisolater

Ni bakterieisolater hentet fra ulike akvatiske ytre miljøer i Norge, ble sammenlignet for resistens mot forskjellige grupper av antibiotika. Tabell 45 viser hvilke grupper av antibiotika de ulike bakterieisolatene var resistente mot samt om resistensen som ble observert ble detektert ved MIC-testing eller påvist ved WGS. I tillegg viser tabellen om de respektive bakterieisolatene er MDR.

Tabell 45. Sammenligning av resistens mot ulike grupper av antibiotika hos forskjellige bakterieisolater hentet fra ulike vannkilder rundt om i Norge. Mørkegrønn farge indikerer at resistens ble påvist ved MIC-testing, lysegrønn farge indikerer at resistens ble påvist ved WGS, mens rød farge indikerer at resistens ikke har blitt påvist i det respektive bakterieisolatet.

ISOLATE/AB CLASS	Species	Aminoglycosides	Carbapenems	Cephalosporins (3. gen.)	Fluoroquinolones	Fosfomycin	Penicillins	Phenicolis	Sulfonamides	Nitrofurans	Tetracycline	Tigecycline	Trimethoprim	Macrolides	MDR?
P2.SP.MB.ESBL <i>E.coli</i>	<i>E. coli</i>														YES
P5.SV.MB.ESBL <i>E.coli</i>	<i>E. coli</i>														YES
P10.SP.BR.ESBL <i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>														YES
P12(E)Nid_Kleb	<i>K. pneumoniae</i>														YES
MJØSA10- <i>Pseu</i> -E	<i>P. aeruginosa</i>														YES
FOSS2- <i>Serr</i> -E	<i>Serratia spp.</i>														YES
P16(E)Jons_ <i>Serr</i>	<i>S. fonticola</i>														YES
P1(E)Nid_ <i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>														YES
FOSS9- <i>E. coli</i> -E	<i>E. coli</i>														YES
MDR = Resistant to 3 or more classes of antibiotics															
Laboratory confirmed by e-test MIC testing															
Resistance conferred by WGS															
Not resistant															

Tabell 45 viser at alle bakterieisolatene som ble undersøkt var resistente mot penicilliner og kefalosporiner, hvorav resistensen i alle isolatene, med unntak av MJØSA10-*Pseu*-E, ble detektert ved MIC-testing. Videre viser tabellen at alle isolatene, med unntak av P10.SP.BR.ESBL *P. aeruginosa*, FOSS2-*Serr*-E og P16(E)Jons_*Serr*, var resistente mot fluorokinoloner. Tabellen viser også at alle bakterieisolatene, bortsett fra P2.SP.MB.ESBL *E. coli* og P10.SP.BR.ESBL *P. aeruginosa*, viste resistens mot makrolider ved MIC-testing. Ingen av bakterieisolatene var resistente mot tigecyklin. Videre viser tabellen at det kun ble påvist resistens mot sulfonamider og trimetoprim i isolatene P12(E)Nid_Kleb og P1(E)Nid_*E. coli*. Bakterieisolatene P10.SP.BR.ESBL *P. aeruginosa*, P12(E)Nid_Kleb og MJØSA10-*Pseu*-E viste resistens mot nitrofuraner ved MIC-testing, mens ved WGS ble det påvist resistens mot fenikoler og fosfomycin i de respektive isolatene. De resterende bakterieisolatene var ikke resistente mot verken nitrofuraner, fenikoler eller fosfomycin. Tabell 45 viser også at P1(E)Nid_*E. coli*, MJØSA10-*Pseu*-E og P12(E)Nid_Kleb er resistente mot tetracyklin og aminoglykosider. I tillegg ble resistens mot aminoglykosider påvist i

P10.SP.BR.ESBL *P. aeruginosa* ved WGS. Alle bakterieisolatene, med unntak av FOSS9-*E. coli*-E, var resistente mot karbapenemer.

5 Diskusjon

5.1 Fenotypisk deteksjon

Oxoid Brilliance™ ESBL Agar og Oxoid Brilliance™ CRE Agar er selektive, kromogene agarskåler, som ble benyttet for å undersøke om ESBL-produserende bakterier og/eller karbapenem-resistente Enterobacteriaceae var til stede i vannprøvene hentet fra Mjøsa, Fossbekken og Tussetjern. Det ble observert bakterievekst på både ESBL-agaren og CRE-agaren, hvorav det var 10 rendyrkede kolonier som var av størst interesse. Veksten som ble observert på ESBL-agaren og CRE-agaren indikerte at det var ESBL-produserende og karbapenem-resistente Enterobacteriaceae til stede i vannprøvene.

Patogene bakterier som er resistente mot antibiotika er av stor bekymring, da de forårsaker høyere sykkelighet og dødelighet (Dhillon & Clark, 2012). De siste tiårene har det blitt observert en økt forekomst av ESBL-produserende gramnegative patogener globalt (Castanheira et al., 2021). Infeksjoner forårsaket av ESBL-produserende patogener blir ofte behandlet med karbapenemer, og karbapenemer har lenge blitt omtalt som en siste forsvarslinje ved behandling av infeksjoner som skyldes MDR-bakterier (Logan & Weinstein, 2017; Meletis, 2016). Fremveksten av karbapenem-resistente Enterobacteriaceae, som er forårsaket av spredningen av mobile genetiske elementer som bærer karbapenemaser og andre gener for legemiddelresistens, har ført til at CRE har blitt utbredt over hele verden. CRE anses som en bekymringsverdig utfordring mot folkehelsen, ettersom disse farlige bakteriene påvirker en rekke mennesker globalt (Logan & Weinstein, 2017). Multiresistente patogene bakterier som produserer ESBL-er samt CRE utgjør en alvorlig trussel for samfunnet, og bakteriefunnene fra vannprøvene fremstår derfor som alarmerende (Dhillon & Clark, 2012; Perez et al., 2007).

Oxoid Brilliance™ ESBL Agar gir en sannsynlig identifikasjon av ESBL-produserende bakterier som *E. coli* eller KESC-gruppen. Identifisering av ESBL-produserende bakterier ved hjelp av fenotypiske teknikker blir stadig utfordret, da kombinasjonen av et økende mangfold av ESBL-enzymmer og ekspresjonen av ikke-ESBL-resistensmekanismer har resultert i en overlapp av forskjellige resistensfenotyper (Huang et al., 2010). I tillegg ble det observert i studien utført av Huang et al. at det var en variasjon i farge på *E. coli*-koloniene, hvorav enkelte kolonier hadde grønn/turkisblå-farge, mens andre kolonier hadde en blå/lilla-farge.

Det ble også observert i den samme studien at noen *E. coli*-stammer vokste opp fargeløse. Denne variasjonen i farge på koloniene fra *E. coli*-stammene resulterte i at det var vanskelig å differensiere *E. coli*-stammer fra stammer tilhørende KESC-gruppen (Huang et al., 2010).

Både Oxoid Brilliance™ ESBL-agaren og Oxoid Brilliance™ CRE-agaren er produsert for å enkelt detektere ESBL-produserende bakterier og CRE fra kliniske prøver. Det kan derfor ikke utelukkes at bakterier som finnes naturlig i miljøet kan vokse på agarene med samme farge som *E. coli* eller bakteriene tilhørende KESC-gruppen. I en studie gjort av Kataoka et al. ble det eksempelvis rapportert at kolonier av *Stenotrophomonas maltophilia* vokste med blå farge på BTB-holdig medium som inneholdt henholdsvis laktose eller glukose (Kataoka et al., 2003). Det har også blitt rapportert om at kolonier av *S. maltophilia* har en grønn farge, hvor senteret er mørkegrønt, omgitt av en blågrønn halo (Brooke, 2012). Ifølge produktbladet fra Oxoid inneholder CRE-agaren karbohydrater, og det kan derfor ikke utelukkes at agaren kan inneholde glukose eller laktose (Thermo Fisher Scientific Inc, u.å.). Som et resultat av dette kan det ikke konkluderes med at kolonier som vokser med blå farge på CRE-agaren tilhører KESC-gruppen.

I en studie gjort av Cohen Stuart et al. ble det rapportert om at Oxoid Brilliance™ CRE-agaren er et sensitivt verktøy for deteksjon av KPC og metallo-karbapenemase-produserende Enterobacteriaceae. Det ble imidlertid observert at deteksjonen av OXA-48-produserende Enterobacteriaceae var mindre gunstig. I tillegg ble det observert vekst av ESBL- og/eller AmpC-produserende isolater på CRE-agaren, noe som stemte overens med studier gjort tidligere. Cohen Stuart et al. konkluderte derfor med at karbapenemase-produksjonen til bakterieisolater hentet fra CRE-agaren måtte bekreftes, ettersom CRE-agaren hadde en relativt lav spesifisitet (Cohen Stuart et al., 2013).

Gjennom bakteriell evolusjon har miljøbakterier utviklet og anskaffet seg nye virkningsmekanismer for å både kunne reagere på nytt selektivt press fra miljøet, men også for å kunne tilpasse seg samt utnytte nye miljøer (Davison, 1999). Til tross for at Oxoid Brilliance™ CRE-agaren og Oxoid Brilliance™ ESBL-agaren skal inneholde stoffer som hindrer veksten av spesifikke bakteriearter, kan det derfor ikke utelukkes at enkelte miljøbakterier har anskaffet seg eller utviklet gener som bidrar til at de kan vokse på CRE- og/eller ESBL-agaren. På bakgrunn av dette er det derfor ikke mulig å identifisere bakterieartene ut fra CRE- og ESBL-agaren alene, og prøvene ble derfor sendt til Sanger-

sekvensering for å forsterke eller svekke hypotesen om at funnene fra vannprøvene var alarmerende.

5.2 Sanger-sekvensering

Genet som koder for 16S rRNA hos bakterieprøvene ble sekvensert for å bekrefte hvilke bakteriearter som vokste på Brilliance™ CRE-agaren og/eller Oxoid Brilliance™ ESBL-agaren. I flere tiår har Sanger-sekvensering av genet som koder for 16S rRNA fungert som et viktig verktøy for å identifisere mikroorganismer. Den genotypiske metoden gir en objektiv, pålitelig og nøyaktig identifikasjon av bakteriekolonier, og brukes regelmessig for å både identifisere nye patogene bakterier i pasienter med bakterielle infeksjoner, men også for å rutine-identifisere kliniske bakterieisolater (Patel, 2001; Petti et al., 2005). Sekvensering av 16S rRNA-genet er en hyppig brukt metode, da nesten alle bakterier innehar genet som koder for 16S rRNA, i tillegg til at genet er stort nok til å behandles bioinformatisk (Janda & Abbott, 2007). Gjennom evolusjonen kan det ha oppstått nye fenotyper av ulike bakteriearter, og det kan derfor hende at sekvensen til disse artene ikke finnes i databasen som sekvensen sammenlignes mot, noe som resulterer i at bakterieisolatet ikke kan identifiseres. I tillegg kan enkelte bakterier ha relativt like sekvenser, som medfører at det blir vanskeligere å identifisere bakteriene på slekts- og artsnivå (Janda & Abbott, 2007).

Totalt 31 bakterieprøver ble sendt til Sanger-sekvensering, hvorav 24 prøver hadde en DNA-konsentrasjon på mellom $995,5 \text{ ng}/\mu\text{L} \leq 101,1 \text{ ng}/\mu\text{L}$ (vedlegg XX, tabell 49?). A_{260}/A_{280} for de samme 24 prøvene lå på mellom $2,27 \leq 1,88$, mens A_{260}/A_{230} lå på mellom $2,15 \leq 0,41$ (VedleggXX tabell 49). Absorbans-forholdene tydet på at enkelte av de 24 prøvene var forurenset, ettersom A_{260}/A_{280} for noen av prøvene lå over $\sim 1,8$, mens A_{260}/A_{230} lå under 2,0-2,2. NanoDrop™ 2000/2000C spektrofotometer er imidlertid ikke et så godt egnet instrument for å bestemme renheten til bakterieprøvene. Ratioen på $\sim 1,8$ satt at Thermo Fisher Scientific blir regnet som en tommelfinger-regel (Thermo Fisher Scientific Inc., 2009). Siden de observerte ratioene for de 24 prøvene var relativt nærme den aksepterte ratioen, i tillegg til at renheten til bakterieprøvene ikke var av størst betydning, ble det derfor bestemt at det ikke var nødvendig å undersøke renheten til bakterieprøvene ved hjelp av Qubit® 2.0 Fluorometer. For disse prøvene ble det derfor konkludert med at DNA-konsentrasjonen var høy nok samt at prøvene var rene nok til å få en lang nok konsensus-sekvens, som kunne søkes opp i BLASTn.

De resterende 7 prøvene hadde en DNA-konsentrasjon på mellom $74 \text{ ng}/\mu\text{L} \leq 29,6 \text{ ng}/\mu\text{L}$ (vedlegg XX, tabell 49?). For disse prøvene lå A_{260}/A_{280} mellom $5,65 \leq 1,95$ og A_{260}/A_{230} lå mellom $1,89 \leq 0,22$ (VedleggXX tabell 49). Til tross for at DNA-konsentrasjonen til bakterieprøve MJØSA2-*Sphi*-C, TUSS6-*Caul*-C, FOSS5-*Caul*-C, FOSS6-*Serr/EB*-E, FOSS8-*Caul*-C, FOSS9-*E. coli*-E og FOSS10-*E. coli*-E var betydelig lavere enn resterende prøver, samt at A_{260}/A_{280} - og A_{260}/A_{230} -ratioen var relativt langt fra ønsket ratio, ble prøvene sendt til sekvensering.

Alle prøvene som ble sendt til sekvensering ga resultater når de ble søkt opp i BLASTn. Av resultatene som kom opp i BLASTn, var det kun de resultatene med en «query cover» på $\geq 99\%$ samt en identitetsprosent på $\geq 99,77\%$ som ble evaluert. 12 av prøvene tydet på at bakteriekoloniene tilhørte slekten *Caulobacter*, som regelmessig isoleres fra ferskvann, saltvann, brønnvann, damvann og jord (Poindexter, 1964). 7 av prøvene tilhørte mest trolig bakterieslekten *Sphingomonas* som ofte assosieres med planter og jord (Kim et al., 1998). Bakterier som tilhører *Caulobacter*-slekten eller *Sphingomonas*-slekten klassifiseres som vanlige miljøbakterier, og bakteriekoloniene som tydet på å tilhøre en av disse slektene ble derfor ikke undersøkt videre i denne masteroppgaven, ettersom de ikke var av interesse da de ikke er patogene for mennesker. Videre tydet det på at bakterieprøve TUSS2-*Pseu*-E, MJØSA10-*Pseu*-E og FOSS11-*Pseu*-E tilhørte slekten *Pseudomonas*, hvorav TUSS2-*Pseu*-E, MJØSA10-*Pseu*-E og FOSS11-*Pseu*-E antydte å være henholdsvis *P. protegens*, *P. aeruginosa* og *P. monteilii*. *P. protegens* er en apatogen plantebeskyttende bakterie, mens *P. monteilii* har blitt beskrevet som en miljøkontaminant med lavt virulenspotensial (Ballaben et al., 2021; Shariff & Beri, 2017; Vacheron et al., 2019). På bakgrunn av dette ble ikke prøve TUSS2-*Pseu*-E og prøve FOSS11-*Pseu*-E undersøkt videre i denne masteroppgaven. Både Shariff & Beri samt Ballaben et al. har imidlertid rapportert om at *P. monteilii* sannsynligvis er en nosokomial, opportunistisk patogen. Dette skyldes at de har dukket opp multiresistente og karbapenem-resistente *P. monteilii* de siste årene (Ballaben et al., 2021; Shariff & Beri, 2017). Observasjonene gjort av Shariff & Beri indikerte at *P. monteilii* er en bakterie som mest trolig er underrapportert som et resultat av at *P. monteilii* er vanskelig å identifisere (Shariff & Beri, 2017). *P. aeruginosa* er patogen bakterie som forårsaker nosokomiale infeksjoner i menneske med dårlig immunforsvar og/eller enkelte underliggende sykdommer. Funnet av *P. monteilii* og *P. aeruginosa* fra henholdsvis Fossbekken og Mjøsa forsterker hypotesen om at funnene fra disse to prøvene var alarmerende.

Prøve FOSS9-*E. coli*-E og prøve FOSS10-*E. coli*-E ble antatt å være *E. coli*-stammer. I utgangspunktet er *E. coli*-bakterier apatogene og finnes naturlig i tarmen til mennesker og dyr. Det finnes imidlertid noen *E. coli*-stammer som kan forårsake alvorlige infeksjoner hos mennesker. Patogene stammer av *E. coli* smitter som oftest gjennom mat og/eller vann og gir i utgangspunktet mild sykdom som diare, kvalme og magesmerter, men enkelte stammer kan gi alvorlig sykdom hos mennesker (Folkehelseinstituttet, 2020). FOSS2-*Serr*-E og FOSS3-*Serr*-E tilhørte mest trolig *Serratia*-slekten. FOSS6-*Serr/EB*-E ga også utslag for å tilhøre slekten *Serratia* spp., dog ble det også observert at konsensus-sekvensen som ble sammenlignet var 99.85 % lik sekvensen til *Enterobacteriaceae* bacterium stamme 27. *Serratia* spp. er en slekt av opportunistiske bakterier som kan forårsake infeksjoner hos mennesker. Bakterieslekten *Serratia* spp. er lite forsket på, og det kan derfor tenkes at *Enterobacteriaceae* bacterium stamme 27 kan være en *Serratia*-art som ikke er navnsatt enda.

Videre ble det observert at prøvene MJØSA5-*Sten*-C, MJØSA6-*Sten*-C, MJØSA7-*Sten*-C og FOSS1-*Sten*-C sannsynligvis tilhørte *Stenotrophomonas* spp. *Stenotrophomonas* spp. er en slekt av bakterier som har potensialet til å overleve en rekke miljøer, og betegnes som en opportunistisk patogen. I studier som omhandler spredning av antimikrobiell resistens i miljøet, hvorav resistensgenene er av medisinsk betydning, betraktes *Stenotrophomonas*-slekten som irrelevant, ettersom *Stenotrophomonas* spp. er iboende resistent mot β -laktamer (Mañano et al., 2020). Som et resultat av dette, i kombinasjon med at karbapenem-resistent *P. aeruginosa* samt karbapenem-resistens og ESBL-produserende *Enterobacteriaceae* står på WHO's liste over prioriterte patogener for FoU av nye antibiotika, ble det besluttet at prøve MJØSA5-*Sten*-C, MJØSA6-*Sten*-C, MJØSA7-*Sten*-C og FOSS1-*Sten*-C ikke ble undersøkt videre (World Health Organization, 2017). Resultatene fra Sanger-sekvenseringen forsterker hypotesen om at funnene gjort fra Mjøsa og Fossbekken var bekymringsfulle.

5.3 Deteksjon av resistensgener ved hjelp av agarose gel-elektroforese og Sanger-sekvensering

Multipleks- og singlepleks PCR ble benyttet for å undersøke om bakterieprøvene av interesse hadde viktige ESBL-resistensgener. På bakgrunn av klinisk viktighet ble det laget 4 primermikser samt en kontroll. Etter multipleks PCR ble det observert en rekke synlige bånd av ulik stryke hos prøve FOSS9-*E. coli*-E, FOSS10-*E. coli*-E, MJØSA10-*Pseu*-E, FOSS2-

Serr-E, FOSS3-*Serr-E* og FOSS6-*Serr/EB-E*. Båndene som ble observert hos både prøve FOSS9-*E. coli-E* og FOSS10-*E. coli-E* indikerte at prøvene var positive for resistensgenene *blaSHV*, *blaTEM* og *blaCTX-M* gruppe 1-gener. MJØSA10-*Pseu-E* hadde positivt resultat for genet *bla^rTEM*. Prøve FOSS3-*Serr-E* ga positivt utslag for gener tilhørende *blaCTX-M* gruppe 1 samt *blaIMP*. Videre ga prøve FOSS6-*Serr/EB-E* positive resultater for *blaCTX-M* gruppe 1- og *blaCTX-M* gruppe 9-gener, mens FOSS2-*Serr-E* ga positivt resultat for *blaIMP*-gener.

Multipleks PCR er en effektiv metode som brukes for å amplifisere flere ulike DNA-sekvenser samtidig. Metoden har imidlertid en lav spesifisitet, som et resultat av at alle arter ikke amplifiseres med samme effektivitet. Den lave spesifisiteten kan resultere i falske negative resultater, som kan medføre at enkelte ESBL-gener ikke blir identifisert. Det er flere faktorer som påvirker sensitiviteten, hvorav dannelsen av primersettene er avgjørende (Alanio & Bretagne, 2016). I tillegg har det blitt rapportert om at multipleks PCR kan mislykkes i å amplifisere noen loci for enkelte individer. På bakgrunn av dette brukes singlepleks PCR ofte som et supplement til multipleks PCR. Det ble derfor kjørt singlepleks PCR på samtlige prøver, hvor målgenene var henholdsvis *blaSHV*, *blaTEM* og *blaCTX-M* gruppe 1-gener for prøve FOSS9-*E. coli-E* og FOSS10-*E. coli-E*, *blaTEM* for MJØSA10-*Pseu-E*, *blaCTX-M* gruppe 1-gener og *blaIMP* for FOSS3-*Serr-E*, *blaCTX-M* gruppe 1-gener og *blaCTX-M* gruppe 9-gener for prøve FOSS6-*Serr/EB-E* samt *blaIMP* for FOSS2-*Serr-E*.

Singlepleks PCR indikerte ytterligere at FOSS9-*E. coli-E* og FOSS10-*E. coli-E* hadde gener som kodet for *bla^rTEM* og *blaCTX-M* gruppe 1-gener. De resterende bakterieprøvene ga ikke positive resultater ved singlepleks PCR, da det ikke ble observert DNA-bånd ved gelelektroforese av singlepleks PCR-produktene. Det bør også nevnes at det burde blitt kjørt singlepleks PCR på prøve FOSS6-*Serr/EB-E* hvor målgenet var *blaTEM*, da båndet som ble observert ved 800 bp i primermiks ESBL 2 kan ha vært *blaTEM*, ettersom *blaTEM* har en lengde på 800 bp. Dette ble imidlertid oppdaget for sent, og ble derfor ikke gjort.

For å bekrefte at prøve FOSS9-*E. coli-E* og prøve FOSS10-*E. coli-E* innehar resistensgenet *blaTEM* og *blaCTX-M* gruppe 1-gener, ble resistensgenene sendt til Sanger-sekvensering. Sekvensene ble søkt opp i BLASTn, og det var kun resultatene med en «query cover» på ≥ 98 % og en identitetsprosent på $\geq 99,61$ som ble vurdert. Sanger-sekvenseringsresultatene bekreftet at prøve FOSS9-*E. coli-E* innehar to resistensgener, *blaTEM* og *blaCTX-M*, som

begge koder for en klasse A β -laktamase. Videre ble det også bekreftet at FOSS10-*E. coli*-E innehar et gen som koder for et β -laktam resistensprotein (*bla*TEM) samt et gen som koder for en klasse A β -laktamase (*bla*CTX-M). *bla*TEM og *bla*CTX-M er to utbredte grupper av resistensgener som truer behandlingen av infeksjoner forårsaket av Gram-negative, ESBL-produserende bakterier. De respektive resistensgenene vil bli diskutert ytterligere i avsnitt **XXX og XXX**.

5.4 Deteksjon av virulensgener ved hjelp av agarose gel-elektroforese

Singlepleks PCR ble også benyttet for å undersøke om de trolig *E. coli*-bakteriene innehar virulensgener som er assosiert med diaré. Prøve FOSS6-*Serr*/*EB*-E er med stor sannsynlighet en art tilhørende *Serratia* spp., og det var derfor ikke forventet positivt resultat hos denne bakterieprøven. Dette skyldes at primerne som ble benyttet, primært er laget for *E. coli*-bakterier og dermed ikke vil fungere for *Serratia*-arter. Resultatet fra singlepleks PCR-en indikerte at prøve FOSS6-*Serr*/*EB*-E, FOSS9-*E. coli*-E og FOSS10-*E. coli*-E ikke er bærere av virulensgenene *stx1*, *stx2*, *eaeA*, *ST1b*, *LTI*, *ipaH* og *aggR*. Til tross for at singlepleks PCR-analyser er svært sensitive og spesifikke, kan det ikke konkluderes med at de respektive prøvene ikke innehar noen av disse virulensgenene.

5.5 Helgenomsekvensering

For å bekrefte identiteten til prøve FOSS9-*E. coli*-E, MJØSA10-*Pseu*-E og FOSS2-*Serr*-E, samt påvise gener som koder for resistens, virulens, toksiner, antitoksiner og plasmider ble prøvene helgenomsekvensert. Etter helgenomsekvensering ble rådataene behandlet ved hjelp av plattformen «Galaxy EU», før konsensus-sekvensen til de ulike prøvene ble scannet med forskjellige plattformer.

FOSS9-*E. coli*-E ble identifisert til å være *Escherichia coli* ST131 med serotype O16:H5 og fylotype B2. *E. coli* ST131 er en ekstraintestinal patogen høyrisiko klon som ble funnet i 2003. I 2008 ble *E. coli* ST131 identifisert som patogen for mennesker, og årlig forårsaker denne høyrisikoklonen millioner av antibiotikaresistente infeksjoner globalt (Peirano et al., 2014; Pitout & DeVinney, 2017). *E. coli* ST131 med fylotype B2 er rapportert til å ha flere virulensfaktorer, som inkluderer sideroforer, toksiner og adhesiner. Bakterien anses derfor som en alvorlig folkehelsetrussel, da *E. coli* ST131 er resistent mot en rekke antibiotika samt

innehar virulensfaktorer. Det har blitt rapportert om at *E. coli* ST131 er resistent mot fluorokinoloner og kefalosporiner med utvidet spektrum (Johnson et al., 2012). Resistens mot kefalosporiner skyldes produksjonen av ESBL-er, og da spesielt CTX-M-15 (Pitout & DeVinney, 2017). *E. coli* ST131 diskuteres ytterligere i avsnitt XXX.

Videre ble MJØSA10-*Pseu*-E ble identifisert til å være *Pseudomonas aeruginosa* ST308 med serotype O11. *P. aeruginosa* ST308 er en epidemisk høyrisikoklon som forårsaker globale helsetilknyttede infeksjoner som assosieres med høy sykkelighet og dødelighet (Abdouchakour et al., 2018; Prakki et al., 2023). Bakterien klassifiseres som MDR og har blitt beskrevet i både Tyskland og Frankrike (Abdouchakour et al., 2018; Khan et al., 2021; Prakki et al., 2023). Karbapenemase-genene *bla*IMP og *bla*VIM har blitt funnet i *P. aeruginosa* ST308, og i 2023 rapporterte Prakki et al. om funn av *bla*NDM-1-positiv *P. aeruginosa* ST308 isolert fra kliniske prøver, miljøprøver og rektale vattpinner (Prakki et al., 2023). Høyrisikoklonen har blitt påvist som en viktig forurensning i vannrørleggernettverket til enkelte sykehus, og har derfor blitt assosiert med sporadiske utbrudd av sykehusinfeksjoner. *P. aeruginosa* ST308 har også blitt identifisert som kobbertolerant, i tillegg til at klonen innehar evnen til å tilpasse seg forskjellige miljøer, erverve mutasjoner i genomet og tilegne seg gener (Khan et al., 2021). Høyrisikoklonen *P. aeruginosa* ST308 blir diskutert nærmere i avsnitt XXX.

Identiteten til prøve FOSS2-*Serr*-E kunne ikke fastslås, men mest sannsynlig var bakterien *Serratia* spp. Plattformen PubMLST anslo at bakterien var 81 % lik *Serratia fonticola*, 7 % lik *Pseudomonas koreensis*, 3 % lik *Castellaniella denitrifican* og 1 % lik *Pseudomonas protegens*. En identitetsprosent på 81% er ikke nok til å kunne konkludere med at bakterien som fantes i bakterieprøve FOSS2-*Serr*-E var en *Serratia fonticola*, men funnet tyder imidlertid på at bakterien tilhører slekten *Serratia*. De fleste *Serratia* spp. er opportunistiske patogener som kan forårsake nosokomiale infeksjoner hos mennesker, spesielt mennesker med nedsatt immunforsvar. En rekke *Serratia*-arter har blitt isolert fra en rekke infeksjoner, hvorav *S. fonticola* blant annet har blitt isolert fra en beinabscess (Bollet et al., 1991; Van Houdt et al., 2007). *S. fonticola* er en bakterie som kan overleve et bredt spekter av miljøer, som blant annet inkluderer drikkevann, kloakk og jord. I klinisk sammenheng blir hovedsakelig *S. fonticola*-isolater funnet i prøver som er isolert fra sår og luftveier, i motsetning til andre *Serratia*-arter som også isoleres fra urinprøver. Delvis mangel på lipase, ekstracellulær DNase og gelatinase hos *S. fonticola* gjør det derfor mulig å skille denne bakterien fra andre *Serratia*-arter. I 2016 rapporterte Aljorayid et. al om at det kun finnes 5

kasusrapporter som beskriver humane infeksjoner forårsaket av *S. fonticola* (Aljorayid et al., 2016). *Serratia* spp. og *S. fonticola* blir diskutert ytterligere i avsnitt XXXX.

5.5.1 Gener som koder for antibiotikaresistens i bakterieprøvene

Vannmiljøer har i flere år vært anerkjent for å være en viktig kilde og overføringsrute i spredningen av antibiotikaresistens (Amarasiri et al., 2020). Mennesker og dyr er årsaken til at vannmiljøer blir forurenset med ARB) og ARG (Baquero et al., 2008). Flere rapporter har vist at prosessene som benyttes for å behandle drikkevann og avløpsvann, ikke har vært i stand til å fullstendig fjerne antibiotika-resistensgenene som er til stede. Elver og innsjøer kan bli tilført avløpsvann som inneholder ARB og/eller ARG fra ulike renseanlegg. I tillegg kan ARB og ARG tilføres enkelte miljøer, hvor bruk av gjenvunnet avløpsvann benyttes. For eksempel vil matprodukter som vannes med gjenvunnet vann kunne bli eksponert for ARB og ARG ved vanning (Amarasiri et al., 2020). I denne masteroppgaven ble vannprøvene kun undersøkt for ARB, hvorav ARG til de 3 mest interessante funnene ble identifisert. Det ble funnet en rekke viktige gen, som blant annet inkluderte *blaEC*, *blaCTX-M*, *blaTEM*, *blaOXA*, *blaPDC* og FONA-8.

5.5.1.1 *blaEC*

Resistensgenet *blaEC* koder for en kefalosporin-hydrolyserende klasse C β -laktamase. *blaEC*-genet identifiseres ofte i genomet til bakterieisolater som er mottakelige mot β -laktamer, og har blant annet blitt påvist i *E. coli* og Salmonella (Thomson et al., 2022; Yang et al., 2020). I en studie utført av Thomson et al. ble det rapportert om at 97% av *E. coli*-isolatene som ble helgenomsekvensert var bærere av *blaEC*-genet (Thomson et al., 2022). En annen studie rapporterte om *blaEC* var et av de ni mest utbredte antibiotikaresistens-genene blant de åtte studerte landene (Yang et al., 2020). Funnet av resistensgenet *blaEC* hos *E. coli* ST131 er derfor ikke overraskende.

5.5.1.2 *blaCTX-M*

blaCTX-M-gener koder for en gruppe klasse A utvidet spektrum β -laktamaser, og har siden tidlig på 2000-tallet vært den mest utbredte gruppen av ESBL-er. Enzymene har raskt spredt seg globalt, og til nå finnes det over 50 allotyper CTX-M β -laktamaser (Rossolini et al., 2008). Tidligere har infeksjoner forårsaket av ESBL-produserende patogener vært assosiert med sykehus, men de siste årene har det også dukket opp ESBL-produserende stammer

utenfor sykehusmiljøet. Spredningen av disse enzymene både i og utenfor sykehusmiljøet betraktes som bekymringsverdig, da spredningen kan ha store konsekvenser for ulike medisinske behandlinger, som blant annet antimikrobiell kjemoterapi. I en studie utført av Rossolini et al. ble det rapportert om at de fleste samfunnservvede infeksjonene skyldes *E. coli* med CTX-M-type β -laktamaser (Rossolini et al., 2008). Disse funnene anses som kritiske, ettersom enkelte *E. coli*-stammer kan forårsake ekstraintestinale infeksjoner, bakteriemi, meningitt og urinveisinfeksjoner (Cantón & Coque, 2006).

Nyere studier viser at det er betydelig høye forekomster av CTX-M-enzymmer blant *E. coli*- og *K. pneumoniae*-isolater som produserer ESBL-er i Sør-Amerika, Asia og Europa. Rossolini et al. rapporterte om at i enkelte studier var forekomsten av CTX-M så høyt som 89,7 % i *E. coli* og 58,5 % i *K. pneumoniae* (Rossolini et al., 2008). En annen studie utført av Livermore et al. ble det rapportert om at omtrent 51% av *E. coli*-isolatene fra England som ble undersøkt var bærere av CTX-M-enzymmer (Livermore et al., 2007). Hu et al. observerte at 12.5 % av bakteriene isolert fra ulike vannprøver var CTX-M produserende *E. coli*-stammer (Hu et al., 2013). *E. coli* betraktes som den viktigste patogene bakterien som produserer disse enzymene, og på bakgrunn av disse aspektene betraktes ikke funnet av CTX-M-15 i *E. coli* ST131 som overraskende (Cantón & Coque, 2006). Funnet er imidlertid bekymringsverdig, ettersom *E. coli* ST131 er en ekstraintestinal patogen høyrisiko klon som årlig forårsaker en rekke antibiotikaresistente infeksjoner globalt.

5.5.1.3 *blaTEM*

blaTEM koder for TEM- β -laktamaser som er spesielt assosiert med Enterobacteriaceae. Genet er et av de mest utbredte resistensgenene som finnes i miljøet, og brukes regelmessig som en indikator på menneskeskapt forurensning av antibiotikaresistens (Narciso-da-Rocha et al., 2014; Singh et al., 2016). TEM- β -laktamaser er svært distribuerte plasmidmedierte enzymer, og inkluderer både bredspektrede og utvidet spektrum β -laktamaser (Singh et al., 2016). Narciso-da-Rocha et al. bekreftet at sykehusavløp er en viktig kilde til *blaTEM*-gener, og at behandling av avløpsvann hadde en begrenset kapasitet til å fjerne resistensgenene *blaTEM* og *vanA* (Narciso-da-Rocha et al., 2014). En studie utført av Seyedjavadi et al. viste at 67% av de undersøkte ESBL-produserende *E. coli*-isolatene isolert fra sykehusinnlagte pasienter med urinveisinfeksjon var bærere av *blaTEM*-genet (Seyedjavadi et al., 2016).

En annen studie fra Irak viste at 81% av *E. coli*-isolatene som ble undersøkt var bærere av *bla*TEM (Pishtiwan & Khadija, 2019). Videre har Ugbo et al. rapportert at 55% av *E. coli*-isolatene som ble isolert fra pasienter med sår- og urinveisinfeksjon hadde *bla*TEM-genet (Ugbo et al., 2020). Funnet av *bla*TEM i *E. coli* ST131 anses derfor ikke som overraskende.

5.5.1.4 *aph(3')-IIB*

aph(3')-IIB koder for et kromosomalt aminoglykosid-fosfotransferase-gen som forårsaker resistens mot flere aminoglykosider. Resistensgenet ble påvist i *P. aeruginosa* i 1996, og det ble da antatt at tilstedeværelsen av dette genet bidro til resistens mot kanamycin hos *P. aeruginosa* (Hainrichson et al., 2007). Zen & Jin rapporterte om at resistensgenet kunne danne en operonstruktur med dens *hpaA*-homolog, som ligger oppstrøms for *aph(3')-IIB*. Tilstedeværelsen av 4-HPA aktiverer operonet og gjør det mulig for *P. aeruginosa* å bruke 4-HPA som eneste karbonkilde. I tillegg fører også aktivering av *hpa*-regulonet til økt ekspresjon av *aph(3')-IIB*, noe som forårsaker økt resistens mot aminoglykosider i *P. aeruginosa* (Zeng & Jin, 2003). Aminoglykosider regnes fremdeles som et viktig legemiddel i behandlingen av infeksjoner som skyldes *P. aeruginosa* (Hainrichson et al., 2007). På grunn av at *P. aeruginosa* innehar en naturlig iboende resistens mot en rekke antibakterielle midler, er funnet av *aph(3')-IIB* i *P. aeruginosa* ST308 bekymringsverdig. Identifiseringen av *aph(3')-IIB* er imidlertid ikke oppsiktsvekkende, da genet regelmessig påvises i *P. aeruginosa*.

5.5.1.5 *bla*OXA

*bla*OXA koder for karbapenem-hydrolyserende oksacillinaser, og har de siste årene dukket opp i flere bakteriearter (Bonardi et al., 2021). *bla*OXA er ofte lokalisert på et integron eller plasmid og er ofte årsaken til karbapenemresistens i en rekke bakterier (Bonardi et al., 2021; Castanheira et al., 2011; Khan et al., 2021). I en studie gjort av Khan et al. ble det rapportert at to *P. aeruginosa* ST308-isolater fra 2018 var bærere av *bla*OXA-488-genet (Khan et al., 2021). En annen studie utført av Sid Ahmed viste at 42,5% av *P. aeruginosa*-isolatene som var resistente mot ceftazidime/avibactam og/eller ceftolozane/tazobactam var bærere av *bla*OXA-488 (Sid Ahmed, 2020). Bonardi et al. rapporterte at et *P. aeruginosa*-isolat isolert fra en pasient hadde *bla*OXA-488-genet. Sid Ahmed et al. rapporterte at *bla*OXA-genet ble funnet i 37,3% av *P. aeruginosa*-isolatene som ble undersøkt (Sid Ahmed et al., 2022). Funnet av *bla*OXA-488 i *P. aeruginosa* ST308 er derfor ikke overraskende. Funnet er imidlertid bekymringsverdig, da *P. aeruginosa* forårsaker en rekke antibiotikaresistente

infeksjoner årlig, i tillegg til at bakterien innehar naturlig iboende resistens mot flere antibiotika.

5.5.1.6 *blaPDC*

blaPDC koder for en klasse C β -laktamase og forårsaker resistens mot kefalosporiner. Det har blitt rapportert om flere funn av *Pseudomonas*-avlede kefalosporinaser (PDC) med utvidet spektrum på kromosomet til *P. aeruginosa*. Tilstedeværelse av kromosomalt mediert PDC kombinert med andre iboende mekanismer hos *P. aeruginosa*, forårsaker infeksjoner med høy dødelighet (Ingti et al., 2017). En studie utført av Cho et al. viste at alle de 61 karbapenem-resistente *P. aeruginosa*-isolatene som ble isolert fra pasienter ved et sykehus i Korea var bærere av PDC-genet. Denne studien rapporterte om funn av 6 varianter av PDC, mens en annen studie fra Frankrike har rapportert om funn av 10 ulike varianter av PDC-genet (Cho et al., 2015). Upadhyay et al. rapporterte i 2014 at 15 % av de undersøkte *P. aeruginosa*-isolatene hadde *blaPDC*-genet (Upadhyay et al., 2013). PDC er en variant av *AmpC* β -laktamasen som både kan være kromosomalt mediert eller plasmidmediert (Cho et al., 2015; Upadhyay et al., 2013). Plasmid-mediert *AmpC* β -laktamaser kan spres via horisontal genoverføring, noe som resulterer i at de enkelt kan overføres til andre bakterier (Cho et al., 2015). Det har blitt rapportert funn av *blaPDC*-1, *blaPDC*-2, *blaPDC*-3, *blaPDC*-4, *blaPDC*-5, *blaPDC*-6, *blaPDC*-7, *blaPDC*-8, *blaPDC*-9, *blaPDC*-10, *blaPDC*-35, *blaPDC*-197, *blaPDC*-374, *blaPDC*-55, *blaPDC*-133, *blaPDC*-66, *blaPDC*-15, *blaPDC*-16, *blaPDC*-22, *blaPDC*-34, *blaPDC*-38, *blaPDC*-46, *blaPDC*-59, *blaPDC*-100, *blaPDC*-116, *blaPDC*-123, *blaPDC*-167, *blaPDC*-101, *blaPDC*-167, *blaPDC*-264, *blaPDC*-308, *blaPDC*-364, *blaPDC*-374 og *blaPDC*-385 (Cho et al., 2015; Sid Ahmed et al., 2022; Upadhyay et al., 2013; Zaidi et al., 2023). I denne masteroppgaven ble *blaPDC*-19a funnet hos *P. aeruginosa* ST308, og ettersom det ikke har blitt rapportert funn av *blaPDC*-19a før, kan det antas at dette genet er sjeldent.

5.5.1.7 *catB7*

De fleste slekter av Gram-negative og Gram-positive bakterier innehar kloramfenikol-acetyltransferase (*cat*)-gener. Disse genene forårsaker resistens mot kloramfenikol ved at de katalyserer overføringen av acetyl fra acetyl-CoA til et kloramfenikol-molekyl. Denne overføringen resulterer i et inaktivt O-acetoksyderivat av kloramfenikol-molekylet som ikke kan bindes til den 50S ribosomale subenheten (Wang & Liu, 2004). Kloramfenikol-

acetyltransferase-gener kan deles inn i to typer, *catA* og *catB*, hvorav *catB*-genene ble identifisert sent på 1990-tallet (Wang & Liu, 2004; White et al., 1999). Mekanismen til kloramfenikol-acetyltransferase-genene er den best forståtte mekanismen for kloramfenikol-resistens. Det ble imidlertid rapportert om at *cat*-aktiviteten ikke korrelerte med følsomheten ovenfor kloramfenikol til alle *P. aeruginosa*-stammene inkludert i studien utført av Wang & Liu. Dette indikerte at *catB7*-genet ikke var hoved-determinanten for resistens mot kloramfenikol i *P. aeruginosa*-stammene som ble undersøkt (Wang & Liu, 2004). Funnet av *catB7* i *P. aeruginosa* ST308 er ikke uventet.

5.5.1.8 *crpP*

crpP koder for et ciprofloxacin-modifiserende enzym, som for bare noen år siden ble identifisert i kliniske *P. aeruginosa*-isolater (Chávez-Jacobo et al., 2018; Ortiz de la Rosa et al., 2020). Genet *crpP* finnes på plasmidet pUM505 hos *P. aeruginosa* og forårsaker redusert følsomhet for ciprofloxacin, norfloxacin og moxifloxacin ved enzymatisk fosforylering (Chávez-Jacobo et al., 2018; Hernández-García et al., 2021; Ortiz de la Rosa et al., 2020). Ciprofloxacin, norfloxacin og moxifloxacin er antibiotika som tilhører klassen kinoloner som ofte brukes til behandling av infeksjoner (Chávez-Jacobo et al., 2018; Hernández-García et al., 2021). Genet ble først identifisert i 2018, og siden da har *crpP*-gener blitt påvist som en del av ulike mobile integrative og konjugative elementer (ICEs) som ofte overføres horisontalt. Det har imidlertid også blitt lokalisert homologe *crpP*-gener i kromosomale patogenisitets-genomiske-øyer (PAGI) i kliniske *P. aeruginosa*-isolater fra Frankrike og Sveits (Hernández-García et al., 2021). Med tanke på at *crpP* nylig ble identifisert, kan funnet av dette genet anses som oppsiktsvekkende.

5.5.1.9 *fosA*

Blant Gram-negative patogene bakterier er *fosA* svært utbredt, og genet kan være kodet på et plasmid eller et bakterielt kromosom (Ito et al., 2017). *fosA* er en antibiotisk forbindelse som produseres naturlig av flere *Streptomyces* og *Pseudomonas* arter, og er i likhet med de andre fosfomycin-resistensproteinene et metalloenzym. Fosfomycin har i flere år blitt benyttet for å behandle infeksjoner forårsaket av legemiddelresistente Gram-negative patogener og da spesielt ved ukompliserte urinveisinfeksjoner (Castañeda-García et al., 2013). Resistensgenet er en Mn^{2+} og K^{+} avhengig glutation S-transferase som forårsaker fosfomycinresistens ved konjugering av glutation til epoksidringen til fosfomycin, noe som resulterer i at

antibiotikumet blir inaktivt (Castañeda-García et al., 2013; Ito et al., 2017). Ettersom *fosA* er svært utbredt og fosfomycin-resistensproteinene ofte identifiseres i ulike bakteriarter, er ikke funnet av *fosA* i *P. aeruginosa* ST308 overraskende.

5.5.1.10 *blaFONA-6* og *blaFONA-8*

blaFONA-6 koder for en kromosomalt mediert klasse A β -laktamase med utvidet spektrum som tilhører FONA-familien. *blaFONA-6* forårsaker resistens mot β -laktamer i *S. fonticola* og andre *Serratia* spp. Frem til 2020 var det rapportert om 6 ulike varianter av *blaFONA*-genet, men i 2020 rapporterte Fuentes-Castillo et al. om funn av en ny *blaFONA*-variant som fikk navnet FONA-7 (Fuentes-Castillo et al., 2020). I en studie utført av Tanimoto et al. ble det rapportert om funn av 5 nye *blaFONA*-gen som var forskjellig fra de 6 *blaFONA*-genene som allerede er rapportert. Basert på aminosyresekvens skilte de 5 *blaFONA*-genene, som Tanimoto et al. observerte, seg fra tidligere rapporterte *blaFONA*-gener (Tanimoto et al., 2021).

I følge «NCBI National Database of Antibiotic Resistant Organisms (NDARO)» ble resistensgenet *blaFONA-6* funnet i prøve FOSS2-*Serr*-E. Ettersom identiteten til den respektive prøven ikke kunne fastslås, ble FONA-proteinet observert hos FOSS2-*Serr*-E, som nevnt tidligere, sammenlignet med den kjente FONA-varianten, *blaFONA-8*. *blaFONA-8* koder også for en klasse A β -laktamase med utvidet spektrum og forårsaker, i likhet med *blaFONA-6*, resistens mot β -laktamer i *Serratia* spp. FONA-varianten observert i prøve FOSS2-*Serr*-E skilte seg fra *blaFONA-8*, ved at alanin var mutert til valin i posisjon 24. I likhet med hva Tanimoto et al. observerte, ble det også i denne masteroppgaven observert en aminosyresubstitusjon hos *blaFONA*-genet som prøve FOSS2-*Serr*-E innehar. Med tanke på hvor lik sekvensen til *blaFONA*-genet observert hos prøve FOSS2-*Serr*-E er sekvensen til *blaFONA-8*, kan det antas at den respektive prøven ikke innehar genet *blaFONA-6*, men en variant av genet *blaFONA-8*. Denne varianten av genet *blaFONA-8* har blitt observert i to andre prøver, men har ikke blitt navnsatt eller fått et nummer enda.

Mari Anida Hafsås har i hennes masteroppgaven rapportert om et funn av en annen *blaFONA*-variant. *blaFONA*-varianten som ble observert i prøve P16(E)Jons_*Serr* skilte seg fra *blaFONA-8*, ved at asparagin var mutert til asparaginsyre i posisjon 96. Det vil si at FONA-proteinet observert hos FOSS2-*Serr*-E er ulikt proteinet som ble observert i prøve

P16(E)Jons_Serr. Med andre ord har det altså blitt funnet to forskjellige FONA-varianter som ikke har fått et nummer eller navn enda.

5.5.2 Gener som koder for virulens i bakterieprøvene

Patogenisiteten til en bakterie er avhengig av tilstedeværelsen av ulike virulensfaktorer, som blant annet inkluderer en rekke overflateproteiner, cellulære proteiner, proteaser og toksiner. Overflateproteiner spiller en viktig rolle i bindingen og koloniseringen av bakteriene i det cellulære- og ekstracellulære vevet til verten, mens cellulære proteiner, proteaser og toksiner hemmer fagocytose, noe som resulterer i at vertens evne til aktivt å hindre infeksjon ved en spesifikk immunrespons forstyrres. Hemolysin og andre enzymer bidrar også til at bakteriepopulasjonen kan invadere vertsvevet. De siste tiårene har også akkumulering av resistensfaktorer blitt en viktig faktor som påvirker patogenisiteten til en bakterie. Flere bakterier har utviklet resistens mot en rekke antibiotika, noe som øker deres evne til å overleve i fiendtlige miljøer. En økende forekomst av resistente bakteriestammer kan resultere i utbrudd av ulike sykehus- og samfunnservvervede infeksjoner (Kumar et al., 2009).

De siste årene har bakterielle infeksjoner blitt undersøkt ved hjelp av rekombinant DNA-teknologi og cellebiologi. I tillegg har ulike genetiske teknikker blitt utviklet for å identifisere virulensgener. Disse to aspektene har gjort det mulig å forstå og overvåke både virulensfaktorer og resistensmekanismer hos patogene bakterier. Som et resultat av dette har forståelsen av det molekylære grunnlaget for virulens hos enkelte patogene bakterier økt betydelig. Økt forståelse og overvåking av både virulensfaktorer og resistensmekanismer bidrar til å utvikle effektive tiltak og strategier for å forebygge og behandle bakterielle infeksjoner (Tang & Holden, 1999). I denne masteroppgaven ble en rekke viktige virulensfaktorer identifisert i prøve FOSS9-*E. coli*-E.

5.5.2.1 *afaA*, *afaD* og *afaE-I*

afaA, *afaD*, *afaE-I* er kromosomale ekstraintestinale virulensgener som koder for afimbrielle adhesiner og som uttrykkes av uropatogene og diaréassosierte *E. coli*-stammer (Garcia et al., 1994; Nuesch-Inderbinen et al., 2018). Afa-genene kan også være lokalisert på plasmider og kan derfor overføres til andre bakterier via mobile genetiske elementer. Både *afaA*, *afaD* og *afaE-I* er en del av Afa chaperone-usher fimbriae, som er en viktig UPEC virulensdeterminant (Alvarez-Fraga et al., 2022). Afa fimbriae bidrar også til virulensen til EIEC, og det har blitt

antatt at afa-genene har en høy prevalens i *E. coli* ST131 (Alvarez-Fraga et al., 2022; Wurpel et al., 2013). En studie utført av Alvarez-Fraga et al. viste at afa-gener er svært utbredt i *E. coli* ST131 (Alvarez-Fraga et al., 2022).

5.5.2.2 *fyuA*

Virulensgenet *fyuA* koder for en jern-yersiniabaktin-opptaksreseptor som er assosiert med UPEC og ExPEC (Hancock et al., 2008; Spurbeck et al., 2012). Proteinet som *fyuA* koder for er en del av FyuA/yersiniabaktin-systemet, som er anerkjent for være en viktig virulensfaktor. I FyuA/yersiniabaktin-systemet fungerer FyuA som den ytre membranreseptoren til Fe-Ybt sideroforen, og importerer derfor jern inn i bakteriecellene (Hancock et al., 2008).

Virulensgenet har vært forbundet med virulens hos en rekke bakterier som tilhører familien Enterobacteriaceae, og regnes som den beste prediktoren for UPEC (Hancock et al., 2008; Spurbeck et al., 2012). En studie utført av Hancock et al. viste at FyuA er en svært viktig faktor for biofilmdannelse i miljøer med redusert jernnivåer, som blant annet inkluderer menneskelig urin. Det ble også bekreftet at proteinet var viktig for biofilmdannelse ved urinveisinfeksjon-assosiert *E. coli* (Hancock et al., 2008). Spurbeck et al. rapporterte at *fyuA*, i likhet med *yfcV*, *vat* og *chuA*, er gener som er assosiert med en rekke andre UPEC virulensfaktorer. Videre rapporterte også studien om at av 227 undersøkte *E. coli*-stammer var 164 stammer positive for virulensgenet *fyuA* (Spurbeck et al., 2012).

5.5.2.3 *irp1* og *irp2*

Virulensgenene *irp1* og *irp2* koder for to jern-regulerende proteiner som er involvert i syntesen av yersiniabaktin siderofor i patogene bakterier som eksempelvis *Yersinia*, *Klebsiella* og *E. coli* (de Cássia Andrade Melo et al., 2014; Oshima et al., 1995; Zhou & Tan, 2017). Proteinene regulerer balansen og tilgjengeligheten av jern i bakteriene ved å binde seg til spesifikke ikke-kodende sekvenser, bedre kjent som jern-responsive elementer (Zhou & Tan, 2017). *irp*-gener kan finnes på høy-patogenisitets-øyer som er en del av kromosomet, eller på plasmider som gjør at de enkelt kan spres via horisontal genoverføring (de Cássia Andrade Melo et al., 2014; Oshima et al., 1995). I en studie utført av de Cássia Andrade Melo ble det rapportert om at tilstedeværelsen av yersiniabaktin i enkelte patogene *Yersinia*-arter var assosiert med høy patogenisitet, som inkluderte evnen til å forårsake systemiske infeksjoner og død hos mus (de Cássia Andrade Melo et al., 2014). En annen studie utført av Schubert et al. viste at *irp2-fyuA*-genklusteret ble påvist i mer en 93 % av EAEC-stammene,

27% av EIEC-stammene og 5 % av ETEC- og EPEC-stammene som ble inkludert i studien (Schubert et al., 1998).

5.5.2.4 *iucA, iucB, iucC, iucD og iutA*

Virulensgenene *iucA, iucB, iucC, iucD* og *iutA* er en del av aerobaktin-jern-transportsystemet som er til stede i enkelte *E. coli*-stammer og andre bakterier tilhørende Enterobacteriaceae. *iucA, iucB, iucC* og *iucD* er involvert i syntesen av yersiniabaktin, mens *iutA* koder for et protein som er involvert i å transportere jern som er bundet til yersiniabaktin inn i bakteriecellen. *iucD* medierer NE-hydroksyleringen av L-lysin og *iucB* medierer acetyleringen av N'-hydroksylysin, mens *iucC* er assosiert med syntetase-reaksjonen. Det antas også at *iucA* er involvert i syntetase-reaksjonen. Genene er funnet på plasmider, noe som resulterer i at de enkelt kan spres til andre bakterier (De Lorenzo & Neilands, 1986). Virulensgenet *iucC* har blitt påvist i enkelte ExPEC-stammer (Malberg Tetzschner et al., 2020).

5.5.2.5 *kpsM*

Virulensgenet *kpsM* koder for det kapselformede polysakkarid-transportgenet M tilhører en familie av prokaryote og eukaryote proteiner, som er involvert i flere biologiske prosesser, inkludert membrantransport i bakterier (Bolton, 2015; Pavelka Jr et al., 1991). *kps*-gener har blitt funnet på kromosomet til flere bakterier, inkludert *E. coli* og *Campylobacter jejuni* (Bachtiar et al., 2007; Bacon et al., 2001). Pavelka Jr et al. rapporterte at de trodde *kpsM* og *kpsT* dannet et transportsystem som benyttes av bakterier for å transportere polysialsyre over den cytoplasmiske membranen (Pavelka Jr et al., 1991).

5.5.2.6 *malX*

malX er et virulensgen som koder for fosfotransferase-system-enzym II og som bruker glukose og maltose som hovedsubstrater. Virulensgenet er assosiert med UPEC, og en studie utført av Yazdanpour et al. viste at *malX* ble funnet i 74.2 % av de undersøkte UPEC-stammene. Genet er en del av en PAI, hvorav tilstedeværelsen av virulensgenet var signifikant tilknyttet med resistensen mot ulike antibiotika. Studien utført av Yazdanpour et al. viste også at tilstedeværelsen av *malX*-genet var høyere i de antibiotikaresistente isolatene sammenlignet med isolatene som ikke var resistente mot antibiotika. Videre ble det også vist at *malX*-genet var fraværende i fosfomycin-resistente isolater (Yazdanpour et al., 2020).

5.5.2.7 *papA*, *papB*, *papC*, *papI* og *papX*

Virulensgenene *papA*, *papB*, *papI* og *papX* er en del av et genkluster som medierer produksjonen av pilli i UPEC. *papA* koder for Pap pilli subenhet, *papB* koder for et Pap operon regulatorisk protein, mens *papI* koder for et fimbrial regulatorisk protein og *papX* koder for et ikke strukturelt protein. Funksjonen til virulensgenet *papX* i *E. coli* er ukjent (Rasko et al., 2001). *papC* koder for det ytre membranproteinet PapC som er ansvarlig for pilus-membran-translokasjon (Locht et al., 1992). *papC* er en del av et operon der *papS*, *papA*, *papH* og *papC* er ko-transkribert (Norgren et al., 1987). En studie utført av Reiss & Mobley viste at *papX*-genet er mer virulent i UPEC-isolater, samt at genet er mer utbredt i bakteriestammer som er assosiert med pyelonefritt enn i asymptomatisk bakteriuri- eller fekale/kommensale *E. coli*-stammer (Reiss & Mobley, 2011).

5.5.2.8 *aec35* og *aec36*

aec35 og *aec36* er en del av en selC-assosiert genomisk-øy som blant annet finnes hos den ekstraintestinale fuglepatogene *E. coli*-stammen BEN2908. Det er antatt at *aec35* koder for en transkripsjonsregulator av LacI-familien, mens *aec36* koder for en stor facilitator-superfamilie transportør. Genklyngen som *aec35* og *aec36* er en del av er assosiert med assimilering av karbohydrater, og ble funnet i 11,6 % av de undersøkte patogene og ikke-patogene *E. coli*-stammene. Chouikha et al. rapporterte at sletting av *aec35*-*aec37*-genklyngen reduserte veksthastigheten til enkelte *E. coli*-stammer, påvirket assimileringen av syv karbohydrater og dempet virulensen til *E. coli*-stammen BEN2908 for kyllinger. Genklyngen som disse virulensgenene er en del av finnes på kromosomet til bakterier, og har blitt *Shigella sonnei*, *Yersinia pseudotuberculosis*-stammer, *Yersinia pestis biovar Orientalis*-stammer, *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica*-stammer og *Yersinia pestis biovar Medievalis*-stammer (Chouikha et al., 2006).

5.5.2.9 *autA* og *autR*

autA koder for en APEC UpaB transkripsjonell aktivator, mens *autR* koder for en APEC UpaB transkripsjonell repressor. De to virulensgenene påvirker uttrykket av hundrevis av gener når både *autA* og *autR* er til stede. En studie utført av Zhuge et al. viste at uttrykket av adhesinet UpaB i APEC-stamme DE205B ble samregulert av virulensgenene *autA* og *autR*, samt at genene direkte kunne binde upaB-promoter-DNA. Studien indikerte også virulensgenet *autA* kunne aktivere transkripsjonen av upaB, mens *autR* kunne hemme

transkripsjonen av *upaB*. Dette skyldes at den aktiverende effekten av *autA* på *UpaB*-ekspressjonen ble direkte undertrykt av *autR*. Zhuge et al. rapporterte også at *autA* og *autR* samregulerte enkelte syreressistenssystemer i *E. coli* «acid fitness island (AFI)».

Virulensgenene er også assosiert med syretoleranse og K1-kapselbiosyntese i *E. coli* (Zhuge et al., 2016). Det har også blitt rapportert at *autA* er involvert i initieringen av biofilmdannelse (Arenas et al., 2015).

5.5.2.10 *upaB* og *upaC*

Virulensgenene *upaB* og *upaC* koder for autotransportør adhesiner som er assosiert med UPEC-stamme CFT073. En studie utført av Allsopp et al. viste at *UpaB* medierer adherens til en rekke ECM-proteiner, mens ekspressjonen av *UpaC* er assosiert med økt biofilmdannelse. Studien viste også at *upaB* var til stede i 58 % av UPEC-stammene som ble undersøkt, mens *upaC* var til stede i 47 % av stammene. I de ikke-patogene *E. coli*-stammene som ble undersøkt, var *upaB* til stede i 42 %, mens *upaC* var til stede i 34 % av stammene. Allsopp et al. rapporterte også at virulensgenene var funksjonelle og at proteinene som genene kodet for er lokalisert på celleoverflaten i *E. coli* (Allsopp et al., 2012).

5.5.2.11 *c4485* og *c4759*

Det er antatt at *c4485* koder PTS-enzym II fruktose, mens *c4759* koder for transketolase 1. Disse to virulensgenene er to UPEC-spesifikke gen som har blitt identifisert ti UPEC og fire fekale/kommensale *E. coli*-stammer ved bruk av komparativ genomisk hybridiseringsanalyse og in silico BSR-analyse (Lloyd et al., 2007).

5.5.2.12 *fmlA*

fmlA (F9-fimbriae) koder for en funksjonell chaperone-usher fimbrial type i UPEC. F9 fimbriae tilhører γ 1 fimbrial-subkladen og er genetisk og strukturelt tett beslektet med type 1 og F1C/S fimbriae. En studie utført av Wurpel et al. viste at undertrykkelse av f9 fimbrial-genklusteret ble dempet ved lave temperaturer, noe som resulterte i at F9 fimbriae medierte dannelse av biofilm på abiotiske overflater i en rekke villtype *E. coli*-stammer. I den samme studien ble også bevaringen og evolusjonshistorien til F9 fimbriae blant ulike *E. coli* fylogrupper undersøkt. Resultatet fra studien indikerte at f9-operonet var intakt i 60 % av de undersøkte *E. coli*-stammene. Det intakte f9-operonet ble påvist i alle AIEC-, EAEC- og EPEC-stammene som ble undersøkt. I de undersøkte EHEC-stammene ble det intakte f9-

operonet påvist i 87,5 % av stammene, mens i de undersøkte ETEC-stammene ble ikke det intakte f9-operonet påvist (Wurpel et al., 2014).

5.5.2.13 *usp*

usp koder for UPEC spesifikke proteiner som betraktes som en viktig virulensdeterminant for uropatogen *E. coli*. Proteinene er et gentoksin som er aktivt mot pattedyrceller, og som ofte er assosiert med stammer som forårsaker prostatitt, pyelonefritt, urinveisinfeksjoner og bakteriemi. En studie utført av Yamamoto et al. viste at virulensgenet har blitt funnet på en antatt virulens-øy, og var signifikant oftere assosiert med UPEC-stammer isolert fra pasienter med cystitt, pyelonefritt og prostatitt, enn med fekale *E. coli*-stammer isolert fra friske pasienter (Yamamoto et al., 2001).

5.5.2.14 *ychO*

ychO koder for et protein som er antatt å fungere som et adhesin i APEC-stammen SEPT362, og dermed spille en vesentlig rolle i patogenisiteten til denne stammen. Pilatti et al. foreslo at virulensgenet *ychO* påvirker en rekke biologiske egenskaper, som blant annet inkluderer invasjon av *in vitro*-dyrkede celler, adhesjon, motilitet og biofilmdannelse. Pilatti et al. antok at påvirkningen av disse biologiske egenskapene var et resultat av membranplasseringen av dette proteinet. Studien utført av Pilatti et al. viste at virulensgenet *ychO* var sterkt uttrykt i lungene og milten under *in vivo*-infeksjonsanalyser av APEC-stammen SEPT362. Dette funnet antydde viktigheten av *ychO* i *in vivo*-kolonisering av verten (Pilatti et al., 2016).

5.5.2.15 *sat*

Virulensgenet *sat* koder for et autotransport-toksin produsert av enkelte UPEC-stammer. Genet er ofte lokalisert på PAI II hos *E. coli*-stammene som innehar *sat*-genet. Virulensgenet, som er en del av autotransportør-familien av proteiner, har vist serinproteaseaktivitet og cytopatisk aktivitet mot blant annet dyrkede nyre-, blære- og epitelceller. I tillegg har det også blitt observert at *sat* har evnen til å fremkalle en kraftig antistoffrespons etter eksperimentell infeksjon. På bakgrunn av disse observasjonene har virulensgenet *sat* blitt foreslått som en virulensdeterminant i UPEC-stammer. En studie utført av Guyer et al. viste at 31 % av de undersøkte Shigella spp.-stammene, 25 % av de undersøkte EPEC-stammene, 38 % av de undersøkte EAEC-stammene og 17 % av de undersøkte EHEC-stammene hadde sekvenser som var homologt med *sat*-genet. Det ble derimot ikke observert sekvenser homologt med *sat*-genet i de undersøkte EIEC- eller ETEC-stammene (Guyer et al., 2000).

5.5.2.16 *sitA*, *sitB*, *sitC* og *sitD*

Virulensgenene *sitA* koder for et periplasmatisk bindende protein, mens *sitB* koder for et protein involvert i jern- og mangantransport. *sitC* og *sitD* koder for to membrankomponenter involvert i transporten av jern og mangan. Både *sitA*, *sitB*, *sitC* og *sitD* er en del av *sitABCD*-systemet som både kan være lokalisert på et plasmid eller kromosom (Mbanga & Nyararai, 2015). Virulensgenene bidrar til virulens, og er sterkt assosiert med humane ekstraintestinale patogener *E. coli* og APEC-stammer (Mbanga & Nyararai, 2015; Sabri et al., 2008). Mbanga & Nyararai rapporterte at *sitA* var til stede i 11,1% av de undersøkte APEC-stammene, mens *sitD* var til stede i 13,3 % av de undersøkte APEC-stammene (Mbanga & Nyararai, 2015). En annen studie utført av Sabri et al. viste at alle de humane ExPEC-stammene som ble undersøkt inneholdt *sit*-sekvenser, mens ca. 9 % av EAEC-isolatene som ble testet hadde *sit*-sekvenser. Studien viste også at tilstedeværelsen av *sit*-sekvenser var høyere i de svært virulente APEC-stammene, i motsetning til de mindre virulente stammene som ble undersøkt. Sabri et al. rapporterte også at sekvenser som kodet for *sit*-gener var sterkt assosiert med APEC-stammer sammenlignet med fugl-fekale (avian fecal) isolater. Studien viste at 93 % av APEC isolatene var positive for *sit*-gener, mens bare 44 % av de undersøkte fugl-fekale isolatene var positive (Sabri et al., 2008)

5.5.2.17 *traT*

traT koder for det ytre membranlipoproteinet TraT som er til stede naturlig i *E. coli*-isolater, og som er involvert i overflateeksklusjon (Montenegro et al., 1985; Riede & Eschbach, 1986). Virulensgenet har evnen til å gi vertsbakterien resistens mot den skadelige og dødelige virkningen av komplementsystemet som finnes i pattedyr (Binns et al., 1982; Montenegro et al., 1985; Riede & Eschbach, 1986). *traT*-genet som er ansvarlig for komplement-resistensen til R100-plasmidet (Binns et al., 1982).

5.5.2.18 *upaG/ehaG*

upaG koder for et trimerisk autotransportør protein som involvert i adhesjon til humane blæreepitelceller, mens *ehaG* er en posisjonell ortolog av *upaG* (Valle et al., 2008). *upaG* har blitt påvist i UPEC-stammer, mens *ehaG* har blitt identifisert i i enterohemoragisk *E. coli* O157:H7 (Totsika et al., 2012). Begge virulensgenene er lokalisert på bakterieoverflaten, og har evnen til å fremme adherens til flere ECM-proteiner, biofilmdannelse og celleaggregering (Totsika et al., 2012; Valle et al., 2008). En studie utført av Totsika et al. viste at *upaG* og

ehaG hadde ulike funksjonelle egenskaper, samt at deres uttrykk i EHEC og UPEC var regulert på en vanlig måte av histon-lignende nukleoid strukturerende (H-NS) protein. I tillegg har virulensgenet *upaG* har regelmessig blitt assosiert med ExPEC-stammer (Totsika et al., 2012).

5.5.2.19 *draP*

Virulensgenet *draP* er en del av Afa/Dr Fimbriae-systemet, som er en gruppe adhesiner som er sterkt assosiert med UPEC. En studie utført av Alvaretz-Fraga et al. viste at Afa/Dr Fimbriae-systemet fantes i omtrent en tredjedel av alle ST131-stammer. Det er en klynge av gener organisert i to divergerende transkripsjonsenheter som koder Afa/Dr fimbriae-systemet. Den primære transkripsjonsenheten omfatter gener som koder for en regulator, en chaperone, en usher, en repeterende hovedadhesin-subenhet og et og spissassosiert capping-subenhetsprotein. I tillegg til en mindre transkripsjonsenhet som inneholder et enkelt regulatorisk gen (Alvarez-Fraga et al., 2022).

5.5.2.20 *daaF*

daaF er en del av F1845 fimbriae-systemet som er ansvarlig for den diffuse celleadherensen til et *E. coli*-isolat assosiert med diaré. For at F1845 fimbriae-systemet skal produseres må genene kodes i følgende rekkefølge; *daaA*, *daaB*, *daaC*, *daaD* og *daaE*. Disse genene utgjør en enkelt transkripsjonsenhet som blir kontrollert av en *daaA*-promotor. I en studie utført av Servin et al. ble det rapportert at *daaF* deler begrenset homologi med *papB*- og *papI*-genene til henholdsvis P fimbrial adhesin (Servin, 2005).

5.5.3 Screening etter antibiotikaresistens

Økt forekomst av antibiotikaresistens i bakterier er av stor bekymring globalt, da antibiotika brukes i behandlingen av bakterielle infeksjoner. De fleste *E. coli*-stammer er som nevnt tidligere apatogene bakterier som finnes i tarmfloraen til varmblodige mennesker og dyr, men enkelte *E. coli*-stammer kan være patogene dersom de finnes i urinveiene eller i blodet (Erb et al., 2007). *E. coli* ST131 funnet i denne oppgaven er ifølge databasen «ResFinder» resistent mot amoxicillin, ampicillin, aztreonam, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cephalothin, ciprofloxacin, hydrogen peroksid, nalidixinsyre, piperacillin og ticarcillin, hvorav det er resistensgenene *bla*CTX-M-15, *bla*TEM-1, *gyrA* og *sitABCD* som forårsaker resistensen. I en studie utført av Zhanel et al. ble det rapportert at 37,7 % av de undersøkte *E. coli*-isolatene hentet fra polikliniske urinprøver var resistente mot ampicillin, mens 5,5 % av

de undersøkte *E. coli*-isolatene var resistente mot ciprofloxacin (Zhanel et al., 2005). En annen studie av Oteo et al. viste at 59,9 % av de undersøkte EIEC-isolatene var resistente mot ampicillin, mens 3 % av de undersøkte isolatene var resistente mot cefotaxime. Videre viste studien også at 3,3 % av isolatene var resistente mot ceftazidime, og 19,3 % av de undersøkte EIEC-isolatene var resistente mot ciprofloxacin (Oteo et al., 2005). Reynolds et al. har rapportert at 56 % av de undersøkte *E. coli*-isolatene var resistente mot amoxicillin, mens svært få *E. coli* isolater var resistente mot piperacillin (Reynolds et al., 2004). En studie utført av Ni Chulain et al. viste at 12,3 % av *E. coli*-isolatene hentet fra sykehus og 5,9 % av *E. coli*-isolatene hentet fra samfunnet var resistente mot nalidixinsyre (Ni Chulain et al., 2005). Videre har det i en studie av Ishii et al. blitt observert at 0,9 % av de testede *E. coli*-isolatene var resistente mot cefepime, mens 16,5 % av de undersøkte *E. coli*-isolatene var resistente mot piperacillin (Ishii et al., 2006). I tillegg har det også blitt rapportert om at *E. coli*-stammer er resistente mot ceftriaxone, som er et tredjegerasjons cefalosporin som blant annet brukes for å behandle alvorlige *E. coli*-infeksjoner (Pitout et al., 2022). Alm et al. rapportert at *E. coli* hadde redusert følsomhet for aztreonam, mens Paisley et al. har rapportert at *E. coli* hadde redusert følsomhet for ticarcillin (Mobarki et al., 2019; Paisley & Washington, 1978). I en studie utført av Sahm et al. viste at 86,6 % av *E. coli*-isolatene som ble testet var resistente mot cephalothin, mens Dukan & Touati rapporterte at *E. coli* var resistent mot hydrogenperoksid (Dukan & Touati, 1996; Sahm et al., 2001).

P. aeruginosa innehar iboende resistens mot en rekke antibiotika, dog observeres en økende resistens mot β -Laktamer hos bakterien (Poole, 2011). Ifølge databasen «ResFinder» er *P. aeruginosa* ST308 funnet i denne oppgaven resistent mot amoxicillin, ampicillin, butiromycin, cefepime, ceftazidime, kloramfenikol, ciprofloxacin, fosfomycin, gentamicin, kanamycin, neomycin, paromomycin, ribostamycin og et ukjent β -laktam, hvorav resistensen er forårsaket av resistensgenene *aph(3')-IIb*, *fosA*, *crpP*, *catB7*, *blaPAO* og *blaOXA-488*. I en studie utført av Gad et al. rapporterte at 100% av de undersøkte *P. aeruginosa*-isolatene isolert fra pasienter med luftveisinfeksjoner var resistente mot ampicillin og amoxicillin, mens 100% av de undersøkte *P. aeruginosa*-isolatene isolert fra pasienter med urinveisinfeksjon var resistente mot ampicillin, amoxicillin og kloramfenikol (Gad et al., 2008). En annen studie utført av Oudhuis et al. rapporterte at det ble observert lav resistens mot ceftazidime i de undersøkte *P. aeruginosa*-isolatene, samt at 16% av de undersøkte *P. aeruginosa*-isolatene undersøkt i 2005 var resistente mot ciprofloxacin (Oudhuis et al., 2008). Akhabue et al. rapporterte at 8,4 % av de testede *P. aeruginosa*-isolatene var resistent mot cefepime

(Akhabue et al., 2011). Det har også blitt rapportert om resistens mot fosfomycin og gentamicin i *P. aeruginosa*-isolater som er forårsaket av de respektive resistensgenene *fosA* og *aph(3')-II* (De Groote et al., 2011; Poole, 2005). Resistens mot kanamycin og neomycin har i *P. aeruginosa* har vært kjent siden 1960- og 1970-tallet (Poole, 2005). Det har også blitt rapportert om redusert sensitivitet mot ribostamycin, dog var den observerte MIC-verdien relativt lav (Kong et al., 2020). En studie utført av Daxboeck et al. viste at paromomycin hadde en dårlig *in vitro* aktivitet mot *P. aeruginosa*, da kun 4 % var følsomme ovenfor antibiotikumet (Daxboeck et al., 2013). Ingen av studiene inkluderte butiromycin, men ettersom dette antibiotikumet også tilhører klassen aminoglykosider og er forårsaket av resistensgenet *aph(3')-IIIb*, kan det antas at enkelte bakteriestammer har en redusert følsomhet for dette antibiotikumet.

Serratia er en opportunistisk familie av bakterier som innehar en rekke gener som koder for antibiotikaresistens og som kan forårsake humane infeksjoner (Sandner-Miranda et al., 2018). I *Serratia* spp. bakterien som ble funnet i denne oppgaven ble det påvist resistens mot en type antibiotika ifølge databasen «RedFinder». *Serratia* spp. var resistent mot et ukjent β -laktam-antibiotika, hvorav resistensen var forårsaket av resistensgenet *blaFONA-6*. Resistens mot β -laktam-antibiotika i *Serratia* spp. er ikke ukjent, og Sandner-Miranda et al. rapporterte at 20,38 % av de undersøkte *Serratia* spp. genomene hadde gener som koder for resistens mot β -laktamer (Sandner-Miranda et al., 2018). En annen studie utført av XX viste at 13 % av isolatene som ble undersøkt var resistente mot β -laktamer med utvidet spektrum (Livrelli et al., 1996).

5.5.4 Metallresistens

Som nevnt innledningsvis er metaller stoffer som naturlig finnes i jord. Resistens mot metaller et resultat av at bakterier har utviklet mekanismer for å motstå metallenes toksiske virkning. Metallresistens er et naturfenomenet som eksisterte lenge før metaller begynte å bli brukt som antimikrobielle midler i human- og veterinærmedisin (Argudín et al., 2019). En studie utført av Duxbury & Bicknell antydte at multiresistente, Gram-negative bakterier generelt var mer tolerante mot enkelte metaller enn Gram-positive bakterier. Det ble i tillegg rapportert om at metall-tolerante Gram-negative bakterier har evnen til å fungere uten behovet for plasmidmediert metalltoleranse i jord hvor nivået av metallforurensing er relativt lavt (Duxbury & Bicknell, 1983).

Flere studier har undersøkt utbredelsen av gener som koder for metallresistens i miljøbakterier, og samtlige studier har rapportert om en overflod av metallresistensgener i miljøet. En litteraturstudie utført av Vitenskapskomiteen for mattrygghet viste at kobber, sink, kadmium, arsen, kvikksølv, QAC og fenoler var de stoffene som hadde størst potensial for å utvikle resistens hos bakterier. Litteraturstudien tok derimot kun utgangspunkt i forskningen som var tilgjengelig om utviklingen av antibiotikaresistens på grunn av bruk eller misbruk av biocider og tungmetaller. I studien blir det rapportert at det er mangel på kunnskap om rollen kjemiske stoffer spiller i utviklingen av resistente bakterier i miljøet (Norwegian Scientific Committee for Food Safety, 2016).

VKM rapporterte at miljøforurensning og menneskelig eksponering av tungmetaller stort sett var forårsaket av menneskelig aktivitet, noe som ble ansett som bekymringsverdig ettersom de menneskelige utslippene av tungmetaller var høyere enn de menneskelige utslippene av antibiotika. Metallene brytes ikke ned i naturen og kan derfor bidra til seleksjonspress blant bakteriene, noe som kan resultere i at bakteriene utvikler nye resistensmekanismer. I tillegg til metallene ble det også rapportert at andre giftstoffer, som QAC og vaskemidler, er involvert i ko-seleksjonen av antibiotikaresistens (Norwegian Scientific Committee for Food Safety, 2016).

I *E. coli* ST131 ble metallresistensgenene *bhsA*, *ybbM* og *rcnA* påvist, mens i *P. aeruginosa* ST308 ble genene *czcA*, *czcB*, *czcC*, *arsR2*, *copB* og *copA* funnet. De 8 metallresistensgenene *pcoC*, *acr3*, *cnrA*, *copA*, *arsR2*, *czcA*, *czcB* og *czcC* ble påvist i *Serratia* spp. Genene *arsR2* og *acr3* koder for resistens mot arsen, som har blitt brukt i landbruket og til ikke-medisinsk bruk. Resistens mot arsen har blitt rapportert i en rekke bakterier, som blant annet inkluderer *E. coli*, *P. aeruginosa* og *Listeria monocytogenes*. Bakterier oppnår som regel resistens mot arsen gjennom genproduktene til det utbredte ars-operonet, som *arsR2* er en del av (Norwegian Scientific Committee for Food Safety, 2016; Wu & Rosen, 1993). En studie utført av Bobrowicz et al. viste imidlertid at *acr1*, *acr2* og *acr3*, som er tre sammenhengende gener, er involvert i resistens mot arsen som ble observert hos *Saccharomyces cerevisiae* (Bobrowicz et al., 1997). VKM rapporterte at aktivering av effluks-pumper kunne resultere i kryss-resistens mellom arsen og antibiotika (Norwegian Scientific Committee for Food Safety, 2016).

Resistensgenene *bhsA*, *copA*, *copB* og *pcoC* koder for resistens mot kobber, som er mye brukt i bunnstoffmaling, landbruket og som trebeskyttelsesmidler samt som molluskicider.

Kobberresistens har blitt påvist i bakterier isolert fra både mennesker og dyr, samt fra bakterier som har blitt isolert fra miljøet. VKM-studien rapporterte at resistens mot erytromycin eller vancomycin kan være assosiert med resistens mot kobber hos enterokokker (Norwegian Scientific Committee for Food Safety, 2016). Videre rapporterte studien, i likhet med Argudín et al., at kobberresistensgener ofte er lokalisert på plasmider eller andre mobile genetiske elementer, noe som resulterer i at genene enkelt kan overføres mellom ulike bakteriearter (Argudín et al., 2019; Norwegian Scientific Committee for Food Safety, 2016).

Genene *czcA*, *czcB*, *czcC* koder for henholdsvis tre Kobolt-sink-kadmium-resistens proteiner. Metallet sink har vist seg å ha bakteriedrepende egenskaper mot både Gram-negative- og Gram-positive bakterier, i tillegg til å være svært effektivt mot sporer som er resistente mot høy temperatur og høyt trykk. Metallet brukes både som et tilskudd i fôret til oppdrettsdyr samt som nanopartikler, som har blitt utforsket som et alternativ til antibiotika og desinfeksjonsmidler. De siste årene har sink også blitt brukt som tilsetningsstoff i tekstiler og overflater som er i kontakt med menneskehud. Økt toleranse mot sink har blitt observert i flere arter, som inkluderer *Pseudomonas* sp. og *E. coli*, isolert fra miljøet. Det er antatt at resistensen mot antibiotika og metall som observeres i miljøbakterier er forårsaket av seleksjon fra metaller som finnes i sink- og kobber-rike miljøer (Norwegian Scientific Committee for Food Safety, 2016). Det er hovedsakelig resistensgenet *czcC*-genet, som har blitt isolert fra mennesker, dyr og miljøet, som forårsaker resistens mot sink, dog observeres det en økende forekomsten resistens mot sink som skyldes *czc*-operonet (Diels et al., 1995; Nies, 1992; Norwegian Scientific Committee for Food Safety, 2016).

Kadmium er regnet som det giftigste tungmetallet mot mikrober, som inkluderer både Gram-negative- og Gram-positive bakterier. Metallet har ingen kjent biologisk funksjon hos mennesker eller dyr, og tilstedeværelsen av metallet er uønsket i næringsmidler og dyrefôr, ettersom metallet har toksiske og kreftfremkallende egenskaper. Flere studier har vist og diskutert kadmiumresistens og dens kobling til andre tungmetaller, QAC og klinisk relevante antibiotika. VKM-studien rapporterte at kadmiumresistens i bakterier hovedsakelig er forårsaket av kadmium-efflukspumper. I Gram-negative bakterier er det antatt at et RND-drevet system, som eksempelvis *Czc*, er ansvarlig for resistensen mot kadmium, mens i Gram-

negative bakterier er kadmiumresistens assosiert med en CdA-pumpe eller andre CdA-lignende proteiner (Norwegian Scientific Committee for Food Safety, 2016).

5.5.5 MDR

For å motstå virkningen av legemidler har bakterier utviklet MDR-mekanismer, noe som har resultert i legemiddelet som brukes for å behandle en infeksjon har dårligere virkning. Disse MDR-mekanismene kan virke på en gruppe av nært beslektede legemidler eller være spesifikke for et spesielt legemiddel. Effluks-systemer er en generell mekanisme som har blitt utviklet for å motstå virkningen av legemidler, hvorav det er membranproteiner som er ansvarlig for ekstruderingen av legemidlene. Nagakubo et al. rapporterte at det har blitt identifisert en rekke transportører assosiert med MDR i et bredt spekter av organismer (Nagakubo et al., 2002). I *P. aeruginosa* ST308 som ble funnet i denne oppgaven ble det identifisert en rekke MDR-gener, som blant annet inkluderer *mdt*, *mex*, *bmr* og *stp*, mens i *Serratia* spp. bakterien som ble funnet i denne masteroppgaven ble MDR-genene *mdt*, *bmr*, *stp*, *emr*, *mdl*, *yhe*, *nor* og *mex* identifisert. Genene *mdtA*, *mdtB* og *mdtC*, som er en del av *mdtABC*-systemet, koder for et RND-legemiddel effluks-system som er ansvarlig for resistens. *mdtD* er antatt å kode for en stor facilitator-superfamilie multidrug effluks pumpe involvert i stressrespons i *E. coli* (Leblanc et al., 2011). Genet *mdtE* er involvert i *mdtEF-tolC* tredelt effluks-systemet, mens *mdtK* koder for en MDR-efflukspumpe som forårsaker resistens mot en rekke antibiotika (Horiyama et al., 2010). Genene *mexA* og *mexB* er en del av effluks-systemet MexAB-OprM. MDR-genet *mexR*, som finnes oppstrøms for *mexAB-oprM*-operonet, regulerer uttrykket av *mexAB-oprM*-systemet (Saito et al., 1999).

bmrA, som koder for et ABC-transportør-gen ofte funnet i *Bacillus subtilis*, er involvert i utskillelse av spesifikke antibiotika fra bakteriecellen (Oopen et al., 2021). MDR-genet *mdtO* er involvert i ekstruderingen av glukose og er overuttrykt i *E. coli* biofilmer (Sreekantan et al., 2022). *mdtN* har blitt assosiert med legemiddeltransport, legemiddelrespons og legemiddel-transmembran-transportør-aktivitet (Miryala & Ramaiah, 2019). *mdtH* gir resistens mot en rekke antibiotika tilhørende klassen kinoloner og blir ofte assosiert med APEC (Yu et al., 2020). *mdtG* og *mdtH* er begge involvert i et Major Facilitator Superfamily-effluks-system og det har blitt rapportert at begge disse MDR-genene er involvert i legemiddel- og antibiotikatransport (Debroy et al., 2020). *mdtL* koder for en MDR-effluks-pumpe som først ble oppdaget i *E. coli* og som er gunstig for produksjonen av nukleotidet nikotinamid-ribosid (Zhou et al., 2023). *emrY* og *emrK* danner til sammen *emrKY*-operonet, og en studie utført av

Tanabe et al. antydte at dette operonet var involvert i utpumpingen av tetracycline (Tanabe et al., 1997). *yheI* koder for en ABC-transportør som har blitt funnet i *E. coli* (Torres et al., 2009). *mdlB* er et ABC multidrug transportør gen som blant annet er involvert i resistensen mot oksazolidinon i stafylokokker (Sun et al., 2018). Det er antatt at *norM* er et legemiddel-effluks-protein som stammer fra *Vibrio parahaemolyticus*. En studie av Morita et al. viste at celler av *E. coli* som var transformert med et plasmid som bærer *norM*-genet hadde en forhøyet ekstrudering av norfloxacin (Morita et al., 1998).

5.5.6 Syrer og desinfeksjon

Bakteriers evne til å utvikle resistens mot syrer og desinfeksjonsmidler har blitt observert i flere studier, og i forhold til menneskers helse og miljøtilstand er observasjonene bekymringsverdige. Dette skyldes at desinfeksjonsmidler og syrer regelmessig brukes for å drepe eller hindre veksten av bakterier, både innen helsevesen, næringsmidler, landbruk og ved behandling av drikkevann. Både hos *E. coli* ST131, *P. aeruginosa* ST308 og *Serratia* spp. ble det funnet en rekke gener som koder for resistens mot desinfeksjonsmidler og/eller syrer. Hos *E. coli* ST131 ble resistensgenene *yagU*, *ydeP*, *ariR*, *yhiM*, *hdeA*, *hdeD*, *yicO*, *yceO*, *mdfA* og *sugE* påvist. I *P. aeruginosa* ST308 ble resistensgenene *yaaA*, *ohrB*, *ohrR* og *farB* identifisert, mens i *Serratia* spp. ble resistensgenene *yaaA*, *ohrB* og *ohrR* påvist.

Gener som koder for resistens mot QAC er, i likhet med de fleste andre genene som koder for resistens mot desinfeksjonsmidler, lokalisert på plasmider eller innenfor konserverte regioner av integroner. De siste årene har det blitt observert ko-resistens mellom desinfeksjonsmidler og antibiotika, som skyldes at genene som koder for antibiotikaresistens og resistens mot desinfeksjonsmidler er lokalisert på samme plasmid. I tillegg har det i enkelte kliniske isolater blitt funnet gener som koder for β -laktamaser, resistens mot tungmetaller og resistens mot QAC på samme plasmid. På bakgrunn av dette kan det derfor ikke utelukkes at resistensen som ble observert hos *E. coli* ST131, *P. aeruginosa* ST308 og *Serratia* spp. mot både antibiotika og desinfeksjonsmidler/syrer, kan være et resultat av at enkelte gener som koder for antibiotikaresistens og resistens mot desinfeksjonsmidler og/eller syrer finnes på samme plasmid.

5.5.7 Toksiner og antitoksiner

Toksin-antitoksin (TA) systemer ble først oppdaget som velikeholdsmoduler på plasmider, men har de siste årene har disse systemene blitt undersøkt ytterligere, da det kan tenkes at

TA-systemer kan bidra med virulensegenskaper. Virulens forårsaket av bakterier er avhengig av et komplekst samspill av signaler som utveksles mellom verten og den invaderende bakterien. Toksin-antitoksin (TA) systemer består av et stabilt toksin, som alltid er et protein, og et ustabil antitoksin som enten kan være et lite RNA eller et protein. Hovedfunksjonen til antitoksinet er å nøytralisere eller inhibere toksinet, men for at dette skal skje må antitoksiner syntetiseres kontinuerlig. I plasmidfrie segreanter er toksinet fritt og har dermed mulighet til å stoppe eller eliminere veksten av disse cellene, ettersom de ustabile antitoksinene ikke kan fylles på i celler uten plasmider (Lobato-Marquez et al., 2016).

Nyere forskning har vist at en rekke TA-systemer også er kodet i kromosomet til bakterier. Kromosomale TA-systemer har imidlertid vært assosiert med vekstkontroll og distinkte metabolske prosesser som en respons på ugunstige miljøforhold, mens plasmidiske TA-systemer er assosiert med stabilisering av plasmidet. Flere analyser har rapportert at TA-systemer finnes på kromosomale integrerte mobile genetiske elementer, som blant annet inkluderer patogene øyer og konjugative eller mobiliserbare integroner. TA-systemene som er kodet i mobile genetiske elementer har, i likhet med plasmidiske TA-systemer, muligheten til å bidra til vedlikehold av de genetiske elementene som finnes i genomet. Dette resulterer i at disse TA-systemene kan bidra til å spre resistensgener eller virulensdeterminanter som er kodet på mobile genetiske elementer (Lobato-Marquez et al., 2016).

Enkelte patogene bakterier innehar virulensplasmider som er bærere av enkelte virulensfaktorer. Ettersom plasmidiske TA-systemer er assosiert med stabilisering av plasmidet, kan stabiliseringen av virulensplasmider være til fordel for vertsinfeksjon. Lobato-Marquez et al. rapporterte at dette var tilfellet for enkelte plasmider som finnes hos *Enterococcus faecalis*, *Salmonella* spp., *Shigella flexneri* og EIEC-stammer. Disse plasmidene som finnes hos de respektive bakteriene er plasmider som har et lavt antall kopier, hvor TA-systemene tilfører stabilitet til plasmidene i cellen, og derfor sikrer at virulensgenene på disse plasmidene blir vedlikeholdt. Studien utført av Lobato-Marquez et al. rapporterte at det har dukket opp en mer direkte forbindelse mellom virulens og plasmidiske TA-systemer. Studien rapporterte at TA-systemet vapBC2ST som er kodet i virulensplasmidet til *S. Typhimurium*, hadde en avgjørende rolle i vertscelleinfeksjon, da vapBC2ST fremmer intracellulær overlevelse av *S. Typhimurium* i ikke-fagocytiske celler, som blant annet inkluderer fibroblaster og epitelceller. I tillegg informerte studien om at TA-systemet

vapBC2ST var svært homologt med TA-systemet *mvpAT*, som er involvert i stabiliteten til et virulensplasmid hos *S. flexneri* (Lobato-Marquez et al., 2016).

Videre rapporterte Lobato-Marquez et al. om at toksinet HigB, som er en del av *higBA* TA-systemet som finnes hos *P. aeruginosa*, har spiller en viktig rolle i reguleringen av ranskripsjonsnivåene til en rekke gener som er involvert i virulensen til *P. aeruginosa*. Det vil si at HigB-toksinet påvirket uttrykket av disse genene, og det kan derfor antas at toksinet kan ha en innvirkning på evnen *P. aeruginosa* har til å forårsake infeksjon. Studien viste også at TA-systemer bidro til virulens i UPEC-stammer ved at systemene bidro i overlevelsen til UPEC-stammene inne i verten (Lobato-Marquez et al., 2016).

I *E. coli* ST131 ble toksinene/antitoksinene *hipB*, *cbeA*, *cbtA*, *higA*, *higB*, *prlF*, *pspC*, *pspB*, *higB-2*, *ccdA*, *ccdB*, *ldrD*, *tabA*, *cptA*, *cptB*, *higA-2*, *relE2*, *ratA*, *yoeB*, *yefM*, *higB2*, *higA1*, *hipA* og *higB-1* påvist. I *P. aeruginosa* ST308 ble toksinene/antitoksinene *tcpE*, *parE1*, *toxR*, *apxIB*, *ratA*, *eta* og *vgrG1* identifisert. Mens i *Serratia* spp. ble toksinene/antitoksinene *higB2*, *vgrG1*, *apxIB*, *hokC*, *hipA*, *hipB*, *ccdB*, *ltxB*, *ratA*, *pasI*, *ghoS*, *ghoT*, *tomb*, *relE*, *relB*, *tdeA*, *higA*, *yenB*, *yafQ*, *symE*, *maze*, *mazF* og *fitB* påvist. Som nevnt ovenfor ble det i både *E. coli* ST131, *P. aeruginosa* ST308 og *Serratia* spp. funnet en rekke toksin-antitoksin par, og på bakgrunn av aspektene diskutert ovenfor kan det tenkes at de observerte toksin-antitoksin parene i de respektive bakteriene kan bidra med virulensegenskaper.

5.5.8 Gener assosiert med biofilmdannelse

Gjennom evolusjonen har bakterier utviklet flere ulike mekanismer for å beskytte seg mot skadelige forhold. En av disse mekanismene er evnen til å feste seg til og kolonisere faste overflate, noe som resulterer i at bakteriene etablerer et mikrobielt samfunn i en ekstracellulær polymer matrise, en såkalt biofilm. Biofilmer bidrar til at bakterier kan forårsake humane infeksjoner og kontaminere mat, og er ofte årsaken til mange vedvarende infeksjoner (Niba et al., 2007; Whiteley et al., 2001). Lungeinfeksjoner forårsaket av *P. aeruginosa* biofilmer i personer med cystisk fibrose er et eksempel på en slik vedvarende infeksjon. Når *P. aeruginosa* koloniserer lungen til en person med cystisk fibrose, vil selv ikke den kraftigste antibiotikabehandlingen eliminere infeksjonen. Bakterier som kan vokse i biofilm er resistente mot både immunforsvaret til verten og behandlinger med antimikrobielle midler (Whiteley et al., 2001). Det kan dannes biofilmer på medisinsk utstyr eller i medisinske enheter som eksempelvis implantater, noe som kan øke antallet og alvorlighetsgraden av

sykehusinfeksjoner. Det er derfor svært viktig å hindre dannelse av biofilm på disse elementene, slik at disse antibiotikaresistensfaktorene reduseres eller fjernes (Nourbakhsh & Namvar, 2016). Hamon et al. rapporterte at det har blitt foreslått at et stort antall av bakterier i naturen eksisterer i en biofilm (Hamon et al., 2004).

Både i *E. coli* ST131, *P. aeruginosa* ST308 og *Serratia* spp. bakterien som ble funnet i denne oppgaven ble det påvist en rekke gener som er assosiert med biofilmdannelse. I *E. coli* ST131 ble genene *bhsA*, *flu*, *bssR*, *pgaD*, *yceO*, *bssS*, *tabA*, *bdm* og *ymgC* påvist. Genene *bdcA*, *wspC* og *bdlA* ble funnet i *P. aeruginosa* ST308, mens *bigR*, *bdcA*, *wspC* og *bdlA* ble påvist i *Serratia* spp. bakterien.

5.5.9 Efflukspumper

Membranproteiner som er involvert i ekstrudering av ulike substrater fra det indre cellulære miljøet til det ytre miljøet i bakterier kalles efflukspumper. Tilstedeværelsen av efflukspumper i bakterier har eksistert i lang tid, og blir karakterisert som essensielle komponenter i bakteriecelleknappen. Disse pumpene forårsaker en adaptiv respons for å motvirke toksiske forbindelser som finnes i miljøet. Den siste tiden har oppmerksomheten rundt efflukspumper og effluks-systemer involvert i MDR fått økt oppmerksomhet (Jones et al., 2015).

Effluks-systemene som finnes hos bakterier transporterer aktivt forbindelser ut av cytoplasma og/eller periplasma og dermed beskytter cellene mot antibiotika og biocider ved å begrense steady-state akkumulering på antibiotikaenes virkested. Effluksmediert resistens mot antimikrobielle midler oppstår vanligvis fra mutasjoner som resulterer i deres forhøyede uttrykk. Effluks-systemer kan gi MDR til strukturelt urelaterte antibiotika dersom efflukspumpene har spesifisitet for et bredt spekter av substrater. Kunnskapen om rollen som effluks-systemer har i forhold til resistens mot antimikrobielle midler har delvis bidratt til utviklingen av nye antibiotikum som tilhører klassene makrolider og tetracycline.

Noen av de mest grundig beskrevne efflukspumpene i RND-klassen inkluderer tredelte transportsystemer, som involverer spesifikke interaksjoner mellom et IM-pumpeproteinet, et OM-kanalprotein og et såkalt membranfusjonsprotein. Eksempler på slike systemer inkluderer blant annet AcrA–AcrB–TolC-systemet til *E. coli* og MexA–MexB–OprM-systemet til *P. aeruginosa* (Lynch, 2006).

I både *E. coli* ST131, *P. aeruginosa* ST308 og *Serratia* spp. bakterien som ble funnet i denne oppgaven ble det påvist en rekke gener relatert til efflukspumper og effluks-systemer hos bakterier. I *E. coli* ST131 ble genene *mdfA*, *mdtG*, *mdtE*, *mdtF*, *bcr*, *mdtA*, *mdtB*, *mdtC*, *emrD*, *mdtL*, *sdsR*, *sdsQ*, *sdsP*, *emrA*, *emrB*, *emrE*, *mdtM*, *mdtK*, *acrE*, *acrF*, *emrK*, *emrY*, *acrD* og *crcB* påvist. Genene *acrB*, *mntP*, *czcD*, *aaeB*, *aaeA*, *jefA*, *kefB*, *ttgF*, *acrA*, *bepF*, *oqxB7*, *corC*, *fieF* og *acrB* ble funnet i *P. aeruginosa* ST308. i *Serratia* spp. bakterien ble *bepC*, *ttgC*, *ttgB*, *ttgA*, *ttgI*, *ttgI*, *aaeB*, *aaeA*, *mntP*, *fieF*, *jefA*, *acrA*, *ttgD*, *ttgF*, *oqxB9*, *bepF*, *oqxB7*, *bepG*, *acrZ*, *mneP*, *bepE*, *corC* og tre ukjente gener påvist.

5.5.10 Plasmider

5.5.10.1 *IncFII(29)* og *IncFII(pEH01)*

Plasmidene *IncFII(29)* og *IncFII(pEH01)* tilhører som nevnt tidligere *IncFII*-gruppen, og påvises ofte i *E. coli*-stammer. Det har blitt rapportert at plasmider som tilhører denne gruppen er bærere av antibiotika- og metallresistens gener (Headd & Bradford, 2020). Spredningen av *blaCTX-M-15* i *E. coli* ST131 over hele verden er relatert til disse plasmidene. En studie utført av Pitart et al. viste at et konjugativt *IncFII*-type plasmid, påvist i et karbapenem-resistent *E. coli*-isolat, var bærer av *blaNDM*, *blaTEM* og *rmtB* (Pitart et al., 2015). I en annen studie utført av Bonnin et al. ble det rapportert at toksin/antitoksin-systemet *pemI/pemK* og *hok/mok* ble påvist. Videre viste studien også at blant annet genene *parB*, *parM*, *blaNDM*, *aacC2*, *bleMBL*, *aadA2*, *orfF* og *dfrA12* ble påvist på plasmidet (Bonnin et al., 2012). Novais et al. rapportert funn av *blaCTX-M-15* på et plasmid som er nært beslektet *IncFII*-plasmidet (Novais et al., 2007). Plasmidene tilhørende *IncFII*-gruppen er påvirket av en rekke toksin-antitoksin-avhengighetssystemer som gir plasmidene stabilitet under bakteriecelledeling (Bonnin et al., 2012).

5.5.10.2 *IncII-I(Alpha)*

IncII-I(Alpha) er assosiert med spredningen av gener som koder for antimikrobiell resistens, da plasmidet kan være bærer av en rekke ARG. *IncII-I(Alpha)* har evnen til å spre resistensgener blant familien Enterobacteriaceae. I en studie utført av De Koster et al. ble det rapportert at *IncII-I(alfa)*-replikon-type plasmider var bærere av forskjellige ESBL-gener som inkluderte *blaTEM* og ulike varianter av *blaCTX-M*. Studien viste at plasmidet ble detektert i 12 *blaCTX-M-1* produserende stammer, som tyder på at *IncII-I(alfa)* er en plasmid-type som bidrar til spredningen av ESBL-er (De Koster et al., 2023). En annen studie utført av Chiou et

al. viste at IncI1-I(alpha)-plasmider var bærere av genene *ermB*, *aadA22*, *blaCMY*, *sul2* og *tetM* (Chiou et al., 2023).

5.5.10.3 *IncI2(Delta)*

IncI2(Delta) er en type *IncI2*-plasmid som kan bære gener som er essensielle for konjugativ overføring. Plasmidet kan bære viktige antibiotikaresistens gener og det har blitt rapportert at *IncI2(Delta)* er bærer av *mcr-1*-genet, samt gener som er involvert i biofilmdannelse (Meinersmann, 2019). Lv et al. rapporterte at *IncI2*-type plasmider har evnen til å produsere to typer pilli (Lv et al., 2013). En annen studie utført av Sun et al. viste at et overførbart *IncI2*-plasmid som er involvert i spredningen av *blaCTX-M* og *mcr-1* ble påvist i en cefalosporin- og colistin-resistent *E. coli*-stamme (Sun et al., 2016).

5.5.10.4 *IncY*

De fleste *E. coli*-, *Klebsiella pneumoniae*- og *Salmonella*-stammene innehar plasmidet *IncY*. Flere studier har rapportert at plasmidet er involvert i spredningen av *blaCTX-M-15*, men nyere studier har også rapportert funn av *mcr-1*-genet på dette plasmidet (Zhang et al., 2017). I en studie utført av Kamal et al. viste at en nylig isolert humant kommensal *E. coli* ST10 klon hadde et P1 fag-avledet *IncY*-plasmid, som økte termotoleranse og tetrationsat respirasjon hos denne klonen (Kamal et al., 2021). En annen studie utført av Moremi et al. viste at fem *E. coli*-isolater hentet fra miljøet samt ett *E. coli*-isolat isolert fra fisk hadde *IncY*-plasmidet, hvor plasmidet var bærer av *blaCTX-M-15*, *qnrS1*, *strA* og *strB*. Studien antydte at forekomsten av *IncY*-plasmider var vanlig, og at plasmidet finnes i isolater hentet fra mennesker, næringskjeden og miljøet (Moremi et al., 2016).

5.5.11 Sammenligning av virulensfaktorer i ulike *E. Coli*-isolater

Fire ulike *E. coli*-isolater hentet fra ulike akvatiske ytre miljøer ble sammenlignet for genene *chuA*, *fyuA*, *yfcV* og *vat* samt *UPEC*, *APEC*, *ExPEC* virulensfaktorer og *IPEC* virulensfaktorer. I et av *E. coli*-isolatene ble genene *chuA*, *fyuA* og *yfcV* påvist, noe som antyder at isolatet er en *UPEC*-stamme. Dette skyldes at isolatet må inneha genene *chuA*, *fyuA* og *yfcV*, men ikke *vat* for å bli klassifisert som en *UPEC*-stamme. Deteksjonen av virulensgenene *chuA*, *fyuA* og *yfcV* indikerer også at *E. coli*-isolatet kan være en *APEC*-stamme, da disse genene ofte er assosiert med *APEC*-stammer. To av de undersøkte bakterieisolatene hadde verken *chuA*, *fyuA*, *yfcV* eller *vat*, noe som tyder på at isolatene ikke er assosiert med *UPEC* og/eller *APEC*. I det siste bakterieisolatet som ble undersøkt ble

virulensgenet *chuA* påvist, noe som tyder på at dette isolatet er assosiert med APEC (Spurbeck et al., 2012).

Videre ble det funnet en rekke ExPEC-virulensfaktorer i samtlige *E. coli*-isolater. Det er en rekke virulensfaktorer som er assosiert med ExPEC, hvorav disse har et bredt spekter av aktiviteter. Enkelte virulensfaktorer kan være involvert i bakteriekolonisering, mens andre er assosiert med virulens og koder for eksempelvis adhesiner eller toksiner (Sarowska et al., 2019). Virulensfaktoren APECO1_2080 er lokalisert i en ICR som er antatt å kode for en DNA-transposase, mens *etrA* koder for regulatoren EtrA som tilhører type III sekresjonssystem (T3SS) og som bidrar til virulens i APEC-stammer (He et al., 2015; Wang et al., 2017). *fbpB* koder for proteinet Ag85B som er et fibronektin-bindende protein med mykolyt-transferase-aktivitet (Armitige et al., 2000; Palma et al., 2007). Virulensfaktoren *pic* er assosiert med diaré og langvarig diaré (Durand et al., 2016). *aec37* er et gen som er en del av en *selC*-assosiert genomisk øy assosiert med ekstraintestinale UPEC-stammer. *tagB* og *tagC* koder for de to tandem autotransportør genene B og C. Genene har nylig blitt beskrevet som en del av SPATE-familien, som er en familie av gener som har evnen til å forårsake cytopatiske effekter på blæreceller og bidra til urinveisinfeksjon hos mus.

Det er en rekke virulensfaktorer som er assosiert med intestinale patogene *E. coli*-stammer, som eksempelvis ETEC og EHEC. Det har blitt rapportert at IPEC-stammer har vært bærere av virulensfaktorer som blant annet koder for adhesiner, shigatoksiner og flageller (Rueter & Bielaszewska, 2020). En studie utført av Lindstedt et al. viste at 64,3 % av de undersøkte *E. coli*-isolatene var bærere av IPEC virulensfaktorer (Lindstedt et al., 2018). *cfab* koder for den store pilin-subenheten CfaB som er assosiert med ETEC-stammer (Hayat et al., 2016). Det har blitt rapportert at virulensfaktoren *lpfA* har blitt påvist i EPEC-stammer og er assosiert med diaré (Afset et al., 2006). *ehaC* koder for autotransportør C som er påvist i EHEC-stammer (Xu et al., 2017). *capU* koder for en hemosyltransferase som har blitt funnet i EAEC-stammer (Havt et al., 2017). Virulensgenet *eilA* koder for proteinet EilA, som har vist likheter med proteiner HilA. Genet har blitt funnet på en rekke PAI's fra flere ulike *E. coli*-stammer (Hüttener et al., 2014). Videre koder *espY3* for det antatte effektorproteinene EspY3, som er assosiert med EHEC og EPEC-stammer (Larzabal et al., 2018). *ipaH* koder for proteiner invasjon plasmid antigen H som bæres av alle fire *shigella*-artene og EIEC-stammer (Thiem et al., 2004). *nfaB* er et diffust adherens fibrillært adhesin-gen funnet i *E. coli*.

5.5.12 Sensitivitetstesting

For å undersøke hvilke antimikrobielle midler FOSS9-*E. coli*-E, MJØSA10-*Pseu*-E og FOSS2-*Serr*-E er sensitive mot, ble bakterieisolatene MIC-testet. Deretter ble de observerte MIC-verdiene sammenlignet med ECOFF-verdiene til den respektive bakterien satt av EUCAST. Ettersom det ikke finnes ECOFF-verdier for *Serratia* spp., ble MIC-verdiene til dette bakterieisolatet sammenlignet med klinisk brytningspunkt for MIC-verdier (R >) for Enterobacterales satt av EUCAST.

For alle de tre bakterieisolatene er det enkelte antibiotikum det ikke er fastsatt noen ECOFF-verdi eller med klinisk brytningspunkt for. Dette gjelder blant annet for penicillin G og erythromycin. Når sensitiviteten ovenfor penicillin G og erythromycin ble undersøkt, ble det ikke observert inhiberingssone hos verken FOSS9-*E. coli*-E, MJØSA10-*Pseu*-E og FOSS2-*Serr*-E, noe som tyder på at *E. coli* ST131, *P. aeruginosa* ST308 og *Serratia* spp. bakterien som ble funnet i denne oppgaven er fullstendig resistent mot disse antibiotikaene. Det er heller ikke fastsatt en ECOFF-verdi for ampicillin og nitrofurantoin for *P. aeruginosa*. Det ble imidlertid ikke observert en inhiberingssone når følsomheten MJØSA10-*Pseu*-E har ovenfor ampicillin og nitrofurantoin ble testet, noe som indikerer at *P. aeruginosa* ST308 er fullstendig resistent mot ampicillin og nitrofurantoin. Videre var den gjennomsnittlige avleste MIC-verdien for både ampicillin og cefotaxime er betydelig høyere enn ECOFF-verdien for *E. coli* samt det kliniske brytningspunktet for MIC-verdier for Enterobacterales, og det kan derfor antas at *E. coli* ST131 og *Serratia* spp. bakterien som ble funnet i denne oppgaven er fullstendig resistent mot ampicillin og cefotaxime.

Den gjennomsnittlige avleste MIC-verdien til FOSS9-*E. coli*-E for cefepime var vesentlig høyere enn ECOFF-verdien satt av EUCAST, som antyder at *E. coli* ST131 er fullstendig resistent mot cefepime. *P. aeruginosa* ST308 og *Serratia* spp. bakterien som ble funnet i denne oppgaven er imidlertid ikke fullstendig resistent mot cefepime, da den gjennomsnittlige MIC-verdien var lavere enn verdiene satt av EUCAST. Det kan derimot antas at *P. aeruginosa* ST308 og *Serratia* spp. bakterien har redusert følsomhet ovenfor disse antibiotikaene, ettersom den gjennomsnittlige avleste MIC-verdien var høyere enn den laveste konsentrasjonen oppført på antibiotika-stripsen. Resultatene fra sensitivitetstesting antyder også at *P. aeruginosa* ST308 ikke er resistent mot cefotaxime, men er mindre mottakelig mot

antibiotikumet ettersom det også her ble observert at den gjennomsnittlige avleste MIC-verdien var høyere enn den laveste konsentrasjonen oppført på antibiotika-stripsen. Både *E. coli* ST131 og *P. aeruginosa* ST308 var resistent mot ciprofloxacin, mens *Serratia* spp. bakterien ikke var resistent mot dette antibiotikumet. Verken *P. aeruginosa* ST308 eller *Serratia* spp. bakterien var resistent mot meropenem, i motsetning til *E. coli* ST131 som det ble observert var resistent mot meropenem under sensitivitetstesting. MIC-testen med antibiotika-strips viste at *E. coli* ST131 og *Serratia* spp. bakterien ikke var resistente mot nitrofurantion, da den gjennomsnittlige avleste MIC-verdien var lavere enn verdien satt av EUCAST. Videre ble det observert at *P. aeruginosa* ST308 var resistent mot tetracycline, mens *E. coli* ST131 ikke var resistent mot tetracycline, ettersom den gjennomsnittlige avleste MIC-verdien var lavere enn ECOFF-verdien. Det finnes ikke et klinisk brytningspunkt for tetracycline som gjelder for Enterobacterales, men ettersom den gjennomsnittlige avleste MIC-verdien for *Serratia* spp. bakterien var på 0.75, som er relativt nærme den laveste konsentrasjonen på tetracycline-stripsen, kan det antas at *Serratia* spp. bakterien ikke er resistent mot tetracycline. Bakterien har imidlertid litt redusert følsomhet ovenfor antibiotikumet, da den avleste MIC-verdien ikke var lik den laveste konsentrasjonen på antibiotika-stripsen.

5.5.12.1 Sammenligning av antibiotikaresistens i ulike bakterieisolater

Ni bakterieisolater hentet fra ulike akvatiske ytre miljøer i Norge, ble sammenlignet for resistens mot forskjellige grupper av antibiotika. Alle de undersøkte bakterieisolatene var resistente mot kefalosporiner (tredje generasjon) og penicilliner, hvorav resistensen til alle bakterieisolatene, med unntak av MJØSA10-*Pseu*-E, ble påvist ved sensitivitetstesting. Resistens mot kefalosporiner og penicilliner er ikke uvanlig i Gram-negative bakterier og har blitt rapportert om i en rekke studier (Marshall & Blair, 1999; Moosdeen, 1997; Petri, 2006; Wright, 1999). 67 % av de undersøkte bakterieisolatene var resistente mot fluorokinoloner, noe som ikke anses som veldig overraskende ettersom økt resistens mot fluorokinoloner har blitt observert de siste årene (Blondeau, 2004; Hooper, 2000).

Resistens mot makrolider er hovedsakelig forårsaket av redusert affinitet til antibiotikumet og efflukspumper (Leclercq & Courvalin, 2002). De siste årene har det blitt rapportert om en økende grad resistens i Gram-positive bakterier, og det anses dersom ikke som overraskende at resistens mot makrolider ble påvist i 78% av de undersøkte bakterieisolatene (Leclercq, 2002). Til tross for at tigeicyclin er en relativt ny klasse av antibiotika, har det blitt observert

en økende grad av tigeicyklin-resistens i både Gram-positive og Gram-negative patogener (Pankey, 2005; Sun et al., 2013). Det kan tenkes at årsaken til at det ikke ble observert resistens mot tigeicyklin i den undersøkte bakterieisolatene skyldes at de ble isolert fra akvatiske ytre miljøer. Det har imidlertid blitt rapportert om forekomster av tigeicyklin-resistens i *P. aeruginosa*, og det kan derfor anses som litt overraskende at ingen av de undersøkte *P. aeruginosa*-isolatene var resistente mot tigeicyklin (Pankey, 2005).

Antibiotika-gruppene sulfonamider og trimetoprim har i flere år blitt brukt til å behandle infeksjoner hos både mennesker og dyr, da antibiotika tilhørende disse gruppene anses som svært effektive og rimelige. Som et resultat av horisontal spredning av resistensgener, har resistens mot disse to gruppene av antibiotika har spredt seg raskt blant ulike bakterier (Sköld, 2001). Det anses derfor som litt overraskende at det kun ble påvist resistens mot sulfonamider og trimetoprim i 22% av de undersøkte bakterieisolatene. 33% av de undersøkte bakterieisolatene var resistente mot nitrofurantoin, fosfomycin og fenikoler. I 1952 ble nitrofurantoin introdusert i klinisk praksis, og forekomsten av resistens mot dette antibiotikumet har siden da vært relativt lav (Munoz-Davila, 2014). Nitrofurantoin brukes enda i stor grad i behandling av kliniske infeksjoner, og resistens mot nitrofurantoin rapporteres relativt sjeldent (Roemhild et al., 2020; Sanchez et al., 2014). Resistens mot fenikoler har blitt identifisert i 70 ulike bakterislekter, og resistens mot enkelte antibiotika som tilhører denne gruppen blir av og til rapportert (Roberts & Schwarz, 2016; Schwarz & White, 2005; Schwarz et al., 2016). I en årrekke har fosfomycin vært aktivt mot både Gram-positive og Gram-negative MDR-bakterier, som blant annet inkluderer *Serratia* spp., *Klebsiella*, *Shigella* spp. og *E. coli*. I det siste har det imidlertid blitt rapportert om flere forekomster av fosfomycin-resistens, og enkelte mekanismer som forårsaker resistens mot fosfomycin har både blitt funnet som iboende, mens også som ervervet (Falagas et al., 2016).

Videre ble det påvist tetracyklin-resistens i 33% av bakterieisolatene, mens resistens mot aminoglykosider ble påvist i 44 % av de undersøkte isolatene. Resistens mot tetracyklin er ikke overraskende, da resistens mot tetracyklin dukket opp like etter antibiotikumet ble oppdaget (Thaker et al., 2010). Resistensen mot aminoglykosider blant Gram-negative bakterie har holdt seg stabil de siste tiårene (Edson & Terrell, 1999). Økt resistens mot tredje-generasjons cefalosporiner, karbapenemer og fluorokinoloner kombinert med økt kunnskap rundt mekanismene som forårsaker resistens mot aminoglykosider, har ført til at interessen for gamle aminoglykosider og utviklingen av nye aminoglykosider har økt (Krause et al., 2016;

Mingeot-Leclercq et al., 1999). Til tross for at det observeres økt forekomst av resistens mot karbapenemer, ble det kun påvist karbapenemresistens i ett bakterieisolat. Alle bakterieisolatene som ble undersøkt var resistente mot 3 eller flere klasser av antibiotika, og det kan dermed konkluderes med at alle de undersøkte bakterieisolatene var MDR.

5.5.13 *E. Coli* ST131

I denne masteroppgaven ble det observert at bakterieprøve FOSS9-*E. coli*-E vokste med mørkeblå/svart farge på ESBL-agar, noe som antydte at bakteriekolonien var en *E. coli*-stamme. Resultatet fra Sanger-sekvensering indikerte at den isolerte bakteriekolonien var en *E. coli*-stamme 18, noe som stemte godt overens med veksten som ble observert ved fenotypisk diskusjon. Fenotypisk deteksjon og Sanger-sekvensering gir imidlertid kun en indikasjon på hvilken bakterie den isolerte bakterieprøven er, og DNA-et til den respektive bakterieprøven ble derfor sendt til WGS. Ut ifra resultatene fra WGS ble det konkludert med at bakterieisolatet hentet fra Fossbekken var *E. coli* ST131, noe som tyder på at den fenotypiske deteksjonen stemte godt, samt at resultatet fra Sanger-sekvenseringen stemte til en viss grad.

E. coli ST131, er som nevnt tidligere, en MDR patogen høyrisikoklon som er assosiert med et høyt antall av AMR-infeksjoner. Gjennom årene har denne høyrisikoklonen tilegnet seg en rekke virulensgener og ARG via HGO (Pitout & DeVinney, 2017). Flere studier har rapportert at flere *E. coli* ST131-isolater har evnen til å produsere ESBL-er, samt at en rekke av disse isolatene er resistente mot fluorokinoloner. I en studie utført av Nicolas-Chanoine et al. ble det rapportert at alle *E. coli* ST131-isolater assosieres med høy patogenisitet, ettersom de kan forårsake et bredt spekter av infeksjoner i både sykehusmiljøer og i samfunnet. I tillegg innehar *E. coli* ST131-isolater et stort antall gener assosiert med virulens (Nicolas-Chanoine et al., 2014). I denne masteroppgaven ble det observert at den *E. coli* ST131-isolatet funnet i Fossbekken hadde en rekke virulensgener samt gener som koder for toksiner/antitoksiner. Det kan derfor antas at disse genene bidrar til patogenisiteten til *E. coli* ST131.

Det har blitt rapportert om resistens mot fluorokinoloner, fenikoler, karbapenemer, aminoglykosider og penicilliner blant *E. coli* ST131 (Peirano et al., 2014; Pitout & Finn, 2020). I denne oppgaven ble det observert ved MIC-testing at *E. coli* ST131 var resistent mot

penicillin G, ampicillin, cefepime, cefotaxime, ciprofloxacin, erythromycin og meropenem. I tillegg ble det også påvist resistens mot amoxicillin, aztreonam, ceftazidime, ceftriaxone, cephalothin, nalidixinsyre, piperacillin og ticarcillin påvist ved WGS. Den observerte og påviste resistesen mot disse antibiotikaene stemmer godt overens med ARG-ene som ble påvist i *E. coli* ST131, ettersom blant annet *bla*EC, *bla*TEM og *bla*CTX-M ble påvist. Det ble imidlertid ikke påvist resistens mot penicillin G, erythromycin og meropenem ved WGS, til tross for at resistens mot disse antibiotikaene ble observert ved MIC-testing, noe som antyder at databasen «RedFinder» ikke er oppdatert.

Videre ble det også påvist en rekke efflukspumper og effluks-systemer i bakterieisolatet, og det kan tenkes at disse effluks-systemene bidrar til resistens mot ulike antibiotika i *E. coli* ST131 (Anes et al., 2015; Atac et al., 2018; Peterson et al., 2018).

De siste tiårene har MDR-bakterier som innehar MRG-er og ABG-er blitt et økende helseproblem for både mennesker og miljø globalt (Furlan et al., 2020). Dette skyldes at det eksisterer koresistens mellom metaller og antibiotika, samt biocider og antibiotika, som i stor grad skyldes forekomsten av efflukspumper og effluks-systemer. Flere studier har rapportert at MRG-er og ABG-er har blitt funnet på samme plasmid som ARG-er. I denne oppgaven ble det funnet en rekke MRG-er samt ABG-er påvist i *E. coli* ST131, og det kan derfor tenkes at det eksisterer en koresistens mellom MRG-ene og ARG-ene, samt ABG-ene og ARG-ene som ble påvist i denne oppgaven. I tillegg ble det påvist fem plasmider i *E. coli* ST131 ved WGS, og det kan ikke utelukkes at disse plasmidene er bærere av ARG-er, MRG-er, ABG-er, samt virulensgenene som ble påvist i *E. coli* ST131 (Pitout & Finn, 2020).

5.5.14 *P. aeruginosa* ST308

I denne oppgaven ble det observert at bakterieprøve MJØSA10-*Pseu*-E vokste med brunrød farge på ESBL-agar, som ifølge protokollen tydet på at den observerte bakteriekolonien tilhørte en av slektene *Proteus* spp., *Morganella* spp. eller *Providencia* spp. Protokollen som ble fulgt gjelder imidlertid for kliniske isolater, og ettersom MJØSA10-*Pseu*-E er isolert fra Mjøsa, kunne det ikke konkluderes med at bakterieisolatet tilhørte en av disse slektene. I tillegg har Huang et al. rapportert at *Pseudomonas* spp. kan vokse med brun farge på ESBL-agar, noe som kan tyde på at bakteriekolonien også kunne tilhøre *Pseudomonas*-slekten.

Resultatet fra Sanger-sekvenseringen antydte at MJØSA10-*Pseu*-E var *P. aeruginosa*, og det kan derfor sies at den fenotypiske deteksjonen til en viss grad ikke stemte overens med resultatet fra Sanger-sekvensering. Dette skyldes mest trolig at det ble brukt ESBL-skåler produsert for kliniske isolater, og ikke miljøbakterier. Også her er det ikke mulig å konkludere med at bakterieisolatet var en *P. aeruginosa*-stamme, og DNA-et til den respektive bakterieprøven ble derfor sendt til WGS. Resultatene fra WGS viste at bakterieprøve MJØSA10-*Pseu*-E var *P. aeruginosa* ST308, som tyder på at resultatet fra Sanger-sekvenseringen stemte godt overens med resultatet fra WGS.

Som nevnt tidligere, er *P. aeruginosa* ST308 en epidemisk høyriskoklon som forårsaker globale infeksjoner som er assosiert med høy sykkelighet og dødelighet. Det har blitt rapportert om at enkelte *P. aeruginosa* ST308-isolater har forårsaket sporadiske infeksjoner på sykehus (Abdouchakour et al., 2018). Høyriskoklonen har evnen til å tilegne seg gener som finnes på mobile genetiske elementer, og har blant annet ervervet ESBL-er og karbapenemaser gjennom HGO (del Barrio-Tofiño et al., 2020; Khan et al., 2021). I en studie utført av Jeanvoine et al. ble det rapportert om to utbrudd forårsaket av *P. aeruginosa* ST308 på sykehus, hvor det i begge tilfellene ble antatt at miljøet var den sannsynlige kilden og reservoaret til utbruddene (Jeanvoine et al., 2019).

I en studie utført av Prakki et al. ble det rapportert at det ble funnet 238 virulensgener i *P. aeruginosa* ST308-klonen, og det tyder på at de fleste ARG og virulensgenene *P. aeruginosa* ST308 innehar stammer hovedsakelig fra sykehus (Prakki et al., 2023). Det kan derfor antas at det ikke er overraskende at det ble påvist en rekke virulensfaktorer i *P. aeruginosa* ST308-klonen funnet i denne oppgaven. I tillegg kan det ikke utelukkes at både genene som koder for virulens og genene som koder for toksiner bidrar til patogenisiteten til *P. aeruginosa* ST308.

Videre har det blitt rapportert om funn av 18 ARG-er i 266 *P. aeruginosa* ST308-isolater, hvorav de påviste genene resulterte i resistens mot aminoglykosider, karbapenemer, kefalosporiner, fenikoler, kinoloner, fosfomycin, makrolider, sulfonamider og trimetoprim (Prakki et al., 2023). Det er derfor ikke overraskende at det ble observert resistens mot penicillin G, ampicillin, ciprofloxacin, erythromycin, nitrofurantion og tetracycline ved MIC-testing eller at det ble påvist resistens mot en rekke beta-laktamer, aminoglykosider, fenikoler, kinoloner og fosfomyciner ved WGS. Det ble imidlertid ikke påvist resistens mot penicillin G, erythromycin, nitrofurantion eller tetracycline ved WGS, som antyder at databasen

«ResFinder» ikke er oppdatert. Den observerte og påviste resistesen mot disse antibiotikaene stemmer godt overens med ARG-ene som ble påvist i *P. aeruginosa* ST308, ettersom blant annet *aph(3')-IIb*, *blaOXA*, *blaPDC*, *catB7*, *crpP* og *fosA* ble påvist. Til tross for at det ikke ble påvist noen plasmider ved WGS hos *P. aeruginosa* ST308, kan det ikke utelukkes at AGR-er, MRG-er og ABG-er finnes på plasmider.

Det ble påvist en rekke gener assosiert med efflukspumper, effluks-systemer og metallresistens ved WGS. Det anses ikke som overraskende at *P. aeruginosa* ST308 innehar en rekke gener som koder for efflukspumper og/eller effluks-systemer, da overekspresjon av efflukspumper har en avgjørende rolle i mutasjonsdrevet resistens. I tillegg har det blitt rapportert at metallo- β -laktamaser er mest utbredt i *P. aeruginosa*, og det kan derfor anses som litt overraskende at *P. aeruginosa* ST308 innehar enkelte gener som koder for metallresistens, da metallo- β -laktamaser er avhengig av metallioner for å bryte ned β -laktam-antibiotika. Spesielt da det ble påvist resistens mot kobolt-sink-kadmium og kobber, hvorav det som oftest er sink og kobber som katalyserer nedbrytningen av β -laktamer (Carugati et al., 2020). Videre ble det også påvist en rekke MDR-gener. De fleste MDR-genene som ble påvist koder for proteiner som er assosiert med effluks-systemer, og på bakgrunn av dette kan det derfor antas at effluks-pumpene bidrar til at *P. aeruginosa* ST308 er en MDR-bakterie.

5.5.15 *Serratia* spp.

Bakterieprøve FOSS2-*Serr*-E vokste med turkis farge på ESBL-agar i denne masteroppgaven, noe som indikerte at bakterieisolatet tilhørte KESC-gruppen. Den fenotypiske deteksjonen stemte godt overens med Sanger-sekvenseringsresultatet som ytterligere antydte at bakterieisolatet hentet fra Fossbekken var en bakterie som tilhørte *Serratia*-slekten. Som nevnt tidligere gir fenotypisk deteksjon og Sanger-sekvensering en indikasjon på hvilken bakterie som kan ha blitt funnet, men for å være sikre er DNA-et til den respektive bakterien nødt til å helgenomsekvenseres. Resultatet fra WGS konkluderte med at identiteten til bakterieprøve FOSS2-*Serr*-E ikke kunne påvises, men at bakterier mest trolig var en *Serratia* spp. Resultatene fra både fenotypisk deteksjon og Sanger-sekvensering stemte derfor svært godt overens med resultatet fra WGS.

Serratia spp. er en slekt av bakterier som kan opptre som opportunistiske patogener og kan derfor utgjøre en risiko knyttet til matbåren smitte. Sandner-Miranda et al. har rapportert at de

fleste patogene *Serratia*-artene innehar flere virulensfaktorer, som blant annet proteiner involvert i biofilmdannelse, metalloproteaser og adherensfaktorer. Det anses derfor ikke som overraskende at *Serratia* spp. bakterien innehar en rekke gener som koder for virulens, toksiner og dannelse av biofilm. Forekomst av plasmider som er bærere av tungmetallresistens har også blitt påvist i enkelte *Serratia*-arter, og det er derfor ikke overraskende at *Serratia* spp. bakterien funnet i denne oppgaven innehar noen gener som koder for metallresistens (Sandner-Miranda et al., 2018).

Det har blitt rapportert om resistens mot makrolider, sulfonamider, fenikoler, kinoloner og aminoglykosider og beta-laktamer i *Serratia* spp., noe som skyldes at *Serratia* spp. er iboende resistent mot enkelte antibiotika, men også fordi bakteriene tilhørende denne slekten har tilegnet seg ARG via HGO. Ved MIC-testing ble det påvist resistens mot penicillin G, ampicillin, cefotaxime, og erythromycin, mens det ved WGS ble påvist resistens mot et ukjent beta-laktam-antibiotika. Resistensen som ble observert mot penicillin G, ampicillin, cefotaxime og det ukjente beta-laktam-antibiotikumet kan forklares ved at *Serratia* spp. bakterien innehar en variant av resistensgenet *blaFONA8*. *blaFONA 8* koder for en klasse A β -laktamase med utvidet spektrum og forårsaker resistens mot β -laktamer.

Resistensen mot makrolider er ikke forårsaket av *blaFONA8*, da makrolider ikke er β -laktam-antibiotika. Resistensen mot erythromycin kan derfor enten forklares ved at databasene som ble brukt for å behandle WGS-resultatene ikke er oppdaterte, eller ved at det har skjedd en feil ved MIC-testing med erythromycin, som har resultert i falske positive resultater. Det ble påvist en rekke MDR-gener og gener som koder for efflukspumper eller effluks-systemer, og det kan derfor tenkes at resistensen mot makrolider kan også være forårsaket av disse genene eller effluks-systemene (Sandner-Miranda et al., 2018). Selv om det ikke ble påvist noen plasmider ved WGS, kan det ikke utelukkes at både ARG-er, MRG-er, ABG-er, gener assosiert med biofilmdannelse og virulensgener finnes på plasmider.

5.5.16 Forslag til videre arbeid

Funnene i denne masteroppgaven kan betraktes som urovekkende, da det ble funnet en rekke patogene bakterier, hvor flere av dem var MDR. Oppgaven viser at det er nødvendig å forske på forekomsten av patogene MDR-bakterier i miljøet, da disse kan være en kilde til spredning av ARG. Det kunne derfor vært interessant og undersøkt forekomsten av ARB ytterligere i

områdene rundt disse vannkildene, samt undersøkt hva som kan være årsaken til at de har havnet i disse akvatiske miljøene. Enkelte av stammene som ble funnet, var assosiert med APEC, og det kunne derfor vært interessant og undersøkt om det var en korrelasjon mellom forekomsten av ESBL-er i trekkfugler og i ulike vannkilder. Videre burde det også forskes mer på mekanismene som forårsaker at bakterier kan dele ARG med hverandre, samt hvilke metoder eller mekanismer som kan tas i bruk for å behandle AR-infeksjoner i fremtiden.

6 Konklusjon

Hensikten med denne masteroppgaven var å kartlegge resistensmekanismer i akvatisk ytre miljø i Gjøvik- og Nordre Follo Kommune, samt vurdere spredningspotensialet til eventuelle funn. Ved hjelp av fenotypiske og genotypiske metoder, ble det påvist MDR *P. aeruginosa* ST308 i Mjøsa, samt MDR *Serratia* spp. og MDR *E. coli* ST131 i Fossbekken. Alle de tre bakterieisolatene hadde en rekke ARG, hvorav *E. coli* ST131 inneholdt *bla*TEM og *bla*CTX-M, som begge er ESBL-er. Gener som koder for både virulens, toksiner/antitoksiner, MRG, MDR, efflukspumper, ABG, samt gener som er assosiert med biofilmdannelse ble også funnet i alle de 3 bakterieisolatene. I *E. coli* ST131 ble det også påvist 5 plasmider, og hvis genene som koder for AR, efflukspumper, biofilmdannelse samt MRG, ABG, og MDR kan disse enkelt spres til andre bakterie via HGO. Funnene som er gjort i denne masteroppgaven er svært urovekkende og bekymringsverdige, og antyder at akvatiske miljøer bidrar i spredningen av AR. På bakgrunn av dette kan det konkluderes med at det er nødvendig med ytterligere kartlegging av ARB og ARG i ulike vannmiljøer rundt om i Norge.

7 Referanser

- Abdouchakour, F., Aujoulat, F., Licznar-Fajardo, P., Marchandin, H., Toubiana, M., Parer, S., Lotthé, A. & Jumas-Bilak, E. (2018). Intraclonal variations of resistance and phenotype in *Pseudomonas aeruginosa* epidemic high-risk clone ST308: a key to success within a hospital? *International Journal of Medical Microbiology*, 308 (2): 279-289. doi: 10.1016/j.ijmm.2017.11.008.
- Adedeji, W. (2016). The treasure called antibiotics. *Annals of Ibadan postgraduate medicine*, 14 (2): 56.
- Afset, J. E., Bruant, G., Brousseau, R., Harel, J., Anderssen, E., Bevanger, L. & Bergh, K. r. (2006). Identification of virulence genes linked with diarrhea due to atypical enteropathogenic *Escherichia coli* by DNA microarray analysis and PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 44 (10): 3703-3711. doi: 10.1128/jcm.00429-06.
- Akhabue, E., Synnestvedt, M., Weiner, M. G., Bilker, W. B. & Lautenbach, E. (2011). Cefepime-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Emerging infectious diseases*, 17 (6): 1037. doi: 10.3201/eid1706.100358.
- Alanio, A. & Bretagne, S. (2016). Performance evaluation of multiplex PCR including *Aspergillus*—not so simple! *Sabouraudia*, 55 (1): 56-62. doi: 10.1093/mmy/myw080.
- Aljorayid, A., Viau, R., Castellino, L. & Jump, R. L. (2016). *Serratia fonticola*, pathogen or bystander? A case series and review of the literature. *IDCases*, 5: 6-8. doi: 10.1016/j.idcr.2016.05.003.
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F. & Di Ilio, C. (2013). *Escherichia coli* in Europe: an overview. *International journal of environmental research and public health*, 10 (12): 6235-6254.
- Allsopp, L. P., Beloin, C., Ulett, G. C., Valle, J., Totsika, M., Sherlock, O., Ghigo, J.-M. & Schembri, M. A. (2012). Molecular characterization of UpaB and UpaC, two new autotransporter proteins of uropathogenic *Escherichia coli* CFT073. *Infection and immunity*, 80 (1): 321-332. doi: 10.1128/iai.05322-11.
- Allured, V. S., Collier, R. J., Carroll, S. F. & McKay, D. B. (1986). Structure of exotoxin A of *Pseudomonas aeruginosa* at 3.0-Angstrom resolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83 (5): 1320-1324. doi: 10.1073/pnas.83.5.1320.
- Alvarez-Fraga, L., Phan, M.-D., Goh, K. G., Nhu, N. T. K., Hancock, S. J., Allsopp, L. P., Peters, K. M., Forde, B. M., Roberts, L. W. & Sullivan, M. J. (2022). Differential Afa/Dr fimbriae expression in the multidrug-resistant *Escherichia coli* ST131 clone. *Mbio*, 13 (1): e03519-21. doi: 10.1128/mbio.03519-21.
- Amarasiri, M., Sano, D. & Suzuki, S. (2020). Understanding human health risks caused by antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARG) in water environments: Current knowledge and questions to be answered. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 50 (19): 2016-2059. doi: 10.1080/10643389.2019.1692611.
- Anes, J., McCusker, M. P., Fanning, S. & Martins, M. (2015). The ins and outs of RND efflux pumps in *Escherichia coli*. *Frontiers in microbiology*, 6: 587. doi: 10.3389/fmicb.2015.00587.
- Arenas, J., Cano, S., Nijland, R., van Dongen, V., Rutten, L., van der Ende, A. & Tommassen, J. (2015). The meningococcal autotransporter AutA is implicated in autoaggregation and biofilm formation. *Environmental microbiology*, 17 (4): 1321-1337. doi: 10.1111/1462-2920.12581.
- Argudín, M., Hofer, A. & Butaye, P. (2019). Heavy metal resistance in bacteria from animals. *Research in Veterinary Science*, 122: 132-147.

- Armitige, L. Y., Jagannath, C., Wanger, A. R. & Norris, S. J. (2000). Disruption of the genes encoding antigen 85A and antigen 85B of Mycobacterium tuberculosis H37Rv: effect on growth in culture and in macrophages. *Infection and immunity*, 68 (2): 767-778. doi: 10.1128/iai.68.2.767-778.2000.
- Aslam, B., Wang, W., Arshad, M. I., Khurshid, M., Muzammil, S., Rasool, M. H., Nisar, M. A., Alvi, R. F., Aslam, M. A. & Qamar, M. U. (2018). Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infection and drug resistance*, 11: 1645.
- Atac, N., Kurt-Azap, O., Dolapci, I., Yesilkaya, A., Ergonul, O., Gonen, M. & Can, F. (2018). The role of AcrAB–TolC efflux pumps on quinolone resistance of E. coli ST131. *Current microbiology*, 75: 1661-1666. doi: 10.1007/s00284-018-1577-y.
- Bachtiar, B. M., Coloe, P. J. & Fry, B. N. (2007). Knockout mutagenesis of the kpsE gene of Campylobacter jejuni 81116 and its involvement in bacterium–host interactions. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 49 (1): 149-154. doi: 10.1111/j.1574-695X.2006.00182.x.
- Bacon, D. J., Szymanski, C. M., Burr, D. H., Silver, R. P., Alm, R. A. & Guerry, P. (2001). A phase-variable capsule is involved in virulence of Campylobacter jejuni 81-176. *Molecular microbiology*, 40 (3): 769-777. doi: 10.1046/j.1365-2958.2001.02431.x.
- Ballaben, A. S., Galetti, R., Andrade, L. N., Ferreira, J. C., de Oliveira Garcia, D., Doi, Y. & Darini, A. L. C. (2021). Extensively drug-resistant IMP-16-producing Pseudomonas monteilii isolated from cerebrospinal fluid. *Infection, Genetics and Evolution*, 87: 104658. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104658.
- Balsalobre, L., Blanco, A. & Alarcón, T. (2019). Beta-lactams. *Antibiotic drug resistance*: 57-72.
- Baquero, F., Martínez, J.-L. & Cantón, R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current opinion in biotechnology*, 19 (3): 260-265. doi: 10.1016/j.copbio.2008.05.006.
- Bhattacharjee, M. K. (2022). *Chemistry of Antibiotics and Related Drugs*. 2. utg. Brooklyn: Springer. Tilgjengelig fra: <https://doi.org/10.1007/978-3-031-07582-7>.
- Binns, M., Mayden, J. & Levine, R. (1982). Further characterization of complement resistance conferred on Escherichia coli by the plasmid genes traT of R100 and iss of ColV, I-K94. *Infection and immunity*, 35 (2): 654-659. doi: 10.1128/iai.35.2.654-659.1982.
- Blondeau, J. M. (2004). Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Survey of ophthalmology*, 49 (2): S73-S78. doi: 10.1016/j.survophthal.2004.01.005.
- Bobrowicz, P., Wysocki, R., Owsianik, G., Goffeau, A. & Ułaszewski, S. (1997). Isolation of three contiguous genes, ACR1, ACR2 and ACR3, involved in resistance to arsenic compounds in the yeast Saccharomyces cerevisiae. *Yeast*, 13 (9): 819-828. doi: 10.1002/(SICI)1097-0061(199707)13:9<819::AID-YEA142>3.0.CO;2-Y.
- Bollet, C., Gannier, M., Sainty, J., Orhesser, P. & De Micco, P. (1991). Serratia fonticola isolated from a leg abscess. *Journal of Clinical Microbiology*, 29 (4): 834-835. doi: 10.1128/jcm.29.4.834-835.1991.
- Bolton, D. J. (2015). Campylobacter virulence and survival factors. *Food microbiology*, 48: 99-108. doi: 10.1016/j.fm.2014.11.017.
- Bonardi, S., Fiaccadori, E., Parisi, A., Manfreda, G., Cavarani, S., Cabassi, C. S., D'Errico, M. L., Pupillo, G., Sabatino, A. & Spadini, C. (2021). One Health Perspective on Infections in Nephrology: A Parallel Survey on Carbapenem-and Multidrug-resistant Klebsiella Pneumoniae and Pseudomonas Aeruginosa in High-risk Renal Patients and Farm Animals in Italy. doi: 10.21203/rs.3.rs-470540/v1.

- Bonnin, R. A., Poirel, L., Carattoli, A. & Nordmann, P. (2012). Characterization of an IncFII plasmid encoding NDM-1 from Escherichia coli ST131. *PLoS One*, 7 (4): e34752. doi: 10.1371/journal.pone.0034752.
- Brooke, J. S. (2012). Stenotrophomonas maltophilia: an emerging global opportunistic pathogen. *Clinical microbiology reviews*, 25 (1): 2-41. doi: 10.1128/cmr.00019-11.
- Børresen-Dale, A.-L. (2018). DNA-probe. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/DNA-probe> (lest 25.04.2023).
- Båga, M., Normark, S., Hardy, J., O'hanley, P., Lark, D., Olsson, O., Schoolnik, G. & Falkow, S. (1984). Nucleotide sequence of the papA gene encoding the Pap pilus subunit of human uropathogenic Escherichia coli. *Journal of bacteriology*, 157 (1): 330-333. doi: 10.1128/jb.157.1.330-333.1984.
- Båga, M., Göransson, M., Normark, S. & Uhlin, B. (1985). Transcriptional activation of a pap pilus virulence operon from uropathogenic Escherichia coli. *The EMBO journal*, 4 (13B): 3887-3893.
- Cantón, R. & Coque, T. M. (2006). The CTX-M β -lactamase pandemic. *Current opinion in microbiology*, 9 (5): 466-475. doi: 10.1016/j.mib.2006.08.011.
- Carugati, M., Piazza, A., Peri, A., Cariani, L., Brilli, M., Girelli, D., Di Carlo, D., Gramegna, A., Pappalettera, M. & Comandatore, F. (2020). Fatal respiratory infection due to ST308 VIM-1-producing Pseudomonas aeruginosa in a lung transplant recipient: case report and review of the literature. *BMC infectious diseases*, 20: 1-7. doi: 10.1186/s12879-020-05338-3.
- Castanheira, M., Deshpande, L. M., Mathai, D., Bell, J. M., Jones, R. N. & Mendes, R. E. (2011). Early dissemination of NDM-1-and OXA-181-producing Enterobacteriaceae in Indian hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006-2007. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55 (3): 1274-1278. doi: 10.1128/aac.01497-10.
- Castanheira, M., Simner, P. J. & Bradford, P. A. (2021). Extended-spectrum β -lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-antimicrobial resistance*, 3 (3): 1-21. doi: 10.1093/jacamr/dlab092.
- Chapman, J. S. (2003). Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance. *International biodeterioration & biodegradation*, 51 (4): 271-276.
- Chávez-Jacobo, V. M., Hernández-Ramírez, K. C., Romo-Rodríguez, P., Pérez-Gallardo, R. V., Campos-García, J., Gutiérrez-Corona, J. F., García-Merinos, J. P., Meza-Carmen, V., Silva-Sánchez, J. & Ramírez-Díaz, M. I. (2018). CrpP is a novel ciprofloxacin-modifying enzyme encoded by the Pseudomonas aeruginosa pUM505 plasmid. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62 (6): e02629-17. doi: 10.1128/aac.02629-17.
- Chiou, C.-S., Hong, Y.-P., Wang, Y.-W., Chen, B.-H., Teng, R.-H., Song, H.-Y. & Liao, Y.-S. (2023). Antimicrobial resistance and mechanisms of azithromycin resistance in nontyphoidal Salmonella isolates in Taiwan, 2017 to 2018. *Microbiology Spectrum*, 11 (1): e03364-22. doi: 10.1128/spectrum.03364-22.
- Cho, H. H., Kwon, G. C., Kim, S. & Koo, S. H. (2015). Distribution of pseudomonas-derived Cephalosporinase and Metallo- β -lactamases in Carbapenem-resistant Pseudomonas Aeruginosa isolates from Korea. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25 (7): 1154-1162. doi: 10.4014/jmb.1503.03065.
- Chouikha, I., Germon, P., Brée, A., Gilot, P., Moulin-Schouleur, M. & Schouleur, C. (2006). A selC-associated genomic island of the extraintestinal avian pathogenic Escherichia coli strain BEN2908 is involved in carbohydrate uptake and virulence. *Journal of Bacteriology*, 188 (3): 977-987. doi: 10.1128/jb.188.3.977-987.2006.

- Cohen Stuart, J., Voets, G., Rottier, W., Voskuil, S., Scharringa, J., Van Dijk, K., Fluit, A. & Leverstein-Van Hall, M. (2013). Evaluation of the Oxoid Brilliance™ CRE Agar for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 32: 1445-1449. doi: 10.1007/s10096-013-1896-7.
- Dallenne, C., Da Costa, A., Decré, D., Favier, C. & Arlet, G. (2010). Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65 (3): 490-495. doi: 10.1093/jac/dkp498.
- Davison, H. C., Woolhouse, M. E. & Low, J. C. (2000). What is antibiotic resistance and how can we measure it? *Trends in microbiology*, 8 (12): 554-559.
- Davison, J. (1999). Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid*, 42 (2): 73-91. doi: 10.1006/plas.1999.1421.
- Daxboeck, F., Rabitsch, W., Stadler, M., Assadian, O. & Leitgeb, J. (2013). High resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to paromomycin, an agent used for selective bowel decontamination (SBD). *GMS hygiene and infection control*, 8 (1). doi: 10.3205/dgkh000204.
- de Abreu, P. M., Farias, P. G., Paiva, G. S., Almeida, A. M. & Morais, P. V. (2014). Persistence of microbial communities including *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital environment: a potential health hazard. *BMC microbiology*, 14 (1): 1-10.
- de Cássia Andrade Melo, R., de Barros, E. M. R., Loureiro, N. G., de Melo, H. R. L., Maciel, M. A. V. & Souza Lopes, A. C. (2014). Presence of fim H, mrk D, and irp 2 Virulence Genes in KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Recife-PE, Brazil. *Current microbiology*, 69: 824-831. doi: 10.1007/s00284-014-0662-0.
- De Groote, V. N., Fauvart, M., Kint, C. I., Verstraeten, N., Jans, A., Cornelis, P. & Michiels, J. (2011). *Pseudomonas aeruginosa* fosfomycin resistance mechanisms affect non-inherited fluoroquinolone tolerance. *Journal of medical microbiology*, 60 (3): 329-336. doi: 10.1099/jmm.0.019703-0.
- De Koster, S., Ringenier, M., Xavier, B. B., Lammens, C., De Coninck, D., De Bruyne, K., Mensaert, K., Kluytmans-van den Bergh, M., Kluytmans, J. & Dewulf, J. (2023). Genetic characterization of ESBL-producing and ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* from Belgian broilers and pigs. *Frontiers in Microbiology*, 14: 1150470. doi: 10.3389/fmicb.2023.1150470.
- De la Cruz, F. & Davies, J. (2000). Horizontal gene transfer and the origin of species: lessons from bacteria. *Trends in microbiology*, 8 (3): 128-133.
- De Lorenzo, V. & Neilands, J. (1986). Characterization of iucA and iucC genes of the aerobactin system of plasmid ColV-K30 in *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology*, 167 (1): 350-355.
- Debroy, R., Miryala, S. K., Naha, A., Anbarasu, A. & Ramaiah, S. (2020). Gene interaction network studies to decipher the multi-drug resistance mechanism in *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18 reveal potential drug targets. *Microbial pathogenesis*, 142: 104096. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104096.
- del Barrio-Tofiño, E., López-Causapé, C. & Oliver, A. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* epidemic high-risk clones and their association with horizontally-acquired β -lactamases: 2020 update. *International journal of antimicrobial agents*, 56 (6): 106196. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106196.
- Deng, H.-W., Zhou, Y., Recker, R., Johnson, M. & Li, J. (2000). Fragment size difference between multiplex and singleplex PCR products and their practical implications. *Biotechniques*, 29 (2): 298-308.

- Desjardins, P., Hansen, J. B. & Allen, M. (2009). Microvolume protein concentration determination using the NanoDrop 2000c spectrophotometer. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)* (33): e1610.
- Dhillon, R. H.-P. & Clark, J. (2012). ESBLs: a clear and present danger? *Critical care research and practice*, 2012. doi: 10.1155/2012/625170.
- Diels, L., Dong, Q., van der Lelie, D., Baeyens, W. & Mergeay, M. (1995). The *czc* operon of *Alcaligenes eutrophus* CH34: from resistance mechanism to the removal of heavy metals. *Journal of industrial microbiology and biotechnology*, 14 (2): 142-153. doi: 10.1007/BF01569896.
- Doi, Y. & Paterson, D. L. (2015). Carbapenemase-producing enterobacteriaceae. *Seminars in respiratory and critical care medicine*, 36 (01): 074-084. doi: 10.1055/s-0035-1544208.
- Driscoll, J. A., Brody, S. L. & Kollef, M. H. (2007). The Epidemiology, Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Drugs*, 67 (3): 351-368. doi: 10.2165/00003495-200767030-00003.
- Dukan, S. & Touati, D. (1996). Hypochlorous acid stress in *Escherichia coli*: resistance, DNA damage, and comparison with hydrogen peroxide stress. *Journal of Bacteriology*, 178 (21): 6145-6150. doi: 10.1128/jb.178.21.6145-6150.1996.
- Durand, D., Contreras, C. A., Mosquito, S., Ruíz, J., Cleary, T. G. & Ochoa, T. J. (2016). *pic* gene of enteroaggregative *Escherichia coli* and its association with diarrhea in Peruvian children. *FEMS Pathogens and Disease*, 74 (6): ftw054. doi: 10.1093/femspd/ftw054.
- Dutta, C. & Pan, A. (2002). Horizontal gene transfer and bacterial diversity. *Journal of biosciences*, 27 (1): 27.
- Duxbury, T. & Bicknell, B. (1983). Metal-tolerant bacterial populations from natural and metal-polluted soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 15 (3): 243-250. doi: 10.1016/0038-0717(83)90066-4.
- Edson, R. S. & Terrell, C. L. (1999). *The aminoglycosides*. Mayo Clinic Proceedings: Elsevier.
- Erb, A., Stürmer, T., Marre, R. & Brenner, H. (2007). Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli*: overview of geographical, temporal, and methodological variations. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 26: 83-90. doi: 10.1007/s10096-006-0248-2
- Erlich, H. A. (1989). Polymerase chain reaction. *Journal of clinical immunology*, 9: 437-447.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (u.å.). *Antimicrobial susceptibility testing*. Tilgjengelig fra: https://www.eucast.org/ast_of_bacteria (lest 25.04.2023).
- Falagas, M. E., Vouloumanou, E. K., Samonis, G. & Vardakas, K. Z. (2016). Fosfomycin. *Clinical microbiology reviews*, 29 (2): 321-347. doi: 10.1128/cmr.00068-15.
- Falla, T. J. & Chopra, I. (1998). Joint tolerance to β -lactam and fluoroquinolone antibiotics in *Escherichia coli* results from overexpression of *hipA*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42 (12): 3282-3284. doi: 10.1128/aac.42.12.3282-bvghnj-.,.
- Fiebig, A., Castro Rojas, C. M., Siegal-Gaskins, D. & Crosson, S. (2010). Interaction specificity, toxicity and regulation of a paralogous set of ParE/RelE-family toxin-antitoxin systems. *Molecular microbiology*, 77 (1): 236-251. doi: 10.1111/j.1365-2958.2010.07207.x.
- Finton, M. D., Meisal, R., Porcellato, D., Brandal, L. T. & Lindstedt, B.-A. (2020). Whole genome sequencing and characterization of multidrug-resistant (MDR) bacterial

- strains isolated from a Norwegian university campus pond. *Frontiers in Microbiology*, 11: 1273.
- Fitzgerald, D. M. & Rosenberg, S. M. (2019). What is mutation? A chapter in the series: How microbes “jeopardize” the modern synthesis. *PLoS genetics*, 15 (4): e1007995.
- Folkehelseinstituttet. (2010). *ESBL holdige gramnegative stavbakterier - veileder for helsepersonell*. Tilgjengelig fra: <https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/esbl-betalaktamaser-med-utvidet-spe/> (lest 24.05.2023).
- Folkehelseinstituttet. (2014). *Antibiotikaresistens i Norge*. Tilgjengelig fra: <https://www.fhi.no/nettpub/hin/smitte/resistens/> (lest 21.03.2023).
- Folkehelseinstituttet. (2020). *E. coli-tarminfeksjon*. Tilgjengelig fra: <https://www.helsenorge.no/sykdom/mage-og-tarm/ecoli/> (lest 16.06.2023).
- Fossum, S. & Dissen, E. (2021). *PCR (polymerasekjedereaksjon)*. Tilgjengelig fra: https://sml.snl.no/PCR_-_polymerasekjedereaksjon (lest 21.04.2023).
- Fuentes-Castillo, D., Power, P., Cerdeira, L., Cardenas-Arias, A., Moura, Q., Oliveira, F. A., Levy, C. E., Gutkind, G., Catão-Dias, J. L. & Lincopan, N. (2020). FONA-7, a novel extended-spectrum β -lactamase variant of the FONA family identified in *Serratia fonticola*. *Microbial Drug Resistance*, 27 (5): 585-589. doi: 10.1089/mdr.2020.0061.
- Furlan, J. P. R., Savazzi, E. A. & Stehling, E. G. (2020). Widespread high-risk clones of multidrug-resistant extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* B2-ST131 and F-ST648 in public aquatic environments. *International journal of antimicrobial agents*, 56 (1): 106040. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106040.
- Gad, G. F., El-Domany, R. A. & Ashour, H. M. (2008). Antimicrobial susceptibility profile of *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Egypt. *The Journal of urology*, 180 (1): 176-181. doi: 10.1016/j.juro.2008.03.081.
- Garcia, M.-I., Labigne, A. & Le Bouguenec, C. (1994). Nucleotide sequence of the afimbrial-adhesin-encoding *afa-3* gene cluster and its translocation via flanking IS1 insertion sequences. *Journal of Bacteriology*, 176 (24): 7601-7613. doi: 10.1128/jb.176.24.7601-7613.1994.
- Giedraitienė, A., Vitkauskienė, A., Naginienė, R. & Pavilonis, A. (2011). Antibiotic Resistance Mechanisms of Clinically Important Bacteria. *Medicina*, 47 (3): 19.
- Graf, F. E., Palm, M., Warringer, J. & Farewell, A. (2019). Inhibiting conjugation as a tool in the fight against antibiotic resistance. *Drug Development Research*, 80 (1): 19-23.
- Granum, P. E. (2017). *Matforgiftning - Smitte gjennom mat og vann*. Oslo: Cappelen Damm AS.
- Green, M. R. & Sambrook, J. (2019). Analysis of DNA by agarose gel electrophoresis. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019 (1): pdb. top100388.
- Guyer, D. M., Henderson, I. R., Nataro, J. P. & Mobley, H. L. (2000). Identification of *sat*, an autotransporter toxin produced by uropathogenic *Escherichia coli*. *Molecular microbiology*, 38 (1): 53-66. doi: 10.1046/j.1365-2958.2000.02110.x.
- Hainrichson, M., Yaniv, O., Cherniavsky, M., Nudelman, I., Shallom-Shezifi, D., Yaron, S. & Baasov, T. (2007). Overexpression and initial characterization of the chromosomal aminoglycoside 3'-O-phosphotransferase APH (3')-IIb from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51 (2): 774-776. doi: 10.1128/aac.01034-06.
- Hamon, M. A., Stanley, N. R., Britton, R. A., Grossman, A. D. & Lazazzera, B. A. (2004). Identification of *AbrB*-regulated genes involved in biofilm formation by *Bacillus subtilis*. *Molecular microbiology*, 52 (3): 847-860. doi: 10.1111/j.1365-2958.2004.04023.x.

- Hancock, V., Ferrieres, L. & Klemm, P. (2008). The ferric yersiniabactin uptake receptor FyuA is required for efficient biofilm formation by urinary tract infectious *Escherichia coli* in human urine. *Microbiology*, 154 (1): 167-175.
- Hassan, E. R., Alhatami, A. O., Abdulwahab, H. M. & Schneider, B. S. (2022). Characterization of plasmid-mediated quinolone resistance genes and extended-spectrum beta-lactamases in non-typhoidal *Salmonella enterica* isolated from broiler chickens. *Veterinary World*, 15 (6).
- Haugen, M. N. (2019). *Sanger-sekvensering*. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/Sanger-sekvensering> (lest 25.04.2023).
- Havt, A., Lima, I. F., Medeiros, P. H., Clementino, M. A., Santos, A. K., Amaral, M. S., Veras, H. N., Prata, M. M., Lima, N. L. & Di Moura, A. (2017). Prevalence and virulence gene profiling of enteroaggregative *Escherichia coli* in malnourished and nourished Brazilian children. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 89 (2): 98-105. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2017.06.024.
- Hayat, S.-M. G., Gargari, S.-L. M. & Nazarian, S. (2016). Construction and immunogenic properties of a chimeric protein comprising CfaE, CfaB and LTB against Enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Biologicals*, 44 (6): 503-510. doi: 10.1016/j.biologicals.2016.09.003.
- He, X., Hull, V., Thomas, J. A., Fu, X., Gidwani, S., Gupta, Y. K., Black, L. W. & Xu, S.-y. (2015). Expression and purification of a single-chain Type IV restriction enzyme Eco94GmrSD and determination of its substrate preference. *Scientific reports*, 5 (1): 9747. doi: 10.1038/srep09747.
- Headd, B. & Bradford, S. A. (2020). The conjugation window in an *Escherichia coli* K-12 strain with an IncFII plasmid. *Applied and environmental microbiology*, 86 (17): e00948-20. doi: 10.1128/AEM.00948-20.
- Hernández-García, M., García-Castillo, M., García-Fernández, S., López-Mendoza, D., Díaz-Regañón, J., Romano, J., Pássaro, L., Paixão, L. & Cantón, R. (2021). Presence of chromosomal crpP-like genes is not always associated with ciprofloxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates recovered in ICU patients from Portugal and Spain. *Microorganisms*, 9 (2): 388. doi: 10.3390/microorganisms9020388.
- Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P. S. & Griffith, R. (1992). Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio/technology*, 10 (4): 413-417.
- Hoffman, S. B. (2001). Mechanisms of antibiotic resistance. *Compendium*, 23 (5): 464-473.
- Holtebekk, T. & Pedersen, B. (2020). *Spektrofotometer*. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/spektrofotometer> (lest 26.04.2023).
- Hooper, D. C. (2000). Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. *Clinical infectious diseases*, 31 (Supplement_2): S24-S28. doi: 10.1086/314056.
- Horinouchi, S., Ueda, K., Nakayama, J. & Ikeda, T. (2010). Cell-to-cell communications among microorganisms. I: *Comprehensive natural products II: chemistry and biology*, s. 283-337: Elsevier Ltd.
- Horiyama, T., Yamaguchi, A. & Nishino, K. (2010). TolC dependency of multidrug efflux systems in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65 (7): 1372-1376. doi: 10.1093/jac/dkq160.
- Hosu, M. C., Vasaikar, S., Okuthe, G. E. & Apalata, T. (2021). Molecular detection of antibiotic-resistant genes in *Pseudomonas aeruginosa* from nonclinical environment: public health implications in Mthatha, Eastern Cape province, South Africa. *International Journal of Microbiology*, 2021.
- Hotopp, J. C. D. (2011). Horizontal gene transfer between bacteria and animals. *Trends in genetics*, 27 (4): 157-163.

- Hu, Y.-Y., Cai, J.-C., Zhou, H.-W., Chi, D., Zhang, X.-F., Chen, W.-L., Zhang, R. & Chen, G.-X. (2013). Molecular typing of CTX-M-producing *Escherichia coli* isolates from environmental water, swine feces, specimens from healthy humans, and human patients. *Applied and environmental microbiology*, 79 (19): 5988-5996. doi: 10.1128/AEM.01740-13.
- Huang, T.-D., Bogaerts, P., Berhin, C., Guisset, A. & Glupczynski, Y. (2010). Evaluation of Brilliance ESBL agar, a novel chromogenic medium for detection of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 48 (6): 2091-2096. doi: 10.1128/jcm.02342-09.
- Hutchings, M. I., Truman, A. W. & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current opinion in microbiology*, 51: 72-80.
- Huttner, A., Harbarth, S., Hope, W. W., Lipman, J. & Roberts, J. A. (2015). Therapeutic drug monitoring of the β -lactam antibiotics: what is the evidence and which patients should we be using it for? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70 (12): 3178-3183.
- Hüttener, M., Dietrich, M., Paytubi, S. & Juárez, A. (2014). HilA-like regulators in *Escherichia coli* pathotypes: the YgeH protein from the enteroaggregative strain 042. *BMC microbiology*, 14: 1-10. doi: 10.1186/s12866-014-0268-5.
- IDEXX Laboratories Inc. (2019). *Microbiology guide to interpreting minimum inhibitory concentration (MIC)*. Tilgjengelig fra: <https://www.idexx.com/files/microbiology-guide-interpreting-mic.pdf> (lest 28.03.2023).
- Ingti, B., Krishnatreya, D. B., Maurya, A. P., Dhar, D., Chakravarty, A. & Bhattacharjee, A. (2017). Role of inducers in detection of blaPDC-mediated oxyimino-cephalosporin resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *The Indian Journal of Medical Research*, 145 (5): 659. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_628_15.
- Institutt for biovitenskap. (2019). *Spektrofotometri*. Tilgjengelig fra: <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/s/spektrofotometri.html> (lest 26.04.2023).
- Ishii, Y., Alba, J., Kimura, S. & Yamaguchi, K. (2006). Evaluation of antimicrobial activity of β -lactam antibiotics by Etest against clinical isolates from 100 medical centers in Japan (2004). *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 55 (2): 143-148. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2006.01.001.
- Ito, R., Mustapha, M. M., Tomich, A. D., Callaghan, J. D., McElheny, C. L., Mettus, R. T., Shanks, R. M., Sluis-Cremer, N. & Doi, Y. (2017). Widespread fosfomycin resistance in Gram-negative bacteria attributable to the chromosomal fosA gene. *MBio*, 8 (4): e00749-17. doi: 10.1128/mbio.00749-17.
- Janda, J. M. & Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *Journal of clinical microbiology*, 45 (9): 2761-2764. doi: 10.1128/jcm.01228-07.
- Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M., Yan, T. & Ishii, S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. *Journal of applied microbiology*, 123 (3): 570-581.
- Jeanvoine, A., Meunier, A., Puja, H., Bertrand, X., Valot, B. & Hocquet, D. (2019). Contamination of a hospital plumbing system by persister cells of a copper-tolerant high-risk clone of *Pseudomonas aeruginosa*. *Water research*, 157: 579-586. doi: 10.1016/j.watres.2019.04.011.
- Johnson, J. R., Nicolas-Chanoine, M.-H., DebRoy, C., Castanheira, M., Robicsek, A., Hansen, G., Weissman, S., Urban, C., Platell, J. & Trott, D. (2012). Comparison of *Escherichia coli* ST131 pulsotypes, by epidemiologic traits, 1967–2009. *Emerging infectious diseases*, 18 (4): 598. doi: 10.3201/eid1804.111627.

- Jones, C. M., Hernández Lozada, N. J. & Pflieger, B. F. (2015). Efflux systems in bacteria and their metabolic engineering applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 99: 9381-9393. doi: 10.1007/s00253-015-6963-9.
- Kamal, S. M., Cimdins-Ahne, A., Lee, C., Li, F., Martín-Rodríguez, A. J., Seferbekova, Z., Afasizhev, R., Wami, H. T., Katikaridis, P. & Meins, L. (2021). A recently isolated human commensal *Escherichia coli* ST10 clone member mediates enhanced thermotolerance and tetrathionate respiration on a P1 phage-derived IncY plasmid. *Molecular microbiology*, 115 (2): 255-271. doi: 10.1111/mmi.14614.
- Kanji, N. S., Narsinghani, U. & Kumar, R. A. (2018). *Serratia*. 1. utg. Handbook of Foodborne Diseases. Boca Raton: CRC Press. Tilgjengelig fra: <https://books.google.no/books?id=Pa1vDwAAQBAJ&pg=PT939&lpg=PT939&dq=Handbook+of+Foodborne+Diseases%2%A0Naheed+S.+Kanji,+Umesh+Narsinghani,+Ritu+A.+Kumar&source=bl&ots=yLTj-q9RY7&sig=ACfU3U0IDzE-VzRD0c0mDCORtKrSeJEuVw&hl=no&sa=X&ved=2ahUKEwjQw8Kz8fb-AhXmVfEDHbyeAhUQ6AF6BAgHEAM#v=onepage&q=Handbook%20of%20Foodborne%20Diseases%2%A0Naheed%20S.%20Kanji%2C%20Umesh%20Narsinghani%2C%20Ritu%20A.%20Kumar&f=false>.
- Kapoor, G., Saigal, S. & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*, 33 (3): 300.
- Kataoka, D., Fujiwara, H., Kawakami, T., Tanaka, Y., Tanimoto, A., Ikawa, S. & Tanaka, Y. (2003). The indirect pathogenicity of *Stenotrophomonas maltophilia*. *International journal of antimicrobial agents*, 22 (6): 601-606. doi: 10.1016/S0924-8579(03)00244-9.
- Khan, M., Willcox, M. D., Rice, S. A., Sharma, S. & Stapleton, F. (2021). Development of antibiotic resistance in the ocular *Pseudomonas aeruginosa* clone ST308 over twenty years. *Experimental Eye Research*, 205: 108504. doi: 10.1016/j.exer.2021.108504.
- Kim, H., Nishiyama, M., Kunito, T., Senoo, K., Kawahara, K., Murakami, K. & Oyaizu, H. (1998). High population of *Sphingomonas* species on plant surface. *Journal of applied microbiology*, 85 (4): 731-736. doi: 10.1111/j.1365-2672.1998.00586.x.
- Klemm, P. & Schembri, M. A. (2000). Bacterial adhesins: function and structure. *International journal of medical microbiology*, 290 (1): 27-35.
- Knapp, K. M. & English, B. K. (2001). Carbapenems. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, 12 (3): 175-185. doi: 10.1053/spid.2001.24093.
- Kong, J., Wu, Z.-X., Wei, L., Chen, Z.-S. & Yoganathan, S. (2020). Exploration of antibiotic activity of aminoglycosides, in particular ribostamycin alone and in combination with ethylenediaminetetraacetic acid against pathogenic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 11: 1718. doi: 10.3389/fmicb.2020.01718.
- Koontz, L. (2013). Agarose gel electrophoresis. *Methods Enzymol*, 529: 35-45.
- Korch, S. B., Henderson, T. A. & Hill, T. M. (2003). Characterization of the *hipA7* allele of *Escherichia coli* and evidence that high persistence is governed by (p) ppGpp synthesis. *Molecular microbiology*, 50 (4): 1199-1213. doi: 10.1046/j.1365-2958.2003.03779.x.
- Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R. & Connolly, L. E. (2016). Aminoglycosides: an overview. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6 (6). doi: 10.1101/cshperspect.a027029.
- Kubista, M., Andrade, J. M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., Sindelka, R., Sjöback, R., Sjögreen, B. & Strömbom, L. (2006). The real-time polymerase chain reaction. *Molecular aspects of medicine*, 27 (2-3): 95-125.

- Kumar, J. D., Negi, Y. K., Gaur, A. & Khanna, D. (2009). Detection of virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolated from paper currency. *International Journal of Infectious Diseases*, 13 (6): e450-e455. doi: 10.1016/j.ijid.2009.02.020.
- Lambert, P. A. (2002). Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 95 Suppl 41: 22-6.
- Larsson, D. J. & Flach, C.-F. (2022). Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, 20 (5): 257-269.
- Larzabal, M., Marques Da Silva, W., Riviere, N. A. & Cataldi, Á. A. (2018). Novel effector protein EspY3 of type III secretion system from enterohemorrhagic *Escherichia coli* is localized in actin pedestals. *Microorganisms*, 6 (4): 112. doi: 10.3390/microorganisms6040112.
- Leblanc, S. K., Oates, C. W. & Raivio, T. L. (2011). Characterization of the induction and cellular role of the BaeSR two-component envelope stress response of *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology*, 193 (13): 3367-3375. doi: 10.1128/jb.01534-10.
- Leclercq, R. (2002). Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clinical infectious diseases*, 34 (4): 482-492. doi: 10.1086/324626.
- Leclercq, R. & Courvalin, P. (2002). Resistance to macrolides and related antibiotics in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46 (9): 2727-2734. doi: 10.1128/aac.46.9.2727-2734.2002.
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C.-Y. & Kim, Y. H. (2012). Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)* (62): e3923.
- Liabø, V. (2021). *betalaktam-antibiotika*. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/betalaktam-antibiotika> (lest 11.05.2023).
- Lindstedt, B.-A., Finton, M. D., Porcellato, D. & Brandal, L. T. (2018). High frequency of hybrid *Escherichia coli* strains with combined Intestinal Pathogenic *Escherichia coli* (IPEC) and Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) virulence factors isolated from human faecal samples. *BMC infectious diseases*, 18: 1-12. doi: 10.1186/s12879-018-3449-2.
- Liu, Y., Tang, H., Lin, Z. & Xu, P. (2015). Mechanisms of acid tolerance in bacteria and prospects in biotechnology and bioremediation. *Biotechnology advances*, 33 (7): 1484-1492. doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.06.001.
- Livmore, D. M., Canton, R., Gniadkowski, M., Nordmann, P., Rossolini, G. M., Arlet, G., Ayala, J., Coque, T. M., Kern-Zdanowicz, I. & Luzzaro, F. (2007). CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59 (2): 165-174. doi: 10.1093/jac/dk1483.
- Livrelli, V., De Champs, C., Di Martino, P., Darfeuille-Michaud, A., Forestier, C. & Joly, B. (1996). Adhesive properties and antibiotic resistance of *Klebsiella*, *Enterobacter*, and *Serratia* clinical isolates involved in nosocomial infections. *Journal of clinical microbiology*, 34 (8): 1963-1969. doi: 10.1128/jcm.34.8.1963-1969.1996.
- Lloyd, A. L., Rasko, D. A. & Mobley, H. L. (2007). Defining genomic islands and uropathogen-specific genes in uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology*, 189 (9): 3532-3546. doi: 10.1128/jb.01744-06.
- Lobato-Marquez, D., Diaz-Orejas, R. & Garcia-del Portillo, F. (2016). Toxin-antitoxins and bacterial virulence. *FEMS microbiology reviews*, 40 (5): 592-609. doi: 10.1093/femsre/fuw022.
- Locht, C., Geoffroy, M. & Renaud, G. (1992). Common accessory genes for the *Bordetella pertussis* filamentous hemagglutinin and fimbriae share sequence similarities with the papC and papD gene families. *The EMBO Journal*, 11 (9): 3175-3183.

- Logan, L. K. & Weinstein, R. A. (2017). The epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: the impact and evolution of a global menace. *The Journal of infectious diseases*, 215 (suppl_1): S28-S36. doi: 10.1093/infdis/jiw282.
- Lv, L., Partridge, S. R., He, L., Zeng, Z., He, D., Ye, J. & Liu, J.-H. (2013). Genetic characterization of IncI2 plasmids carrying bla CTX-M-55 spreading in both pets and food animals in China. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57 (6): 2824-2827. doi: 10.1128/aac.02155-12.
- Lyle, N. H., Pena, O. M., Boyd, J. H. & Hancock, R. E. (2014). Barriers to the effective treatment of sepsis: antimicrobial agents, sepsis definitions, and host-directed therapies. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1323 (1): 101-114.
- Lynch, A. S. (2006). Efflux systems in bacterial pathogens: an opportunity for therapeutic intervention? An industry view. *Biochemical pharmacology*, 71 (7): 949-956. doi: 10.1016/j.bcp.2005.10.021.
- MacGowan, A. & Macnaughton, E. (2017). Antibiotic resistance. *Medicine*, 45 (10): 622-628.
- MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG. (2017). *PCR clean-up Gel extraction*. Tilgjengelig fra: https://www.takarabio.com/documents/User%20Manual/NucleoSpin%20Gel%20and%20PCR%20Clean/NucleoSpin%20Gel%20and%20PCR%20Clean-up%20User%20Manual_Rev_04.pdf (lest 20.03.2023).
- Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M., Giske, C., Harbarth, S., Hindler, J., Kahlmeter, G. & Olsson-Liljequist, B. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection*, 18 (3): 268-281.
- Malarkodi, C., Rajeshkumar, S., Paulkumar, K., Vanaja, M., Jobitha, G. D. G. & Annadurai, G. (2013). Bactericidal activity of bio mediated silver nanoparticles synthesized by *Serratia nematodiphila*. *Drug invention today*, 5 (2): 119-125.
- Malberg Tetzschner, A. M., Johnson, J. R., Johnston, B. D., Lund, O. & Scheutz, F. (2020). In silico genotyping of *Escherichia coli* isolates for extraintestinal virulence genes by use of whole-genome sequencing data. *Journal of clinical microbiology*, 58 (10). doi: 10.1128/jcm.01269-20.
- Mançano, S. M. C. N., Campana, E. H., Felix, T. P., Barreto, L. R. L., Pereira, P. S. & Picão, R. C. (2020). Frequency and diversity of *Stenotrophomonas* spp. carrying blaKPC in recreational coastal waters. *Water research*, 185: 116210. doi: 10.1016/j.watres.2020.116210.
- Markoulatos, P., Siafakas, N. & Moncany, M. (2002). Multiplex polymerase chain reaction: a practical approach. *Journal of clinical laboratory analysis*, 16 (1): 47-51.
- Marshall, W. F. & Blair, J. E. (1999). *The cephalosporins*. Mayo Clinic Proceedings: Elsevier.
- Martinez, J. L. (2014). General principles of antibiotic resistance in bacteria. *Drug Discovery Today: Technologies*, 11: 33-39.
- Martinsen, M. & Brøgger, A. (2021). *Mutasjon*. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/mutasjon> (lest 11.05.2023).
- Matuschek, E., Brown, D. F. & Kahlmeter, G. (2014). Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical microbiology and infection*, 20 (4): O255-O266.
- Mbanga, J. & Nyararai, Y. O. (2015). Virulence gene profiles of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from chickens with colibacillosis in Bulawayo, Zimbabwe. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 82 (1): 1-8.

- Meinersmann, R. J. (2019). The biology of IncI2 plasmids shown by whole-plasmid multi-locus sequence typing. *Plasmid*, 106: 102444. doi: 10.1016/j.plasmid.2019.102444.
- Meletis, G. (2016). Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. *Therapeutic advances in infectious disease*, 3 (1): 15-21.
- Menin, J. F. & Nichols, N. M. (2013). Multiplex PCR using Q5® High-Fidelity DNA Polymerase. *N. Engl. Biolabs Appl. Note*.
- Michel-Briand, Y. & Baysse, C. (2002). The pyocins of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimie*, 84 (5-6): 499-510.
- Mingeot-Leclercq, M.-P., Glupczynski, Y. & Tulkens, P. M. (1999). Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 43 (4): 727-737. doi: 10.1128/aac.43.4.727.
- Miryala, S. K. & Ramaiah, S. (2019). Exploring the multi-drug resistance in *Escherichia coli* O157: H7 by gene interaction network: a systems biology approach. *Genomics*, 111 (4): 958-965. doi: 10.1016/j.ygeno.2018.06.002.
- Mobarki, N., Almerabi, B. & Hattan, A. (2019). Antibiotic resistance crisis. *Int. J. Med. Dev. Ctries*, 40 (4): 561-564.
- Montenegro, M., Bitter-Suermann, D., Timmis, J., Agüero, M., Cabello, F., Sanyal, S. & Timmis, K. (1985). traT gene sequences, serum resistance and pathogenicity-related factors in clinical isolates of *Escherichia coli* and other gram-negative bacteria. *Microbiology*, 131 (6): 1511-1521.
- Moore, N. M. & Flaws, M. L. (2011). Introduction: *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical laboratory science*, 24 (1): 41.
- Moosdeen, F. (1997). The evolution of resistance to cephalosporins. *Clinical infectious diseases*, 24 (3): 487-493. doi: 10.1093/clinids/24.3.487.
- Moremi, N., Manda, E. V., Falgenhauer, L., Ghosh, H., Imirzalioglu, C., Matee, M., Chakraborty, T. & Mshana, S. E. (2016). Predominance of CTX-M-15 among ESBL producers from environment and fish gut from the shores of Lake Victoria in Mwanza, Tanzania. *Frontiers in microbiology*, 7: 1862. doi: 10.3389/fmicb.2016.01862.
- Morita, Y., Kodama, K., Shiota, S., Mine, T., Kataoka, A., Mizushima, T. & Tsuchiya, T. (1998). NorM, a putative multidrug efflux protein, of *Vibrio parahaemolyticus* and its homolog in *Escherichia coli*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 42 (7): 1778-1782. doi: 10.1128/aac.42.7.1778.
- Munita, J. M. & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4 (2): 4.2.15. doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
- Munoz-Davila, M. J. (2014). Role of old antibiotics in the era of antibiotic resistance. Highlighted nitrofurantoin for the treatment of lower urinary tract infections. *Antibiotics*, 3 (1): 39-48. doi: 10.3390/antibiotics3010039.
- Mülhardt, C. & Beese, E. W. (2007). Investigating the Function of DNA Sequences. I: Mülhardt, C. & Beese, E. W. (red.) *Molecular Biology and Genomics*, s. 169-221. Munich, Tyskland: Academic Press. doi: 10.1016/B978-012088546-6/50011-7 (lest 06.06.2023).
- Nagakubo, S., Nishino, K., Hirata, T. & Yamaguchi, A. (2002). The putative response regulator BaeR stimulates multidrug resistance of *Escherichia coli* via a novel multidrug exporter system, MdtABC. *Journal of bacteriology*, 184 (15): 4161-4167. doi: 10.1128/jb.184.15.4161-4167.2002.
- Narciso-da-Rocha, C., Varela, A. R., Schwartz, T., Nunes, O. C. & Manaia, C. M. (2014). blaTEM and vanA as indicator genes of antibiotic resistance contamination in a hospital-urban wastewater treatment plant system. *Journal of global antimicrobial resistance*, 2 (4): 309-315. doi: 10.1016/j.jgar.2014.10.001.

- National Library of Medicine. (u.å.). *Standard Nucleotide BLAST*. Tilgjengelig fra: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome (lest 10.02.2023).
- Nesse, L. L., Forfang, K., Stenrød, M., Slettemeås, J. S., Tessema, G. T., Hagen, S., Norström, M., Elameen, A., Johannessen, G., Sunde, M., et al. (2021). *Antimikrobiell resistens i terrestrisk miljø*. VETERINÆRINSTITUTTETS RAPPORTSERIE. Tilgjengelig fra: <https://www.vetinst.no/rapporter-og-publikasjoner/rapporter/2021/antimikrobiell-resistens-i-terrestrisk-miljo> (lest 19.04.2023).
- Ni Chulain, M., Murray, A.-M., Corbett-Feeney, G. & Cormican, M. (2005). Antimicrobial resistance in *E. coli* associated with urinary tract infection in the west of Ireland. *Irish journal of medical science*, 174: 6-9. doi: 10.1007/BF03168974.
- Niba, E. T. E., Naka, Y., Nagase, M., Mori, H. & Kitakawa, M. (2007). A genome-wide approach to identify the genes involved in biofilm formation in *E. coli*. *DNA research*, 14 (6): 237-246. doi: 10.1093/dnares/dsm024.
- Nicolas-Chanoine, M.-H., Bertrand, X. & Madec, J.-Y. (2014). *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group. *Clinical microbiology reviews*, 27 (3): 543-574. doi: 10.1128/cmr.00125-13.
- Nies, D. H. (1992). CzcR and CzcD, gene products affecting regulation of resistance to cobalt, zinc, and cadmium (czc system) in *Alcaligenes eutrophus*. *Journal of bacteriology*, 174 (24): 8102-8110. doi: 10.1128/jb.174.24.8102-8110.1992.
- Nikaido, H. (2009). *Outer Membrane, Gram-Negative Bacteria*. 3. utg. Encyclopedia of Microbiology. Berkeley: Academic Press. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00050-X>.
- Norgren, M., Baga, M., Tennent, J. & Normark, S. (1987). Nucleotide sequence, regulation and functional analysis of the papC gene required for cell surface localization of Pap pili of uropathogenic *Escherichia coli*. *Molecular microbiology*, 1 (2): 169-178. doi: 10.1111/j.1365-2958.1987.tb00509.x.
- Norwegian Scientific Committee for Food Safety. (2016). *Antimicrobial resistance due to the use of biocides and heavy metals: a literature review*. Scientific Opinion on the Panel on Microbial Ecology of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety.
- Nourbakhsh, F. & Namvar, A. E. (2016). Detection of genes involved in biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolates. *GMS Hygiene and infection control*, 11. doi: 10.3205/dgkh000267.
- Novais, A., Cantón, R., Moreira, R., Peixe, L. s., Baquero, F. & Coque, T. M. (2007). Emergence and dissemination of Enterobacteriaceae isolates producing CTX-M-1-like enzymes in Spain are associated with IncFII (CTX-M-15) and broad-host-range (CTX-M-1,-3, and-32) plasmids. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51 (2): 796-799. doi: 10.1128/aac.01070-06.
- Nuesch-Inderbinen, M., Cernela, N., Wuthrich, D., Egli, A. & Stephan, R. (2018). Genetic characterization of Shiga toxin producing *Escherichia coli* belonging to the emerging hybrid pathotype O80: H2 isolated from humans 2010-2017 in Switzerland. *International Journal of Medical Microbiology*, 308 (5): 534-538. doi: 10.1016/j.ijmm.2018.05.007.
- Oepen, K., Özbek, H., Schöffler, A., Liermann, J. C., Thines, E. & Schneider, D. (2021). Myristic acid inhibits the activity of the bacterial ABC transporter BmrA. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (24): 13565. doi: 10.3390/ijms222413565.
- Ohki, R. & Murata, M. (1997). bmr3, a third multidrug transporter gene of *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 179 (4): 1423-1427. doi: 10.1128/jb.179.4.1423-1427.1997.

- Ortiz de la Rosa, J. M., Nordmann, P. & Poirel, L. (2020). Pathogenicity genomic island-associated CrpP-like fluoroquinolone-modifying enzymes among *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Europe. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 64 (7): e00489-20. doi: 10.1128/aac.00489-20.
- Oshima, T., Ito, K., Kabayama, H. & Nakamura, Y. (1995). Regulation of Irp gene expression by H-NS and Lrp proteins in *Escherichia coli*: Dominant negative mutations in Irp. *Molecular and General Genetics MGG*, 247: 521-528. doi: 10.1007/BF00290342.
- Oteo, J., Lázaro, E., de Abajo, F. J., Baquero, F., Campos, J. & members of EARSS, S. (2005). Antimicrobial-resistant invasive *Escherichia coli*, Spain. *Emerging Infectious Diseases*, 11 (4): 546–553. doi: 10.3201/eid1104.040699.
- Oudhuis, G. J., Verbon, A., Hoogkamp-Korstanje, J., Stobberingh, E. E. & Group, S. S. S. (2008). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* from intensive care units in the Netherlands, 1998–2005. *International journal of antimicrobial agents*, 31 (1): 58-63. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2007.08.009.
- Paisley, J. W. & Washington, J. A. (1978). Combined activity of clavulanic acid and ticarcillin against ticarcillin-resistant, gram-negative bacilli. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 14 (2): 224-227. doi: 10.1128/aac.14.2.224.
- Palma, C., Iona, E., Giannoni, F., Pardini, M., Brunori, L., Orefici, G., Fattorini, L. & Cassone, A. (2007). The Ag85B protein of *Mycobacterium tuberculosis* may turn a protective immune response induced by Ag85B-DNA vaccine into a potent but non-protective Th1 immune response in mice. *Cellular microbiology*, 9 (6): 1455-1465. doi: 10.1111/j.1462-5822.2007.00884.x.
- Pankey, G. A. (2005). Tigecycline. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56 (3): 470-480. doi: 10.1093/jac/dki248.
- Patel, J. B. (2001). 16S rRNA gene sequencing for bacterial pathogen identification in the clinical laboratory. *Molecular diagnosis*, 6: 313-321. doi: 10.1007/BF03262067.
- Pavelka Jr, M. S., Wright, L. F. & Silver, R. P. (1991). Identification of two genes, kpsM and kpsT, in region 3 of the polysialic acid gene cluster of *Escherichia coli* K1. *Journal of bacteriology*, 173 (15): 4603-4610.
- Peirano, G., Bradford, P. A., Kazmierczak, K. M., Badal, R. E., Hackel, M., Hoban, D. J. & Pitout, J. D. (2014). Global incidence of carbapenemase-producing *Escherichia coli* ST131. *Emerging infectious diseases*, 20 (11): 1928. doi: 10.3201/eid2011.141388.
- Pelludat, C., Rakin, A., Jacobi, C., Schubert, S. & Heesemann, J. (1998). The yersiniabactin biosynthetic gene cluster of *Yersinia enterocolitica*: organization and siderophore-dependent regulation. *Journal of Bacteriology*, 180 (3): 538-546.
- Perez, F., Endimiani, A., Hujer, K. M. & Bonomo, R. A. (2007). The continuing challenge of ESBLs. *Current opinion in pharmacology*, 7 (5): 459-469. doi: 10.1016/j.coph.2007.08.003.
- Peterson, A., Aas, S. & Wasserman, D. (2018). *Selected Abstracts From the 2018 International Neuroethics Society Annual Meeting*. Annual Meeting, AJOB Neuroscience.
- Petri, W. A. (2006). Penicillins, cephalosporins, and other β -lactam antibiotics. I: Brunton, L. L., Chabner, B. A. & Knollmann, B. C. (red.) *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*, s. 1127-1152. USA: Mc Graw Hill: McGRAW-HILL.
- Petti, C., Polage, C. & Schreckenberger, P. (2005). The role of 16S rRNA gene sequencing in identification of microorganisms misidentified by conventional methods. *Journal of clinical microbiology*, 43 (12): 6123-6125. doi: 10.1128/jcm.43.12.6123-6125.2005.
- Pietsch, F., Bergman, J. M., Brandis, G., Marcusson, L. L., Zorzet, A., Huseby, D. L. & Hughes, D. (2016). Ciprofloxacin selects for RNA polymerase mutations with

- pleiotropic antibiotic resistance effects. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72 (1): 75-84. doi: 10.1093/jac/dkw364.
- Pilatti, L., de Paiva, J. B., Rojas, T. C. G., Leite, J. L., Conceição, R. A., Nakazato, G. & Dias da Silveira, W. (2016). The virulence factor ychO has a pleiotropic action in an Avian Pathogenic Escherichia coli (APEC) strain. *BMC microbiology*, 16 (1): 1-11. doi: 10.1186/s12866-016-0654-2.
- Pishtiwani, A. H. & Khadija, K. M. (2019). Prevalence of blaTEM, blaSHV, and blaCTX-M genes among ESBL-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli isolated from thalassemia patients in Erbil, Iraq. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*, 11 (1). doi: 10.4084/MJHID.2019.041.
- Pitart, C., Solé, M., Roca, I., Román, A., Moreno, A., Vila, J. & Marco, F. (2015). Molecular characterization of bla NDM-5 carried on an IncFII plasmid in an Escherichia coli isolate from a nontraveler patient in Spain. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59 (1): 659-662. doi: 10.1128/aac.04040-14
- Pitout, J. D. & DeVinney, R. (2017). Escherichia coli ST131: a multidrug-resistant clone primed for global domination. *F1000Research*, 6. doi: 10.12688/f1000research.10609.1.
- Pitout, J. D. & Finn, T. J. (2020). The evolutionary puzzle of Escherichia coli ST131. *Infection, Genetics and Evolution*, 81: 104265. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104265.
- Pitout, J. D., Peirano, G., Chen, L., DeVinney, R. & Matsumura, Y. (2022). Escherichia coli ST1193: following in the footsteps of E. coli ST131. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66 (7): e00511-22. doi: 10.1128/aac.00511-22.
- Poindexter, J. S. (1964). Biological properties and classification of the Caulobacter group. *Bacteriological reviews*, 28 (3): 231-295. doi: 10.1128/br.28.3.231-295.1964.
- Poole, K. (2005). Aminoglycoside resistance in Pseudomonas aeruginosa. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 49 (2): 479-487. doi: 10.1128/aac.49.2.479-487.2005.
- Poole, K. (2011). Pseudomonas aeruginosa: resistance to the max. *Frontiers in microbiology*, 2: 65. doi: 10.3389/fmicb.2011.00065.
- Prakki, S. R. S., Hon, P. Y., Lim, Z. Q., Thevasagayam, N. M., Loy, S. Q. D., De, P. P., Marimuthu, K., Vasoo, S. & Ng, O. T. (2023). Dissemination of Pseudomonas aeruginosa bla NDM-1-Positive ST308 Clone in Singapore. *Microbiology Spectrum*: e04033-22. doi: 10.1128/spectrum.04033-22.
- QIAGEN. (2017). *DNeasy PowerFood Microbial Kit Quick Start Protocol*. Tilgjengelig fra: <https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=2ce6f95d-d62b-4f93-901e-7c6f0e2f35ac&lang=en> (lest 14.03.2023).
- Ranjith, K., Ramchiary, J., Prakash, J. S., Arunasri, K., Sharma, S. & Shivaji, S. (2019). Gene targets in ocular pathogenic Escherichia coli for mitigation of biofilm formation to overcome antibiotic resistance. *Frontiers in microbiology*, 10: 1308. doi: 10.3389/fmicb.2019.01308.
- Rasko, D. A., Phillips, J. A., Li, X. & Mobley, H. L. (2001). Identification of DNA sequences from a second pathogenicity island of uropathogenic Escherichia coli CFT073: probes specific for uropathogenic populations. *The Journal of infectious diseases*, 184 (8): 1041-1049. doi: 10.1086/323602.
- Reiss, D. J. & Mobley, H. L. (2011). Determination of target sequence bound by PapX, repressor of bacterial motility, in flhD promoter using systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX) and high throughput sequencing. *Journal of Biological Chemistry*, 286 (52): 44726-44738. doi: 10.1074/jbc.M111.290684.

- Reller, L. B., Weinstein, M., Jorgensen, J. H. & Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical infectious diseases*, 49 (11): 1749-1755.
- Reynolds, R., Potz, N., Colman, M., Williams, A., Livermore, D. & MacGowan, A. (2004). Antimicrobial susceptibility of the pathogens of bacteraemia in the UK and Ireland 2001–2002: the BSAC Bacteraemia Resistance Surveillance Programme. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53 (6): 1018-1032. doi: 10.1093/jac/dkh232.
- Riede, I. & Eschbach, M.-L. (1986). Evidence that TraT interacts with OmpA of *Escherichia coli*. *FEBS letters*, 205 (2): 241-245. doi: 10.1016/0014-5793(86)80905-X.
- Roberts, M. C. & Schwarz, S. (2016). Tetracycline and phenicol resistance genes and mechanisms: importance for agriculture, the environment, and humans. *Journal of environmental quality*, 45 (2): 576-592. doi: 10.2134/jeq2015.04.0207.
- Roemhild, R., Linkevicius, M. & Andersson, D. I. (2020). Molecular mechanisms of collateral sensitivity to the antibiotic nitrofurantoin. *PLoS biology*, 18 (1): e3000612. doi: 10.1371/journal.pbio.3000612.
- Rossolini, G., D'andrea, M. & Mugnaioli, C. (2008). The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, 14: 33-41. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01867.x.
- Rossolini, G. M., Arena, F., Pecile, P. & Pollini, S. (2014). Update on the antibiotic resistance crisis. *Current opinion in pharmacology*, 18: 56-60.
- Rueter, C. & Bielaszewska, M. (2020). Secretion and delivery of intestinal pathogenic *Escherichia coli* virulence factors via outer membrane vesicles. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10: 91. doi: 10.3389/fcimb.2020.00091.
- Ruiz, N., Kahne, D. & Silhavy, T. J. (2009). Transport of lipopolysaccharide across the cell envelope: the long road of discovery. *Nature Reviews Microbiology*, 7 (9): 677-683.
- Sabri, M., Caza, M., Proulx, J., Lymberopoulos, M. H., Brée, A., Moulin-Schouleur, M., Curtiss III, R. & Dozois, C. M. (2008). Contribution of the SitABCD, MntH, and FeoB metal transporters to the virulence of avian pathogenic *Escherichia coli* O78 strain χ 7122. *Infection and immunity*, 76 (2): 601-611. doi: 10.1128/iai.00789-07.
- Sahm, D. F., Thornsberry, C., Mayfield, D. C., Jones, M. E. & Karlowsky, J. A. (2001). Multidrug-resistant urinary tract isolates of *Escherichia coli*: prevalence and patient demographics in the United States in 2000. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45 (5): 1402-1406. doi: 10.1128/aac.45.5.1402-1406.2001.
- Saito, K., Yoneyama, H. & Nakae, T. (1999). nalB-type mutations causing the overexpression of the MexAB-OprM efflux pump are located in the mexR gene of the *Pseudomonas aeruginosa* chromosome. *FEMS microbiology letters*, 179 (1): 67-72. doi: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb08709.x.
- Sanchez, G. V., Baird, A., Karlowsky, J., Master, R. & Bordon, J. (2014). Nitrofurantoin retains antimicrobial activity against multidrug-resistant urinary *Escherichia coli* from US outpatients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69 (12): 3259-3262. doi: 10.1093/jac/dku282.
- Sandner-Miranda, L., Vinuesa, P., Cravioto, A. & Morales-Espinosa, R. (2018). The genomic basis of intrinsic and acquired antibiotic resistance in the genus *Serratia*. *Frontiers in Microbiology*, 9: 828. doi: 10.3389/fmicb.2018.00828.
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G. & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut pathogens*, 11: 1-16. doi: 10.1186/s13099-019-0290-0.

- Schochetman, G., Ou, C.-Y. & Jones, W. K. (1988). Polymerase chain reaction. *The Journal of infectious diseases*, 158 (6): 1154-1157.
- Schubert, S., Rakin, A., Karch, H., Carniel, E. & Heesemann, J. (1998). Prevalence of the “high-pathogenicity island” of *Yersinia* species among *Escherichia coli* strains that are pathogenic to humans. *Infection and immunity*, 66 (2): 480-485. doi: 10.1128/iai.66.2.480-485.1998.
- Schwarz, S. & White, D. G. (2005). Phenicol resistance. *Frontiers in Antimicrobial Resistance: A Tribute to Stuart B. Levy*: 124-147. doi: 10.1128/9781555817572.ch9.
- Schwarz, S., Shen, J., Kadlec, K., Wang, Y., Michael, G. B., Feßler, A. T. & Vester, B. (2016). Lincosamides, streptogramins, phenicols, and pleuromutilins: mode of action and mechanisms of resistance. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6 (11). doi: 10.1101/cshperspect.a027037.
- Servin, A. L. (2005). Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, 18 (2): 264-292. doi: 10.1128/CMR.18.2.264-292.2005.
- Seyedjavadi, S. S., Goudarzi, M. & Sabzehali, F. (2016). Relation between blaTEM, blaSHV and blaCTX-M genes and acute urinary tract infections. *Journal of Acute Disease*, 5 (1): 71-76. doi: 10.1016/j.joad.2015.07.007.
- Shariff, M. & Beri, K. (2017). Exacerbation of bronchiectasis by *Pseudomonas monteilii*: a case report. *BMC Infectious Diseases*, 17 (1): 1-4. doi: 10.1186/s12879-017-2600-9.
- Sharma, A., Gupta, V. K. & Pathania, R. (2019). Efflux pump inhibitors for bacterial pathogens: From bench to bedside. *The Indian journal of medical research*, 149 (2): 129.
- Sid Ahmed, M. (2020). *Molecular Epidemiology and Mechanisms of Antibiotic Resistance in Clinical Isolates of Pseudomonas aeruginosa from Qatar*: Örebro University.
- Sid Ahmed, M. A., Khan, F. A., Hadi, H. A., Skariah, S., Sultan, A. A., Salam, A., Al Khal, A. L., Söderquist, B., Ibrahim, E. B. & Omrani, A. S. (2022). Association of bla VIM-2, bla PDC-35, bla OXA-10, bla OXA-488 and bla VEB-9 β -Lactamase Genes with Resistance to Ceftazidime–Avibactam and Ceftolozane–Tazobactam in Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics*, 11 (2): 130. doi: 10.3390/antibiotics11020130.
- Singh, G., Vajpayee, P., Rani, N., Amoah, I. D., Stenström, T. A. & Shanker, R. (2016). Exploring the potential reservoirs of non specific TEM beta lactamase (blaTEM) gene in the Indo-Gangetic region: a risk assessment approach to predict health hazards. *Journal of hazardous materials*, 314: 121-128. doi: 10.1016/j.jhazmat.2016.04.036.
- Sirevåg, R. (2022). *Pseudomonas*. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/Pseudomonas> (lest 14.05.2023).
- Skolelaboratoriet for biologi ved Universitetet i Oslo. (u.å.). *Agarose gel-elektroforese*. Tilgjengelig fra: <https://www.mn.uio.no/ibv/om/skolelab/ressursarkivet/kompendier/kompendie-gelelektroforese.pdf> (lest 24.04.2023).
- Sköld, O. (2001). Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Veterinary research*, 32 (3-4): 261-273. doi: 10.1051/vetres:2001123.
- Spurbeck, R. R., Dinh Jr, P. C., Walk, S. T., Stapleton, A. E., Hooton, T. M., Nolan, L. K., Kim, K. S., Johnson, J. R. & Mobley, H. L. (2012). *Escherichia coli* isolates that carry vat, fyuA, chuA, and yfcV efficiently colonize the urinary tract. *Infection and immunity*, 80 (12): 4115-4122. doi: 10.1128/IAI.00752-12.
- Sreekantan, A. P., Rajan, P. P., Mini, M. & Kumar, P. (2022). Multidrug Efflux Pumps in Bacteria and Efflux Pump Inhibitors. *Postepy Mikrobiologii-Advancements of Microbiology*, 61 (3): 105-114. doi: 10.2478/am-2022-009.

- Srikumar, R., Paul, C. J. & Poole, K. (2000). Influence of mutations in the mexR repressor gene on expression of the MexA-MexB-OprM multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 182 (5): 1410-1414. doi: 10.1128/jb.182.5.1410-1414.2000.
- Suarez, C. & Gudiol, F. (2009). Beta-lactam antibiotics. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica*, 27 (2): 116-129.
- Sun, C., Zhang, P., Ji, X., Fan, R., Chen, B., Wang, Y., Schwarz, S. & Wu, C. (2018). Presence and molecular characteristics of oxazolidinone resistance in staphylococci from household animals in rural China. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73 (5): 1194-1200. doi: 10.1093/jac/dky009.
- Sun, J., Li, X.-P., Yang, R.-S., Fang, L.-X., Huo, W., Li, S.-M., Jiang, P., Liao, X.-P. & Liu, Y.-H. (2016). Complete nucleotide sequence of an IncI2 plasmid coharboring bla CTX-M-55 and mcr-1. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60 (8): 5014-5017. doi: 10.1128/aac.00774-16.
- Sun, Y., Cai, Y., Liu, X., Bai, N., Liang, B. & Wang, R. (2013). The emergence of clinical resistance to tigecycline. *International journal of antimicrobial agents*, 41 (2): 110-116. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.09.005.
- Syal, K., Mo, M., Yu, H., Iriya, R., Jing, W., Guodong, S., Wang, S., Grys, T. E., Haydel, S. E. & Tao, N. (2017). Current and emerging techniques for antibiotic susceptibility tests. *Theranostics*, 7 (7): 1795.
- Tanabe, H., Yamasaki, K., Furue, M., Yamamoto, K., Katoh, A., Yamamoto, M., Yoshioka, S., Tagami, H., Aiba, H. & Utsumi, R. (1997). Growth phase-dependent transcription of emrKY, a homolog of multidrug efflux emrAB genes of *Escherichia coli*, is induced by tetracycline. *The Journal of general and applied microbiology*, 43 (5): 257-263. doi: 10.2323/jgam.43.257.
- Tang, C. & Holden, D. (1999). Pathogen virulence genes—implications for vaccines and drug therapy. *British medical bulletin*, 55 (2): 387-400. doi: 10.1258/0007142991902448.
- Tanimoto, K., Nomura, T., Hashimoto, Y., Hirakawa, H., Watanabe, H. & Tomita, H. (2021). Isolation of *Serratia fonticola* producing FONA, a minor extended-spectrum β -lactamase (ESBL), from imported chicken meat in Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 74 (1): 79-81. doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.114.
- Testing, T. E. C. o. A. S. (u.å.). *Antimicrobial wild type distributions of microorganisms*. Tilgjengelig fra: <https://mic.eucast.org/search/> (lest 11.04.2023).
- Thaker, M., Spanogiannopoulos, P. & Wright, G. D. (2010). The tetracycline resistome. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67: 419-431. doi: 10.1007/s00018-009-0172-6.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2023). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 13.0*. Tilgjengelig fra: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_13.0/Breakpoint_Tables.pdf (lest 18.04.2023).
- Thermo Fisher Scientific Inc. (u.å.). *Brilliance CRE AGAR*. Tilgjengelig fra: http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=PO1226&c=UK&lang=EN (lest 03.03.2023).
- Thermo Fisher Scientific Inc. (2009). *260/280 and 260/230 Ratios*. Tilgjengelig fra: https://dna.uga.edu/wp-content/uploads/sites/51/2019/02/Note-on-the-260_280-and-260_230-Ratios.pdf (lest 26.04.2023).
- Thermo Fisher Scientific Inc. (2011). *The Qubit 2.0 Fluorometer*. Tilgjengelig fra: <https://www.thermofisher.com/no/en/home/references/newsletters-and-journals/bioprobables-journal-of-cell-biology-applications/bioprobables-issues-2011/bioprobables-64-april-2011/the-qubit-2-0-fluorometer-april-2011.html> (lest 26.04.2023).

- Thermo Fisher Scientific inc. (2022). *Multiplex vs. Singleplex qPCR: What Do I Need To Know?* Tilgjengelig fra: <https://www.thermofisher.com/blog/behindthebench/multiplex-vs-singleplex-qpcr-what-do-i-need-to-know/> (lest 24.04.2023).
- Thermo Fisher Scientific Inc. (u.å.). *Brilliance ESBL AGAR*. Tilgjengelig fra: http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=PO5302&c=UK&lang=EN (lest 09.03.2023).
- Thiem, V. D., Sethabutr, O., Von Seidlein, L., Van Tung, T., Canh, D. G., Chien, B. T., Tho, L. H., Lee, H., Houg, H.-S. & Hale, T. L. (2004). Detection of Shigella by a PCR assay targeting the ipaH gene suggests increased prevalence of shigellosis in Nha Trang, Vietnam. *Journal of clinical microbiology*, 42 (5): 2031-2035. doi: 10.1128/jcm.42.5.2031-2035.2004.
- Thomas, C. M. & Nielsen, K. M. (2005). Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nature reviews microbiology*, 3 (9): 711-721.
- Thomson, N. M., Gilroy, R., Getino, M., Foster-Nyarko, E., Van Vliet, A. H., La Ragione, R. M. & Pallen, M. J. (2022). Remarkable genomic diversity among Escherichia isolates recovered from healthy chickens. *PeerJ*, 10: e12935. doi: 10.7717/peerj.12935.
- Tong, C., Hu, H., Chen, G., Li, Z., Li, A. & Zhang, J. (2021). Disinfectant resistance in bacteria: Mechanisms, spread, and resolution strategies. *Environmental research*, 195: 110897.
- Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H., Takebayashi, Y. & Spencer, J. (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of molecular biology*, 431 (18): 3472-3500.
- Torres, C., Galián, C., Freiberg, C., Fantino, J.-R. & Jault, J.-M. (2009). The YheI/YheH heterodimer from Bacillus subtilis is a multidrug ABC transporter. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1788 (3): 615-622. doi: 10.1016/j.bbamem.2008.12.012.
- Totsika, M., Wells, T. J., Beloin, C., Valle, J., Allsopp, L. P., King, N. P., Ghigo, J.-M. & Schembri, M. A. (2012). Molecular characterization of the EhaG and UpaG trimeric autotransporter proteins from pathogenic Escherichia coli. *Applied and environmental microbiology*, 78 (7): 2179-2189. doi: 10.1128/AEM.06680-11.
- Traugott, M., Kamenova, S., Ruess, L., Seeber, J. & Plantegenest, M. (2013). Empirically characterising trophic networks: what emerging DNA-based methods, stable isotope and fatty acid analyses can offer. I: b. 49 *Advances in ecological research*, s. 177-224: Elsevier.
- Trung, N. T., Hien, T. T. T., Huyen, T. T. T., Quyen, D. T., Binh, M. T., Hoan, P. Q., Meyer, C. G., Velavan, T. P. & Song, L. H. (2015). Simple multiplex PCR assays to detect common pathogens and associated genes encoding for acquired extended spectrum betalactamases (ESBL) or carbapenemases from surgical site specimens in Vietnam. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 14 (1): 1-7.
- Ugbo, E. N., Anyamene, C. O., Moses, I. B., Iroha, I. R., Babalola, O. O., Ukpai, E. G., Chukwunwejim, C. R., Egbule, C. U., Emioye, A. A. & Okata-Nwali, O. D. (2020). Prevalence of blaTEM, blaSHV, and blaCTX-M genes among extended spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae of clinical origin. *Gene Reports*, 21: 100909. doi: 10.1016/j.genrep.2020.100909.
- Universitetssykehuset Nord-Norge. (2021). *SANGER SEKVENSERING*. Tilgjengelig fra: <https://labhandbok.unn.no/medisinsk-genetikk/sanger-sekvensering-article2888-932.html> (lest 25.04.2023).
- Upadhyay, S., Mishra, S., Sen, M., Banerjee, T. & Bhattacharjee, A. (2013). Co-existence of Pseudomonas-derived cephalosporinase among plasmid encoded CMY-2 harbouring

- isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in north India. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 31 (3): 257-260. doi: 10.4103/0255-0857.115629.
- Vacheron, J., Péchy-Tarr, M., Brochet, S., Heiman, C. M., Stojiljkovic, M., Maurhofer, M. & Keel, C. (2019). T6SS contributes to gut microbiome invasion and killing of an herbivorous pest insect by plant-beneficial *Pseudomonas protegens*. *The ISME journal*, 13 (5): 1318-1329. doi: 10.1038/s41396-019-0353-8.
- Valencia, C. A., Pervaiz, M. A., Husami, A., Qian, Y. & Zhang, K. (2013a). *Next generation sequencing technologies in medical genetics*: Springer.
- Valencia, C. A., Pervaiz, M. A., Husami, A., Qian, Y., Zhang, K., Valencia, C. A., Pervaiz, M. A., Husami, A., Qian, Y. & Zhang, K. (2013b). Sanger sequencing principles, history, and landmarks. *Next Generation Sequencing Technologies in Medical Genetics*: 3-11.
- Valle, J., Mabbett, A. N., Ulett, G. C., Toledo-Arana, A., Wecker, K., Totsika, M., Schembri, M. A., Ghigo, J.-M. & Beloin, C. (2008). UpaG, a new member of the trimeric autotransporter family of adhesins in uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology*, 190 (12): 4147-4161. doi: 10.1128/jb.00122-08.
- van Belkum, A., Burnham, C.-A. D., Rossen, J. W., Mallard, F., Rochas, O. & Dunne Jr, W. M. (2020). Innovative and rapid antimicrobial susceptibility testing systems. *Nature Reviews Microbiology*, 18 (5): 299-311.
- Van der Woude, M. W. & Henderson, I. R. (2008). Regulation and function of Ag43 (flu). *Annu. Rev. Microbiol.*, 62: 153-169. doi: 10.1146/annurev.micro.62.081307.162938.
- Van Houdt, R., Givskov, M. & Michiels, C. W. (2007). Quorum sensing in *Serratia*. *FEMS Microbiology Reviews*, 31 (4): 407-424. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00071.x.
- Voytas, D. (2000). Agarose gel electrophoresis. *Current protocols in molecular biology*, 51 (1): 2.5 A. 1-2.5 A. 9.
- Wang, J. & Liu, J.-H. (2004). Mutations in the chloramphenicol acetyltransferase (S61G, Y105C) increase accumulated amounts and resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS microbiology letters*, 236 (2): 197-204. doi: 10.1111/j.1574-6968.2004.tb09647.x.
- Wang, S., Xu, X., Liu, X., Wang, D., Liang, H., Wu, X., Tian, M., Ding, C., Wang, G. & Yu, S. (2017). *Escherichia coli* type III secretion system 2 regulator EtrA promotes virulence of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Microbiology*, 163 (10): 1515-1524. doi: 10.1099/mic.0.000525.
- White, P. A., Stokes, H., Bunny, K. L. & Hall, R. M. (1999). Characterisation of a chloramphenicol acetyltransferase determinant found in the chromosome of *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS microbiology letters*, 175 (1): 27-35. doi: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13598.x.
- Whiteley, M., Banger, M. G., Bumgarner, R. E., Parsek, M. R., Teitzel, G. M., Lory, S. & Greenberg, E. (2001). Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nature*, 413 (6858): 860-864. doi: 10.1038/35101627.
- World Health Organization. (2017). *WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed*. Tilgjengelig fra: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> (lest 16.06.2023).
- Worthington, R. J. & Melander, C. (2013). Combination approaches to combat multidrug-resistant bacteria. *Trends in biotechnology*, 31 (3): 177-184.
- Wright, A. J. (1999). *The penicillins*. Mayo Clinic Proceedings: Elsevier.
- Wu, J. & Rosen, B. (1993). Metalloregulated expression of the *ars* operon. *Journal of Biological Chemistry*, 268 (1): 52-58. doi: 10.1016/S0021-9258(18)54113-2.

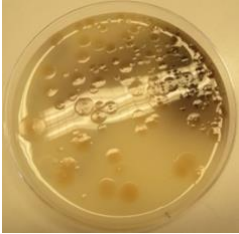

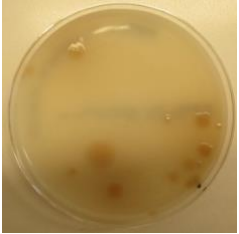

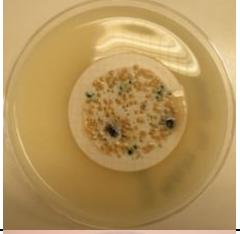
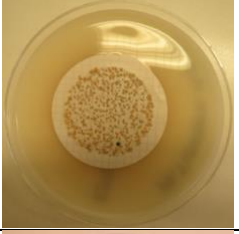


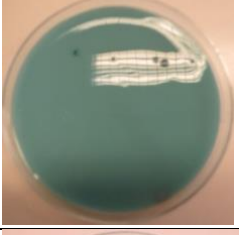
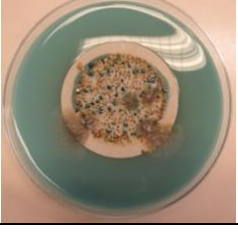


- Wurpel, D. J., Beatson, S. A., Totsika, M., Petty, N. K. & Schembri, M. A. (2013). Chaperone-usher fimbriae of *Escherichia coli*. *PloS one*, 8 (1): e52835. doi: 10.1371/journal.pone.0052835.
- Wurpel, D. J., Totsika, M., Allsopp, L. P., Hartley-Tassell, L. E., Day, C. J., Peters, K. M., Sarkar, S., Ulett, G. C., Yang, J. & Tiralongo, J. (2014). F9 fimbriae of uropathogenic *Escherichia coli* are expressed at low temperature and recognise Gal β 1-3GlcNAc-containing glycans. *PloS one*, 9 (3): e93177. doi: 10.1371/journal.pone.0093177.
- Wyres, K. L., Conway, T. C., Garg, S., Queiroz, C., Reumann, M., Holt, K. & Rusu, L. I. (2014). WGS analysis and interpretation in clinical and public health microbiology laboratories: what are the requirements and how do existing tools compare? *Pathogens*, 3 (2): 437-458. doi: 10.3390/pathogens3020437.
- Xu, J., Guo, L., Zhao, N., Meng, X., Zhang, J., Wang, T., Wei, X. & Fan, M. (2023). Response mechanisms to acid stress of acid-resistant bacteria and biotechnological applications in the food industry. *Critical Reviews in Biotechnology*, 43 (2): 258-274. doi: 10.1080/07388551.2021.2025335.
- Xu, Y., Bai, X., Jin, Y., Hu, B., Wang, H., Sun, H., Fan, R., Fu, S. & Xiong, Y. (2017). High prevalence of virulence genes in specific genotypes of atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7: 109. doi: 10.3389/fcimb.2017.00109.
- Yamamoto, S., Nakano, M., Terai, A., Yuri, K., Nakata, K., NAIR, G. B., Kurazono, H. & OGAWA, O. (2001). The presence of the virulence island containing the *usp* gene in uropathogenic *Escherichia coli* is associated with urinary tract infection in an experimental mouse model. *The Journal of urology*, 165 (4): 1347-1351. doi: 10.1016/S0022-5347(01)69897-5.
- Yang, K., Wang, A., Fu, M., Wang, A., Chen, K., Jia, Q. & Huang, Z. (2020). Investigation of incidents and trends of antimicrobial resistance in foodborne pathogens in eight countries from historical sample data. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17 (2): 472. doi: 10.3390/ijerph17020472.
- Yang, X. & Wang, H. (2014). *ESCHERICHIA COLI*| Pathogenic *E. coli* (Introduction).
- Yazdanpour, Z., Tadjrobehkar, O. & Shakhah, M. (2020). Significant association between genes encoding virulence factors with antibiotic resistance and phylogenetic groups in community acquired uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *BMC microbiology*, 20 (1): 1-9. doi: 10.1186/s12866-020-01933-1.
- Yoon, S. & Lee, Y. J. (2022). Molecular characteristics of ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from chickens with colibacillosis. *Journal of Veterinary Science*, 23 (3). doi: 10.4142/jvs.21105.
- Yu, L., Li, W., Li, Q., Chen, X., Ni, J., Shang, F. & Xue, T. (2020). Role of LsrR in the regulation of antibiotic sensitivity in avian pathogenic *Escherichia coli*. *Poultry science*, 99 (7): 3675-3687. doi: 10.1016/j.psj.2020.03.064.
- Zaidi, S.-e.-Z., Zaheer, R., Thomas, K., Abeysekara, S., Haight, T., Saville, L., Stuart-Edwards, M., Zovoilis, A. & McAllister, T. A. (2023). Genomic Characterization of Carbapenem-Resistant Bacteria from Beef Cattle Feedlots. *Antibiotics*, 12 (6): 960. doi: 10.3390/antibiotics12060960.
- Zeng, L. & Jin, S. (2003). *aph* (3')-IIb, a gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, is under the positive control of surrogate regulator HpaA. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47 (12): 3867-3876.
- Zhanel, G. G., Hisanaga, T. L., Laing, N. M., DeCorby, M. R., Nichol, K. A., Palatnick, L. P., Johnson, J., Noreddin, A., Harding, G. K. & Nicolle, L. E. (2005). Antibiotic resistance in outpatient urinary isolates: final results from the North American Urinary

- Tract Infection Collaborative Alliance (NAUTICA). *International journal of antimicrobial agents*, 26 (5): 380-388. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2006.02.009.
- Zhang, C., Feng, Y., Liu, F., Jiang, H., Qu, Z., Lei, M., Wang, J., Zhang, B., Hu, Y. & Ding, J. (2017). A phage-like IncY plasmid carrying the mcr-1 gene in Escherichia coli from a pig farm in China. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61 (3): e02035-16. doi: 10.1128/aac.02035-16.
- Zhang, R., Eggleston, K., Rotimi, V. & Zeckhauser, R. J. (2006). Antibiotic resistance as a global threat: evidence from China, Kuwait and the United States. *Globalization and health*, 2: 1-14.
- Zhou, M., Li, Y., Che, H., Sun, Y., Wang, S., Zhan, Y., Cai, D. & Chen, S. (2023). Metabolic Engineering of Bacillus licheniformis for the Bioproduction of Nicotinamide Riboside from Nicotinamide and Glucose. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 11 (16): 6201-6210. doi: 10.1021/acssuschemeng.2c07271.
- Zhou, Z. D. & Tan, E.-K. (2017). Iron regulatory protein (IRP)-iron responsive element (IRE) signaling pathway in human neurodegenerative diseases. *Molecular neurodegeneration*, 12 (1): 1-12. doi: 10.1186/s13024-017-0218-4.
- Zhuge, X., Tang, F., Zhu, H., Mao, X., Wang, S., Wu, Z., Lu, C., Dai, J. & Fan, H. (2016). AutA and AutR, two novel global transcriptional regulators, facilitate avian pathogenic Escherichia coli infection. *Scientific Reports*, 6 (1): 25085. doi: 10.1038/srep25085.

Vedlegg

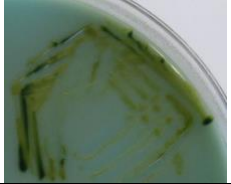

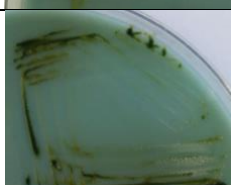
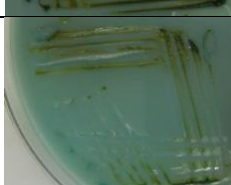
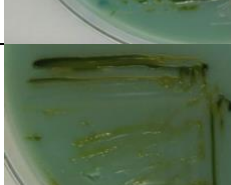
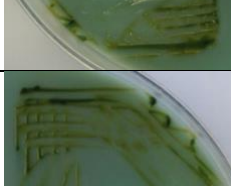

Vedlegg 1. Oppdyrking av vannprøver






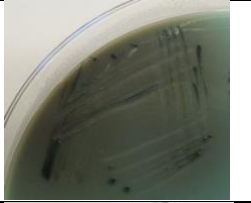
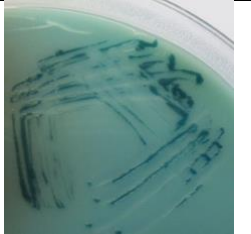
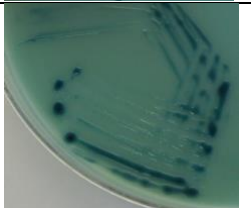
Tabell 46. Oppdyrking av vannprøver.

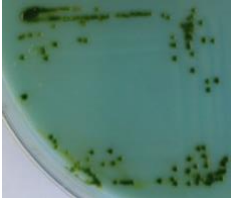
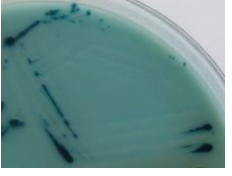
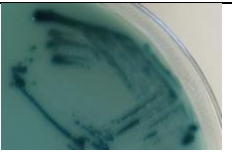
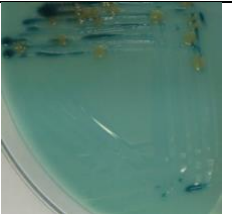
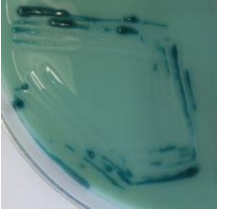
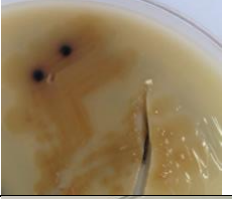


	Vannprøve M1 fra Mjøsa	Vannprøve F1 fra Fossbekken	Vannprøve T1 fra Tussetjern
1000 μ L vannprøve strøket utover Oxoid Brilliance™ ESBL Agar			
Oxoid Brilliance™ ESBL Agar med filter			
1000 μ L vannprøve strøket over på Oxoid Brilliance™ CRE Agar			
Oxoid Brilliance™ CRE Agar med filter			

Vedlegg 2. Rendyrking av bakterier

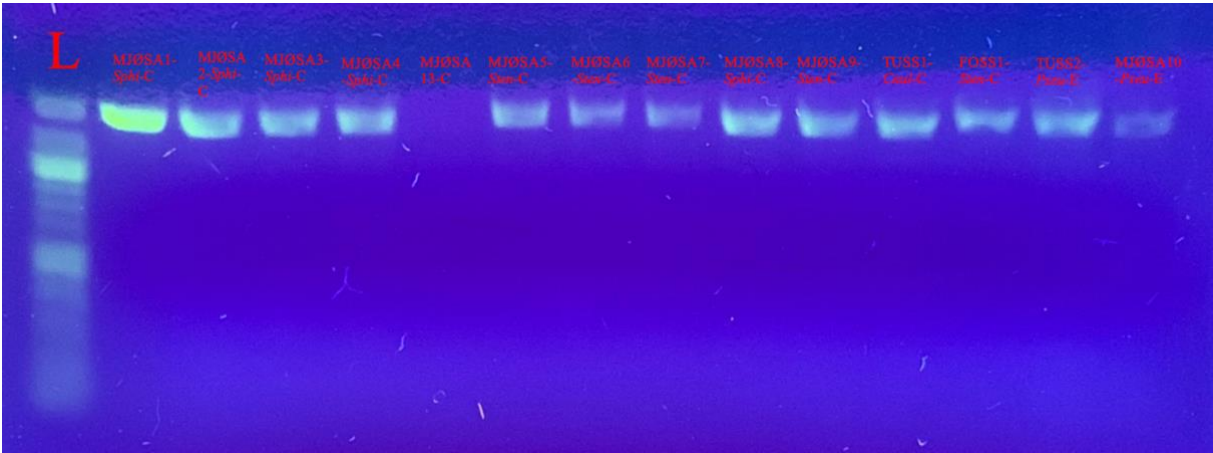
Tabell 47. Resultater fra rendyrking av vannprøve M1, F1 og T1 på Brilliance™ ESBL Agar og Brilliance™ CRE Agar.

Prøve	Vannprøve	Petriskål	Kolonifarge	Antatt bakterie	16S rRNA BLAST-resultat
MJØSA1-Sphi-C	M1		Grønn	Ikke angitt av produsent	<i>Sphingomonas</i> spp.
MJØSA2-Sphi-C	M1		Grønn	Ikke angitt av produsent	<i>Sphingomonas</i> spp.
MJØSA3-Sphi-C	M1		Grønn	Ikke angitt av produsent	<i>Sphingomonas</i> spp.
MJØSA4-Sphi-C	M1		Grønn	Ikke angitt av produsent	<i>Sphingomonas</i> spp.
MJØSA8-Sphi-C	M1		Grønn	Ikke angitt av produsent	<i>Sphingomonas</i> spp.
MJØSA9-Sphi-C	M1		Grønn	Ikke angitt av produsent	<i>Sphingomonas</i> spp.
TUSS1-Caul-C	T1		Mørkeblå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Caulobacter segnis</i>

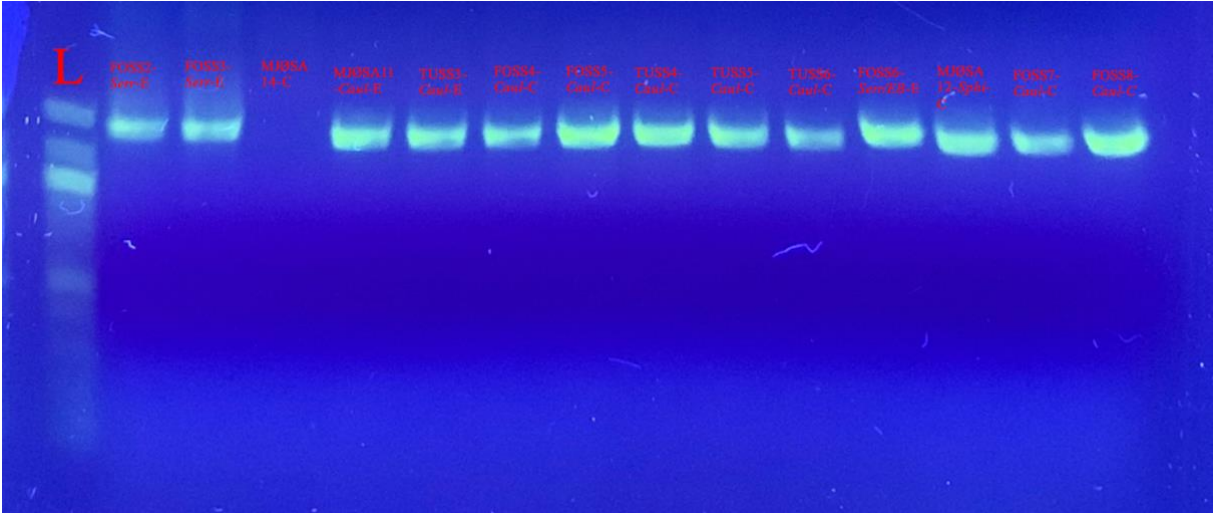
TUSS2- <i>Pseu</i> -E	T1		Gul	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Pseudomonas protegens</i>
MJØSA11- <i>Caul</i> -E	M1		Eggehvit	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Caulobacter</i> spp.
TUSS3- <i>Caul</i> -E	T1		Blå og gul	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Caulobacter vibrioides</i>
FOSS4- <i>Caul</i> -C	F1		Blå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Caulobacter</i> spp.
FOSS5- <i>Caul</i> -C	F1		Hvit	<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Caulobacter segnis</i>
TUSS4- <i>Caul</i> -C	T1		Mørkeblå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Caulobacter</i> spp.
TUSS5- <i>Caul</i> -C	T1		Mørkeblå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Caulobacter segnis</i>
TUSS6- <i>Caul</i> -C	T1		Mørkeblå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Caulobacter segnis</i>

MJØSA12- <i>Sphi</i> -C	Mjøsa		Grønn	Ikke angitt av produsent	<i>Sphingomonas</i> spp.
FOSS7- <i>Caul</i> -C	F1		Mørkeblå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Caulobacter segnis</i>
FOSS8- <i>Caul</i> -C	F1		Mørkeblå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Caulobacter segnis</i>
TUSS7- <i>Caul</i> -C	T1		Gulgrønn og blå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Caulobacter</i> spp.
TUSS8- <i>Caul</i> -C	T1		Blå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	<i>Caulobacter</i> spp.
FOSS11- <i>Pseu</i> -E	F1		Gul	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Pseudomonas monteilii</i>
MJØSA13-C	M1		Mørkeblå	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. eller <i>Citrobacter</i> spp.	Ikke analysert
MJØSA14-C	M1		Brungul	<i>Pseudomonas</i> spp.	Ikke analysert

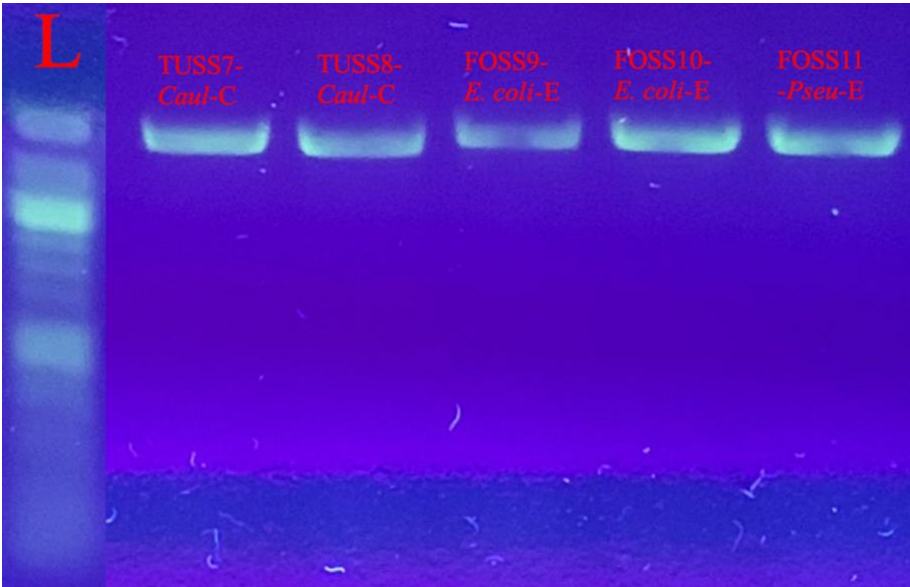
Vedlegg 3. Bilder av gelelektroforese av 16S rRNA PCR-produkter



Figur 10. Gelbilde av 16S rRNA PCR-produkter



Figur 11. Gelbilde av 16S rRNA PCR-produkter



Figur 12. Gelbilde av 16S rRNA PCR-produkter

Vedlegg 4: Resultater fra Sanger-sekvensering og blasting

Tabell 48. Resultat fra sekvensering og blasting

Prøve	Vann prøve	DNA-konsentrasjon ved innsending (ng/μL)	Bakterieidentitet i BLASTn	Identitetsscore (%)
MJØSA1- <i>Sphi-C</i>	M1	101,1	<i>Sphingomonas sp.</i> stamme RMUTT2S3-2	99,85
MJØSA2- <i>Sphi-C</i>	M1	74,0	<i>Sphingomonas sp.</i> Stamme RMUTT2S3-2	100
MJØSA3- <i>Sphi-C</i>	M1	116,0	<i>Sphingomonas sp.</i> stamme RMUTT2S3-2	99,92
MJØSA4- <i>Sphi-C</i>	M1	194,4	<i>Sphingomonas sp.</i> stamme RMUTT2S3-2	99,92
MJØSA5- <i>Sten-C</i>	M1	447,5	<i>Stenotrophomonas sp.</i> stamme Y	99,85
MJØSA6- <i>Sten-C</i>	M1	618,9	<i>Stenotrophomonas sp.</i> stamme Y	99,93
MJØSA7- <i>Sten-C</i>	M1	437,8	<i>Stenotrophomonas sp.</i> stamme Y	100
MJØSA8- <i>Sphi-C</i>	M1	213,9	<i>Sphingomonas sp.</i> stamme RMUTT2S3-2	99,85
MJØSA9- <i>Sphi-C</i>	M1	196,9	<i>Sphingomonas sp.</i> stamme RMUTT2S3-2	99,85
TUSS1- <i>Caul-C</i>	T1	211,9	<i>Caulobacter seignis</i> stamme DSB_C4	99,92
FOSS1- <i>Sten-C</i>	F1	432,6	<i>Stenotrophomonas sp.</i> stamme LSB20	100
TUSS2- <i>Pseu-E</i>	T1	263,9	<i>Pseudomonas protegens</i> stamme L21	99,93

MJØSA10- <i>Pseu-E</i>	M1	868,6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> stamme GZ7	100
FOSS2- <i>Serratia-E</i>	F1	955,5	<i>Serratia sp.</i> 3ACOL1 chromosome	99,78
FOSS3- <i>Serratia-E</i>	F1	470,7	<i>Serratia sp.</i> stamme P541	99,78
MJØSA11- <i>Caul-E</i>	M1	147,3	<i>Caulobacter sp.</i> stamme 602-1	99,87
TUSS3- <i>Caul-E</i>	T1	344,7	<i>Caulobacter vibrioides</i> stamme P6-H3	100
FOSS4- <i>Caul-C</i>	F1	409,7	<i>Caulobacter sp.</i> stamme AFS010273	100
FOSS5- <i>Caul-C</i>	F1	58,0	<i>Caulobacter segnis</i> stamme DSB_C4	100
TUSS4- <i>Caul-C</i>	T1	118,1	<i>Caulobacter sp.</i> stamme FWC35	99,78
TUSS5- <i>Caul-C</i>	T1	144,1	<i>Caulobacter segnis</i> stamme DSB_C4	99,85
TUSS6- <i>Caul-C</i>	T1	64,9	<i>Caulobacter segnis</i> stamme ATCC 21756	99,55
FOSS6- <i>Serratia/EB</i> -E	F1	29,6	<i>Serratia sp.</i> 3ACOL1 chromosome <i>Enterobacteriaceae bacterium</i> stamme 27 <i>Serratia fonticola</i> stamme DSM 4576	99,85 99,85 99,85
MJØSA12- <i>Sphi-C</i>	M1	244,5	<i>Sphingomonas sp.</i> stamme RMUTT2S3-2	99,77
FOSS7- <i>Caul-C</i>	F1	484,4	<i>Caulobacter segnis</i> stamme DSB_C4	99,46
FOSS8- <i>Caul-C</i>	F1	41,6	<i>Caulobacter segnis</i> stamme DSB_C4	99,92

TUSS7- <i>Caul-C</i>	T1	142,7	<i>Caulobacter sp.</i> FWC26 chromosome	100
TUSS8- <i>Caul-C</i>	T1	225,3	<i>Caulobacter sp.</i> FWC26 chromosome	99,92
FOSS9- <i>E.</i> <i>coli-E</i>	F1	54,7	<i>Escherichia coli</i> Stamme 18	99,85
FOSS10- <i>E.</i> <i>coli-E</i>	F1	35,9	<i>Escherichia coli</i> Stamme 2022CK-00557	99,85
FOSS11- <i>Pseu-E</i>	F1	110,2	<i>Pseudomonas monteilii</i> Stamme JM10	100

Vedlegg 5. Fortynning av ESBL- og virulensprimere

Tabell 49. Tillaging av 100 μ M stockløsning ved fortynning av ESBL-primere.

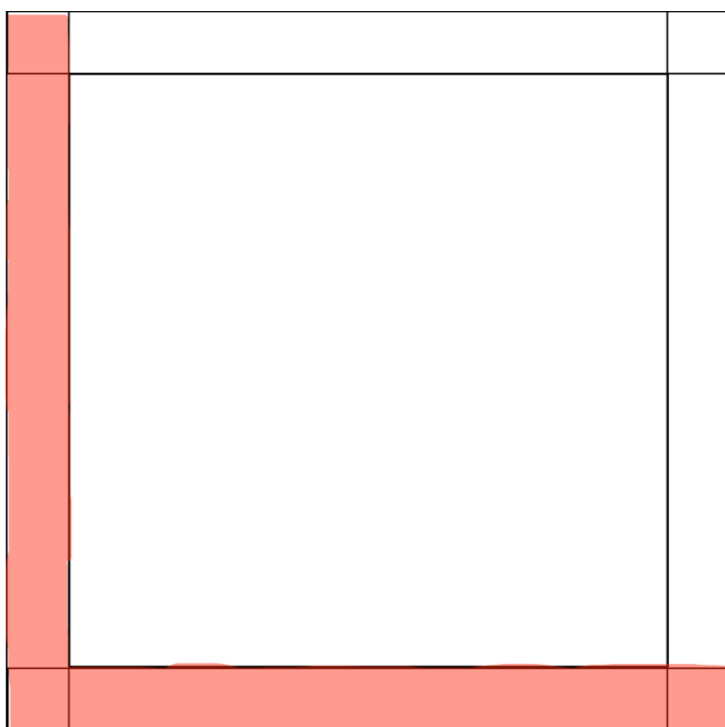
Primer	Mengde primer (nmol)	Volum vann (μ l)
blaCTX-M9-R	38,8	388
blaCTX-M9-F	39,9	399
blaTEM-R	34,2	342
blaTEM-F	40,7	407
blaCTX-M1-R	41,3	413
blaCTX-M1-F	38,2	382
blaSHV-R	33,5	335
blaSHV-F	30,8	308
blaOXA-R	36,0	360
blaOXA-F	38,8	388
blaCTX-M2-R	41,7	417
blaCTX-M2-F	33,9	339
blaIMP-R	40,0	400
blaIMP-F	34,0	340
blaOXA-48-R	34,3	343
blaOXA-48-F	30,9	309
blaKPC-R	31,7	317
blaKPC-F	32,0	320
blaVIM-R	31,7	317
blaVIM-F	35,6	356
16S-R	40,7	407
16S-F	41,1	411
blaCMY-R	36,0	360
blaCMY-F	33,2	332
blaNDM-R	36,5	365
blaNDM-F	39,1	391
rpoB-R	37,2	372
rpoB-F	28,4	284
CTX-M8M25-R	35,4	354

CTX-M8M25-F	31,4	314
-------------	------	-----

Tabell 50. Tillaging av 100 μ M stockløsning ved fortynning av virulens-primere.

Primer	Mengde primer (nmol)	Volum vann (μ l)
Stx1-R	32,8	328
Stx1-F	30,1	301
Stx2-R	26,9	269
Stx2-F	20,6	206
eaeA-R	25,0	250
eaeA-F	18,0	180
STIb-R	22,4	224
STIb-F	33,3	333
LTI-R	25,6	256
LTI-F	22,0	220
ipaH-R	21,5	215
ipaH-F	31,8	318
aggR-R	26,5	265
aggR-F	25,7	257

Vedlegg 6. Illustrasjon av tellekammer



Figur 13. Skisse av tellekammer benyttet ved sensitivitetstesting

Vedlegg 7. Konsentrasjonen og renheten til de ekstraherte DNA-prøvene

Tabell 51. Konsentrasjonen og renheten til de ekstraherte DNA-prøvene.

Prøve	Vannprøve	Konsentrasjon (ng/µl)	A ₂₆₀ /A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₃₀
MJØSA1- <i>Sphi-C</i>	M1	101,1	1,94	1,88
MJØSA2- <i>Sphi-C</i>	M1	74,0	1,95	1,70
MJØSA3- <i>Sphi-C</i>	M1	116,0	1,94	1,96
MJØSA4- <i>Sphi-C</i>	M1	194,4	1,92	1,70
MJØSA5- <i>Sten-C</i>	M1	447,5	1,93	2,03
MJØSA6- <i>Sten-C</i>	M1	618,9	1,91	2,05
MJØSA7- <i>Sten-C</i>	M1	437,8	1,93	2,06
MJØSA8- <i>Sphi-C</i>	M1	213,9	1,93	2,01
MJØSA9- <i>Sphi-C</i>	M1	196,9	1,94	2,00
TUSS1- <i>Caul-C</i>	T1	211,9	1,94	1,85
FOSS1- <i>Sten-C</i>	F1	432,6	1,93	2,06
TUSS2- <i>Pseu-E</i>	T1	263,9	1,93	2,10
MJØSA10- <i>Pseu-E</i>	M1	868,6	1,91	2,12
FOSS2- <i>Serr-E</i>	F1	955,5	1,88	2,15
FOSS3- <i>Serr-E</i>	F1	470,7	1,90	1,91
MJØSA11- <i>Caul-E</i>	M1	147,3	2,19	0,90
TUSS3- <i>Caul-E</i>	T1	344,7	2,03	1,51
FOSS4- <i>Caul-C</i>	F1	409,7	2,01	1,28
FOSS5- <i>Caul-C</i>	F1	58,0	2,87	0,46
TUSS4- <i>Caul-C</i>	T1	118,1	2,27	0,87
TUSS5- <i>Caul-C</i>	T1	144,1	2,20	0,75
TUSS6- <i>Caul-C</i>	T1	64,9	2,78	0,31
FOSS6- <i>Serr/EB-E</i>	F1	29,6	5,65	0,22
MJØSA12- <i>Sphi-C</i>	M1	244,5	2,08	1,24
FOSS7- <i>Caul-C</i>	F1	484,4	2,00	0,54
FOSS8- <i>Caul-C</i>	F1	41,6	3,58	0,48
TUSS7- <i>Caul-C</i>	T1	142,7	2,15	0,48
TUSS8- <i>Caul-C</i>	T1	225,3	2,10	0,41
FOSS9- <i>E. coli-E</i>	F1	54,7	1,97	1,89
FOSS10- <i>E. coli-E</i>	F1	35,9	1,98	1,31
FOSS11- <i>Pseu-E</i>	F1	110,2	1,93	2,04

Vedlegg 78. Konsentrasjonen og renheten til de rensede PCR-produktene

Tabell 52. Konsentrasjonen og renheten til de rensede PCR-produktene.

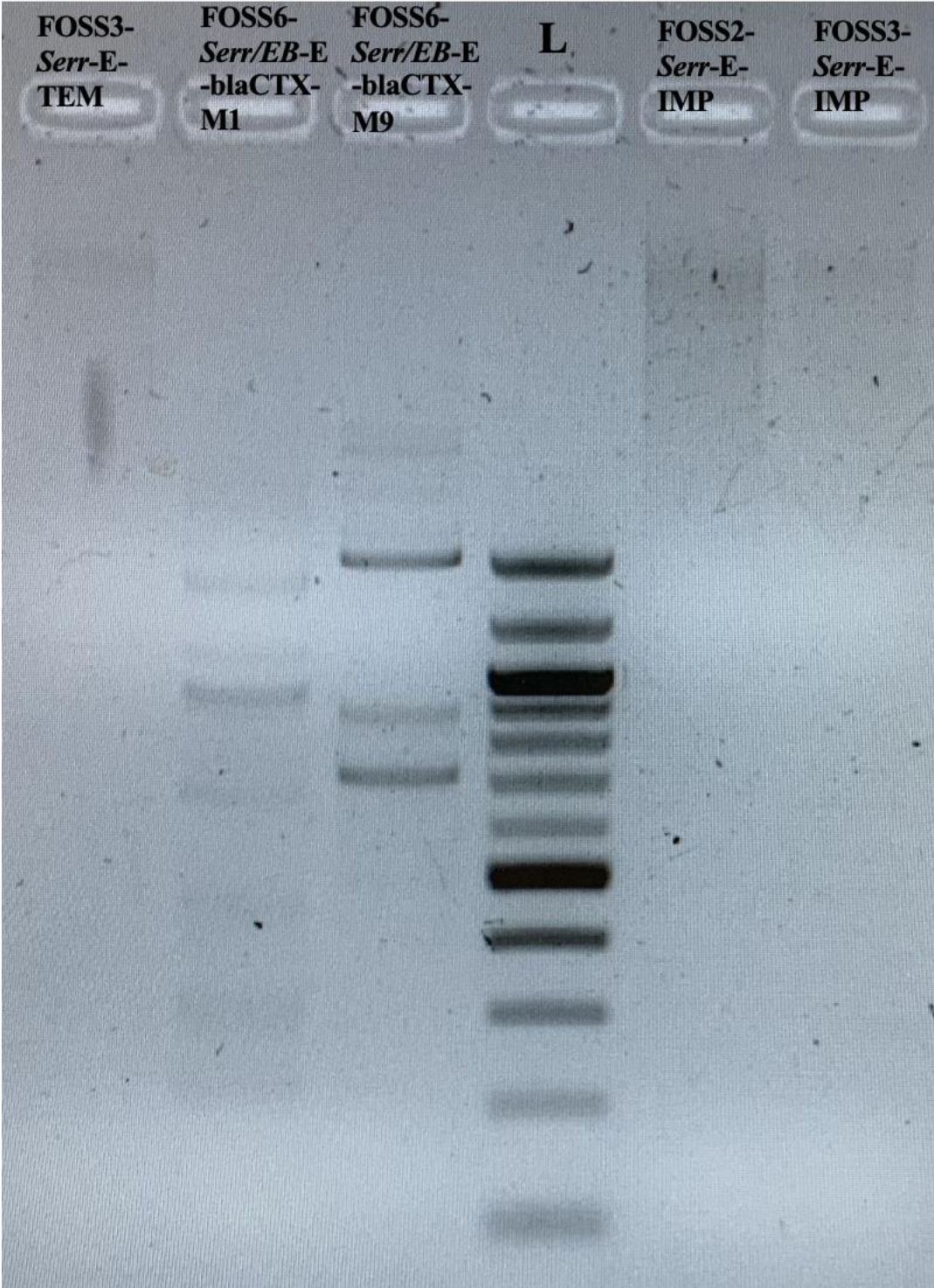
Prøve	Vannprøve	Konsentrasjon (ng/µl)	A ₂₆₀ /A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₃₀
MJØSA1- <i>Sphi</i> -C	M1	55,3	2,06	0,72
MJØSA2- <i>Sphi</i> -C	M1	41,0	21,6	0,24
MJØSA3- <i>Sphi</i> -C	M1	41,5	2,21	0,37
MJØSA4- <i>Sphi</i> -C	M1	36,9	2,34	0,19
MJØSA5- <i>Sten</i> -C	M1	34,8	2,27	0,30
MJØSA6- <i>Sten</i> -C	M1	46,4	2,57	0,32
MJØSA7- <i>Sten</i> -C	M1	17,4	3,06	0,20
MJØSA8- <i>Sphi</i> -C	M1	58,1	2,05	0,87
MJØSA9- <i>Sphi</i> -C	M1	61,2	2,10	0,84
TUSS1- <i>Caul</i> -C	T1	49,9	2,12	0,28
FOSS1- <i>Sten</i> -C	F1	47,6	2,13	0,47
TUSS2- <i>Pseu</i> -E	T1	44,2	2,17	0,46
MJØSA10- <i>Pseu</i> -E	M1	33,3	2,28	0,72
FOSS2- <i>Serr</i> -E	F1	52,2	2,12	0,56
FOSS3- <i>Serr</i> -E	F1	41,9	2,18	0,83
MJØSA11- <i>Caul</i> -E	M1	49,4	2,17	0,41
TUSS3- <i>Caul</i> -E	T1	46,3	2,19	0,41
FOSS4- <i>Caul</i> -C	F1	34,1	2,25	1,24
FOSS5- <i>Caul</i> -C	F1	33,5	2,32	1,31
TUSS4- <i>Caul</i> -C	T1	48,6	2,20	0,42
TUSS5- <i>Caul</i> -C	T1	52,6	2,16	0,42
TUSS6- <i>Caul</i> -C	T1	27,1	2,40	0,24
FOSS6- <i>Serr</i> / <i>EB</i> -E	F1	47,7	2,27	0,37
MJØSA12- <i>Sphi</i> -C	M1	65,4	2,17	0,52
FOSS7- <i>Caul</i> -C	F1	47,6	2,25	0,35
FOSS8- <i>Caul</i> -C	F1	49,7	2,19	0,32
TUSS7- <i>Caul</i> -C	T1	60,9	2,14	0,89
TUSS8- <i>Caul</i> -C	T1	59,9	2,24	0,40
FOSS9- <i>E. coli</i> -E	F1	43,1	2,23	0,55
FOSS10- <i>E. coli</i> -E	F1	54,9	2,20	0,42
FOSS11- <i>Pseu</i> -E	F1	43,0	2,22	0,25

Vedlegg 9. Konsentrasjonen og renheten til de rensede ESBL singlepleks PCR-produktene

Tabell 53. Konsentrasjonen og renheten til de rensede ESBL singlepleks PCR-produktene

Prøve	Vannprøve	Konsentrasjon (ng/μl)	A₂₆₀/A₂₈₀	A₂₆₀/A₂₃₀
FOSS9- <i>E. coli</i> -E - blaCTX-M1	F1	42,3	1,86	0,38
FOSS10- <i>E. coli</i> -E - blaCTX-M1	F1	47,3	1,84	0,37
FOSS9- <i>E. coli</i> -E - TEM	F1	54,8	1,88	0,47
FOSS10- <i>E. coli</i> -E - TEM	F1	55,7	1,88	0,58

Vedlegg 10. Gelbilde av ESBL singlepleks PCR-produkter



Figur 14. Gelbilde av ESBL singlepleks PCR-produkter

Vedlegg 11. Resultater fra MIC-testing

Tabell 54. Resultater fra MIC-test samt gjennomsnittsverdi

Antibiotikum	FOSS2-Serr-E			MJØSA10-Pseu-E			FOSS9-E. coli-E		
	Parallell 1	Parallell 2	Gj.snitt	Parallell 1	Parallell 2	Gj.snitt	Parallell 1	Parallell 2	Gj.snitt
Penicillin G	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256
Ampicillin	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256
Cefepime	2	3	2,5	1	1	1	> 32	> 32	> 32
Cefotaxime	> 256	> 256	> 256	12	16	14	> 256	> 256	> 256
Ciprofloxacin	0.094	0.094	0.094	0.75	0.25	0.5	0.75	1.5	1.125
Erythromycin	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256
Meropenem	0.125	0.125	0.125	0.50	–	0.50	0.19	0.023	0.1065
Nitrofurantoin	48	64	56	> 512	> 512	> 512	12	12	12
Tetracycline	0.75	0.75	0.75	> 256	> 256	> 256	1.5	1.5	1.5

Vedlegg 12. Resultater fra CARD for prøve FOSS9-*E. coli*- E.

Tabell 55. Viktige resistensgener funnet hos prøve FOSS9-*E. coli*-E ved hjelp av «The Comprehensive Antibiotic Resistance Database» (Fuentes-Castillo et al.).

Resistensgen	Prosent identitet (%)	Coverage	Coverage (%)	Kommentar	Resistent mot	Accession
blaCTX-M-15	100.00	1-1233/1233	100.00	CTX-M-15 is a β -lactamase found in the Enterobacteriaceae family	Cephalosporin	AY044436:1435-2311
blaTEM-1	99.88	1-1749/1749	100.00	TEM-1 is a broad-spectrum β -lactamase found in many Gram-negative bacteria. Confers resistance to penicillins and first generation cephalosporins.	Cephalosporin, monobactam, penam, penem	AL513383:161910-162771
Escherichia_coli_mdfA	96.27	1-1227/1227	100.00	Multidrug efflux pump in <i>E. coli</i> . This multidrug efflux system was originally identified as the Cmr/CmlA chloramphenicol exporter.	Benzalkonium, chloride, rhodamine, tetracycline	JQ394987:0-1233
msbA	98.06	1-1209/1209	100.00	MsbA is a multidrug resistance transporter homolog from <i>E. coli</i> and belongs to a superfamily of transporters that contain an adenosine triphosphate (ATP) binding cassette (ABC) which is also called a nucleotide-binding domain (NBD). MsbA is a member of the MDR-ABC transporter group by sequence homology. MsbA transports lipid A a major component of the bacterial outer cell membrane and is the only bacterial ABC transporter that is essential for cell viability.	Nitroimidazole	U00096.3:966620-968369
mdtG	98.37	1-333/333	100.00	The MdtG protein also named YceE appears to be a member of the major	Fosfomycin	CP000800.1:1192954-1191727

				facilitator superfamily of transporters and it has been reported when overexpressed to increase fosfomycin and deoxycholate resistances. mdtG is a member of the marA-soxS-rob regulon.		
mdtH	98.35	1-384/384	100.00	Multidrug resistance protein MdtH	Fluoroquinolone	U00096:1125326-1124117
Escherichia_coli_emrE	92.19	1-1158/1158	100.00	Member of the small MDR (multidrug resistance) family of transporters, in Escherichia coli this protein provides resistance against a number of positively charged compounds including ethidium bromide and erythromycin, proton-dependent secondary transporter which exchanges protons for compound translocation	Macrolide	Z11877.1:485-818
marA	98.96	1-3150/3150	100.00	In the presence of antibiotic stress E. coli overexpresses the global activator protein MarA which besides inducing MDR efflux pump AcrAB also down- regulates synthesis of the porin OmpF.	Carbapenem, cephalosporin, cephamycin, fluoroquinolone, glycylyccline, monobactam, penam, penem, phenicol, rifamycin, tetracycline, triclosan	AP009048.1:1621287-1621671
Escherichia_coli_ampH	97.06	1-1194/1194	100.00	AmpH is a class C ampC-like β -lactamase and penicillin-binding protein identified in Escherichia coli.	Cephalosporin, penam	AP012030.1:396711-395553
acrB	98.76	1-673/678	99.26	Protein subunit of AcrA-AcrB-TolC multidrug efflux complex. AcrB functions as a hereterotrimer which forms the inner membrane component and is primarily	Cephalosporin, fluoroquinolone, glycylyccline, penam, phenicol, rifamycin, tetracycline, triclosan	U00096.3:484403-481253

				responsible for substrate recognition and energy transduction by acting as a drug/proton antiporter.		
Escherichia_coli_acrA	99.08	1-1488/1488	100.00	AcrA is a subunit of the AcrAB-TolC multidrug efflux system that in E. coli.	Cephalosporin, fluoroquinolone, glycylicline, penam, phenicol, rifamycin, tetracycline, triclosan	U00096.3:485619-484425
kdpE	95.54	1-820/822	99.76	kdpE is a transcriptional activator that is part of the two-component system KdpD/KdpE that is studied for its regulatory role in potassium transport and has been identified as an adaptive regulator involved in the virulence and intracellular survival of pathogenic bacteria. kdpE regulates a range of virulence loci through direct promoter binding.	Aminoglykosid	U00096.3:721733-721055
tolC	98.19	1-663/663	100.00	TolC is a protein subunit of many multidrug efflux complexes in Gram negative bacteria. It is an outer membrane efflux protein and is constitutively open. Regulation of efflux activity is often at its periplasmic entrance by other components of the efflux complex.	Aminocoumarin, aminoglykosid, carbapenem, cephalosporin, cephamycin, fluoroquinolone, glycylicline, macrolide, penam, penem, peptide, phenicol, rifamycin,tetracycline, triclosan	FJ768952:0-1488
bacA	98.29	1-1158/1158	100.00	The bacA gene product (BacA) recycles undecaprenyl pyrophosphate during cell wall biosynthesis which confers resistance to bacitracin.	Peptide	U00096.3:3204131-3203309
acrS	98.34	1-3105/3105	100.00	AcrS is a repressor of the AcrAB efflux complex and is associated with	Cephalosporin, cephamycin,	U00096:3413465-3412802

				the expression of AcrEF. AcrS is believed to regulate a switch between AcrAB and AcrEF efflux.	fluoroquinolone, glycylicline, penam, phenicol, rifamycin, tetracycline, triclosan	
acrE	98.79	1-414/414	100.00	AcrE is a membrane fusion protein similar to AcrA.	Cephalosporin, cephamycin, fluoroquinolone, penam	U00096:3413863-3415021
acrF	96.55	1-1539/1539	99.68	AcrF is a inner membrane transporter similar to AcrB.	Cephalosporin, cephamycin, fluoroquinolone, penam	U00096:3415032-3418137
H-NS	99.28	1-1056/1056	100.00	H-NS is a histone-like protein involved in global gene regulation in Gram-negative bacteria. It is a repressor of the membrane fusion protein genes <i>acrE</i> <i>mdtE</i> and <i>emrK</i> as well as nearby genes of many RND-type multidrug exporters.	Cephalosporin, cephamycin, fluoroquinolone, macrolide, penam, tetracycline	BA000007.3:1738104-1737690
emrY	97.34	1-615/615	100.00	<i>emrY</i> is a multidrug transport that moves substrates across the inner membrane of the Gram-negative <i>E. coli</i> . It is a homolog of <i>emrB</i> .	Tetracycline	D78168:1591-3130
emrK	97.73	1-3594/3594	100.00	<i>emrK</i> is a membrane fusion protein that is a homolog of <i>EmrA</i> . Together with the inner membrane transporter <i>EmrY</i> and the outer membrane channel <i>TolC</i> it mediates multidrug efflux.	Tetracycline	D78168:536-1592
evgA	99.02	1-3114/3114	100.00	<i>EvgA</i> when phosphorylated is a positive regulator for efflux protein complexes <i>emrKY</i> and <i>mdtEF</i> . While usually phosphorylated in a <i>EvgS</i> dependent manner it can be	Fluoroquinolone, macrolide, penam, tetracycline	BA000007.3:3212025-3212640

				phosphorylated in the absence of EvgS when overexpressed.		
evgS	96.30	1-633/633	100.00	EvgS is a sensor protein that phosphorylates the regulatory protein EvgA. evgS corresponds to 1 locus in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1 and 1 locus in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LESB58.	Fluoroquinolone, macrolide, penam, tetracycline	U00096:2484373-2487967
acrD	98.65	1-1158/1158	100.00	AcrD is an aminoglykosid efflux pump expressed in <i>E. coli</i> . Its expression can be induced by indole and is regulated by baeRS and cpxAR.	Aminoglykosid	AP009048.1:2586250-2589364
CRP	99.21	1-3114/3114	100.00	CRP is a global regulator that represses MdtEF multidrug efflux pump expression.	Fluoroquinolone, macrolide, penam	AP009048.1:4154296-4153663
mdtE	98.27	1-729/729	100.00	MdtE is the membrane fusion protein of the MdtEF multidrug efflux complex. It shares 70% sequence similarity with AcrA.	Fluoroquinolone, macrolide, penam	AP009048.1:3981183-3980025
mdtF	97.08	1-825/825	100.00	MdtF is the multidrug inner membrane transporter for the MdtEF-TolC efflux complex.	Fluoroquinolone, macrolide, penam	U00096:3660413-3663527
gadW	99.86	1-969/969	100.00	GadW is an AraC-family regulator that promotes mdtEF expression to confer multidrug resistance. GadW inhibits GadX-dependent activation. GadW clearly represses gadX and in situations where GadX is missing activates gadA and gadBC.	Fluoroquinolone, macrolide, penam	CP015085.1:2552440-2551711
gadX	93.70	1-1644/1644	100.00	GadX is an AraC-family regulator that promotes mdtEF expression to confer multidrug resistance.	Fluoroquinolone, macrolide, penam	AP009048.1:3974604-3975429
pmrF	97.63	1-1134/1134	100.00	PmrF is required for the synthesis and transfer of 4-amino-4-deoxy-L-	Peptide	U00096:2367070-2368039

				arabinose (Ara4N) to Lipid A which allows gram-negative bacteria to resist the antimicrobial activity of cationic antimicrobial peptides and antibiotics such as polymyxin. pmrF corresponds to 1 locus in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1 and 1 locus in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LESB58.		
yojI	97.32	1-1248/1248	100.00	YojI mediates resistance to the peptide antibiotic microcin J25 when it is expressed from a multicopy vector. YojI is capable of pumping out microcin molecules. The outer membrane protein TolC in addition to YojI is required for export of microcin J25 out of the cell. Microcin J25 is thus the first known substrate for YojI.	Peptide	U00096.3:2308615-2306971
Escherichia_coli_ampC	97.80	1-3123/3123	100.00	A class C ampC β -lactamase (cephalosporinase) enzyme described in <i>Escherichia coli</i> shown clinically to confer resistance to penicillin-like and cephalosporin-class antibiotics.	Cephalosporin, penam	U00096.3:4378944-4377810
mdtA	95.75	1-3078/3078	100.00	MdtA is the membrane fusion protein of the multidrug efflux complex mdtABC.	Aminocoumarin	U00096:2154015-2155263
mdtB	96.13	1-1404/1404	100.00	MdtB is a transporter that forms a heteromultimer complex with MdtC to form a multidrug transporter. MdtBC is part of the MdtABC-TolC efflux complex.	Aminocoumarin	U00096:2155262-2158385
mdtC	93.99	1-722/723	99.86	MdtC is a transporter that forms a heteromultimer complex with MdtB to form a multidrug transporter.	Aminocoumarin	U00096:2158385-2161463

				MdtBC is part of the MdtABC-TolC efflux complex. In the absence of MdtB MdtC can form a homomultimer complex that results in a functioning efflux complex with a narrower drug specificity. mdtC corresponds to 3 loci in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1 (gene name: muxC/muxB) and 3 loci in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LESB58.		
baeS	90.60	1-1374/1374	100.00	BaeS is a sensor kinase in the BaeSR regulatory system. While it phosphorylates BaeR to increase its activity BaeS is not necessary for overexpressed BaeR to confer resistance.	Aminocoumarin, aminoglykosid	AP009048:2165012-2166416
baeR	97.09	1-1032/1032	100.00	BaeR is a response regulator that promotes the expression of MdtABC and AcrD efflux complexes.	Aminocoumarin, aminoglykosid	AP009048.1:2166412-2167135
cpxA	98.40	1-2052/2052	100.00	CpxA is a membrane-localized sensor kinase that is activated by envelope stress. It starts a kinase cascade that activates CpxR which promotes efflux complex expression.	Aminocoumarin, aminoglykosid	BA000007.3:4905062-4903688
mdtN	96.32	1-1467/1467	100.00	Multidrug resistance efflux pump. Could be involved in resistance to puromycin acriflavine and tetraphenylarsonium chloride.	Acridine_dye, nucleoside	AP009048.1:4307588-4306556
mdtO	97.12	1-876/876	100.00	Multidrug resistance efflux pump. Could be involved in resistance to puromycin acriflavine and tetraphenylarsonium chloride	Acridine_dye, nucleoside	AP009048.1:4306557-4304505
mdtP	98.09	1-861/861	100.00	Multidrug resistance efflux pump. Could be involved in resistance to	Acridine_dye, nucleoside	AP009048.1:4304509-4303042

				puromycin acriflavine and tetraphenylarsonium chloride		
emrR	98.49	1-531/531	100.00	EmrR is a negative regulator for the EmrAB-TolC multidrug efflux pump in E. coli. Mutations lead to EmrAB-TolC overexpression.	Fluoroquinolone	U00096.3:2810769-2811300
emrA	98.04	1-1173/1173	100.00	EmrA is a membrane fusion protein providing an efflux pathway with EmrB and TolC between the inner and outer membranes of E. coli a Gram-negative bacterium.	Fluoroquinolone	AP009048:2810082-2811255
emrB	98.44	1-1539/1539	100.00	emrB is a translocase in the emrB - TolC efflux protein in E. coli. It recognizes substrates including carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP) nalidixic acid and thioloactomycin.	Fluoroquinolone	U00096:2812615-2814154
Escherichia_coli_emrE	98.80	1-333/333	100.00	Member of the small MDR (multidrug resistance) family of transporters, in Escherichia coli this protein provides resistance against a number of positively charged compounds including ethidium bromide and erythromycin, proton-dependent secondary transporter which exchanges protons for compound translocation	Macrolide	Z11877.1:485-818
eptA	91.30	1-1644/1644	100.00	PmrC mediates the modification of Lipid A by the addition of 4-amino-4-deoxy-L-arabinose (L-Ara4N) and phosphoethanolamine resulting in a less negative cell membrane and decreased binding of polymyxin B.	Peptide	AP009048:4340268-4338624
ugd	100.00	1-1167/1167	100.00	PmrE is required for the synthesis and transfer of 4-amino-4-deoxy-L-	Peptide	U00096:2099613-2098446

				arabinose (Ara4N) to Lipid A which allows gram-negative bacteria to resist the antimicrobial activity of cationic antimicrobial peptides and antibiotics such as polymyxin		
mdtM	95.55	22-1233/1233	98.30	Multidrug resistance protein MdtM	Acridine_dye, fluoroquinolone, lincosamide, nucleoside, phenicol	U00096.3:4568519-4567286

Vedlegg 13. Resultater fra CARD for prøve MJØSA10-*Pseu-E*.

Tabell 56. Viktige resistensgener funnet hos prøve MJØSA10-*Pseu-E* ved hjelp av the Comprehensive Antibiotic Resistance Database (Fuentes-Castillo et al.).

Resistensgen	Prosent identitet (%)	Coverage	Coverage (%)	Kommentar	Resistent mot	Accession
APH(3')-IIb	100.00	1-807/807	100.00	APH(3')-IIb is a chromosomal-encoded aminoglykosid phosphotransferase in <i>P. aeruginosa</i>	aminoglykosid	X90856:387-1194
ArmR	96.91	1-162/162	100.00	ArmR a 53-amino-acid antirepressor allosterically inhibits MexR dimer-DNA binding by occupying a hydrophobic binding cavity within the center of the MexR dimer. ArmR up-regulation and MexR-ArmR complex formation have previously been shown to upregulate MexAB-OprM.	aminocoumarin, carbapenem, cephalosporin, cephamycin, diaminopyrimidine, fluoroquinolone, macrolide, monobactam, penam, penem, peptide, phenicol, sulfonamide, tetracycline	AE004091.2:4165880-4165718
arnA	99.05	1-1989/1989	100.00	arnA modifies lipid A with 4-amino-4-deoxy-L-arabinose (Ara4N) which allows gram-negative bacteria to resist the antimicrobial activity of cationic antimicrobial peptides and antibiotics such as polymyxin. arnA is found in <i>E. coli</i> and <i>P. aeruginosa</i> .	peptide	AE004091.2:3982020-3984009
basS	98.81	1-1434/1434	100.00	Histidine protein kinase sensor Lipid A modification gene, part of a two-component system involved in polymyxin	peptide	JQ340365:0-1434

				resistance that senses high extracellular Fe(2+)		
bcr-1	99.67	1-1209/1209	100.00	Transmembrane protein which expels bicyclomycin from the cell leading to bicyclomycin resistance. Identified in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strains responsible for outbreaks in Brazil often appearing with blaSPM-1 another bicyclomycin resistance gene	bicyclomycin	CP012901.1:5980365-5979156
CrpP	94.44	1-198/198	100.00	A plasmid-encoded ciprofloxacin resistance protein identified from a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> plasmid. CrpP confers resistance to ciprofloxacin by antibiotic inactivation through phosphorylation. Described by Chavez-Jacobo et al. 2018.	fluoroquinolone	HM560971.1:119269-119071
fosA	99.27	1-408/408	100.00	An enzyme that confers resistance to fosfomycin in <i>Serratia marcescens</i> by breaking the epoxide ring of the molecule. It depends on the cofactors Manganese (Jang et al.) and Potassium and uses Glutathione (GSH) as the nucleophilic molecule. In <i>Pseudomonas aeruginosa</i> FosA catalyzes the conjugation of glutathione to carbon-1 of fosfomycin	fosfomycin	AE004091.2:1221690-1222098

				rendering it ineffective as an antibacterial drug.		
MexA	99.31	1-1152/1152	100.00	MexA is the membrane fusion protein of the MexAB-OprM multidrug efflux complex.	aminocoumarin, carbapenem, cephalosporin, cephamycin, diaminopyrimidine, fluoroquinolone, macrolide, monobactam, penam, penem, peptide, phenicol, sulfonamide, tetracycline	AE004091.2:472023-473175
MexB	99.24	1-3141/3141	100.00	MexB is the inner membrane multidrug exporter of the efflux complex MexAB-OprM.	aminocoumarin, carbapenem, cephalosporin, cephamycin, diaminopyrimidine, fluoroquinolone, macrolide, monobactam, penam, penem, peptide, phenicol, sulfonamide, tetracycline	L11616:1569-4710
MexC	98.88	1-1164/1164	100.00	MexC is the membrane fusion protein of the MexCD-OprJ multidrug efflux complex.	aminocoumarin, aminoglykosid, cephalosporin, diaminopyrimidine, fluoroquinolone, macrolide, penam, phenicol, tetracycline	U57969:294-1458
MexD	99.36	1-3132/3132	99.97	MexD is the multidrug inner membrane transporter of the MexCD-OprJ complex.	aminocoumarin, aminoglykosid, cephalosporin, diaminopyrimidine,	U57969:1485-4617

					fluoroquinolone, macrolide, penam, phenicol, tetracycline	
MexE	99.68	1-1245/1245	100.00	MexE is the membrane fusion protein of the MexEF-OprN multidrug efflux complex.	diaminopyrimidine, fluoroquinolone, phenicol	AE004091.2:2808742-2809987
MexF	99.53	1-3189/3189	100.00	MexF is the multidrug inner membrane transporter of the MexEF-OprN complex. mexF corresponds to 2 loci in Pseudomonas aeruginosa PAO1 (gene name: mexF/mexB) and 4 loci in Pseudomonas aeruginosa LESB58 (gene name: mexD/mexB).	diaminopyrimidine, fluoroquinolone, phenicol	AE004091.2:2810008-2813197
mexG	99.55	1-447/447	100.00	MexG is a membrane protein required for MexGHI-OpmD efflux activity.	acridine_dye, fluoroquinolone, tetracycline	AE004091.2:4705955-4706402
mexH	99.46	1-1113/1113	100.00	MexH is the membrane fusion protein of the efflux complex MexGHI-OpmD.	acridine_dye, fluoroquinolone, tetracycline	AE004091.2:4706409-4707522
mexI	99.61	1-3090/3090	100.00	MexI is the inner membrane transporter of the efflux complex MexGHI-OpmD.	acridine_dye, fluoroquinolone, tetracycline	AE004091.2:4707534-4710624
mexJ	99.00	1-1104/1104	100.00	mexJ is the membrane fusion protein of the MexJK multidrug efflux protein.	macrolide, tetracycline, triclosan	AE004091.2:4120373-4119269
mexK	98.96	1-3078/3078	100.00	mexK is the inner membrane resistance-nodulation-cell division (RND) transporter in the MexJK multidrug efflux protein.	macrolide, tetracycline, triclosan	AE004091.2:4119265-4116187
mexL	99.37	1-639/639	100.00	MexL is a specific repressor of mexJK transcription and	macrolide, tetracycline, triclosan	AE004091.2:4120468-4121107

				autoregulates its own expression.		
mexM	99.22	1-1158/1158	100.00	mexM is the membrane fusion protein of the MexMN-OprM multidrug efflux complex.	phenicol	AB219523.1:21-1179
mexN	99.26	1-3111/3111	100.00	MexN is the inner membrane transporter of the MexMN-OprM multidrug efflux complex.	phenicol	AB219523.1:1175-4286
mexP	98.79	1-1158/1158	100.00	MexP is the membrane fusion protein of the MexPQ-OpmE multidrug efflux complex	acridine_dye, carbapenem, diaminopyrimidine, macrolide, phenicol, tetracycline	AB219524.1:22-1180
mexQ	99.30	1-3162/3162	100.00	MexQ is the inner membrane transporter of the multidrug efflux pump MexPQ-OpmE.	acridine_dye, carbapenem, diaminopyrimidine, macrolide, phenicol, tetracycline	AB219524.1:1176-4338
mexV	99.20	1-1131/1131	100.00	MexV is the membrane fusion protein of the MexVW-OprM multidrug efflux complex.	acridine_dye, fluoroquinolone, macrolide, phenicol, tetracycline	AE004091.2:4903465-4904596
mexW	99.44	1-3057/3057	100.00	MexW is the RND-type membrane protein of the efflux complex MexVW-OprM.	acridine_dye, fluoroquinolone, macrolide, phenicol, tetracycline	NC_002516.2:4904646-4907703
mexX	98.05	1-1170/1170	100.00	MexX is the membrane fusion protein of the MexXY-OprM multidrug efflux complex.	acridine_dye, aminoglykosid, carbapenem, cephalosporin, cephamycin, fluoroquinolone, macrolide, penam, phenicol, tetracycline	AB015853:145-1315

mexY	98.41	1-3141/3141	99.81	MexY is the RND-type membrane protein of the efflux complex MexXY-OprM.	acridine_dye, aminoglykosid, carbapenem, cephalosporin, cephamycin, fluoroquinolone, macrolide, penam, phenicol, tetracycline	AB015853:1330-4471
MuxA	99.45	1-1281/1281	100.00	MuxA is a membrane fusion protein component of the efflux pump system MuxABC-OpmB in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	aminocoumarin, macrolide, monobactam, tetracycline	AE004091.2:2855291-2854010
MuxB	99.42	1-3132/3132	100.00	MuxB is one of the two necessary RND components in the <i>Pseudomonas aeruginosa</i> efflux pump system MuxABC-OpmB.	aminocoumarin, macrolide, monobactam, tetracycline	AE004091.2:2854014-2850882
MuxC	99.10	1-3111/3111	100.00	MuxC is one of the two necessary RND components of the MuxABC-OpmB efflux pumps system in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	aminocoumarin, macrolide, monobactam, tetracycline	AE004091.2:2850886-2847775
OpmB	99.33	1-1497/1497	100.00	OpmB is an outer membrane efflux protein in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> that shows functional cooperation with MuxABC to form the efflux pump system MuxABC-OpmB.	aminocoumarin, macrolide, monobactam, tetracycline	AE004091.2:2847779-2846282
opmD	99.59	1-1464/1464	100.00	OpmD is the outer membrane channel protein of the efflux complex MexGHI-OpmD.	acridine_dye, fluoroquinolone, tetracycline	AE004091.2:4710620-4712084
opmE	99.25	1-1476/1476	100.00	opmE is an outer membrane factor protein that is part of the	acridine_dye, carbapenem,	AB219524.1:4334-5810

				multidrug efflux pump MexPQ-OpmE.	diaminopyrimidine, macrolide, phenicol, tetracycline	
OpmH	97.38	1-1449/1449	100.00	OpmH is an outer membrane efflux protein required for triclosan-specific efflux pump function.	triclosan	AE004091.2:5584100-5585549
OprJ	99.38	1-1440/1440	100.00	OprJ is the outer membrane channel component of the MexCD-OprJ multidrug efflux complex.	aminocoumarin, aminoglykosid, cephalosporin, diaminopyrimidine, fluoroquinolone, macrolide, penam, phenicol, tetracycline	U57969:4622-6062
OprM	98.63	1-1458/1458	100.00	OprM is an outer membrane factor protein found in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Burkholderia vietnamiensis</i> . It is part of the MexAB-OprM MexVW-OprM MexXY-OprM and the AmrAB-OprM complex.	acridine_dye, aminocoumarin, aminoglykosid, carbapenem, cephalosporin, cephamycin, diaminopyrimidine, fluoroquinolone, macrolide, monobactam, penam, penem, peptide, phenicol, sulfonamide, tetracycline	AE004091.2:476332-477790
OprN	99.22	1-1419/1419	100.00	OprN is the outer membrane channel component of the MexEF-OprN multidrug efflux complex.	diaminopyrimidine, fluoroquinolone, phenicol	AE004091.2:2813193-2814612
OXA-488	99.87	1-789/789	100.00	Assigned by Lahey's list of β -lactamases no accessions or other information available	cephalosporin, penam	SMRY02000082.1:18008-17219

PDC-7	99.25	1-1194/1194	100.00	PDC-7 is a extended-spectrum β -lactamase found in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	carbapenem, cephalosporin, monobactam	FJ666070:0-1194
PmpM	99.23	1-1434/1434	100.00	PmpM is a multidrug efflux pump belonging to the MATE family of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . PmpM is an H ⁺ drug antiporter and is the first reported case of an H ⁺ coupled efflux pump in the MATE family. PmpM confers resistance to fluoroquinolones fradiomycin benzalkonium chloride chlorhexidine gluconate ethidium bromide tetraphenylphosphonium chloride (TPPCI) and rhodamine 6G.	aminoglykosid, benzalkonium_chloride, fluoroquinolone	AE004091.2:1473980-1472546
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> _CpxR	99.11	1-678/678	100.00	CpxR is directly involved in activation of expression of RND efflux pump MexAB-OprM in <i>P. aeruginosa</i> . CpxR is required to enhance mexAB-oprM expression and drug resistance in the absence of repressor MexR.	aminocoumarin, aminoglykosid, carbapenem, cephalosporin, cephamycin, diaminopyrimidine, fluoroquinolone, macrolide, monobactam, penam, penem, peptide, phenicol, sulfonamide, tetracycline	LT673656.1:1885022-1884344
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> _emrE	98.50	1-333/333	100.00	EmrE is a small multidrug transporter that functions as a homodimer and that couples the efflux of small polyaromatic cations from the	aminoglykosid	AE004091.2:5606102-5606435

				cell with the import of protons down an electrochemical gradient. Confers resistance to tetraphenylphosphonium methyl viologen gentamicin kanamycin and neomycin.		
Pseudomonas_aeruginosa_soxR	99.36	1-471/471	100.00	SoxR is a redox-sensitive transcriptional activator that induces expression of a small regulon that includes the RND efflux pump-encoding operon mexGHI-opmD. SoxR was shown to be activated by pyocyanin.	acridine_dye, cephalosporin, fluoroquinolone, glycylcycline, penam, phenicol, rifamycin, tetracycline, triclosan	AE004091.2:2503895-2503424
TriA	99.13	1-1152/1152	100.00	TriA is a membrane protein that is fused to TriB and both are required for the triclosan efflux pump function of TriABC-OpmH in P. aeruginosa.	triclosan	AE004091.2:177306-178458
TriB	99.35	1-1071/1071	100.00	TriB is a membrane protein that is fused to TriA and both are required for the triclosan efflux pump function of TriABC-OpmH in P. aeruginosa.	triclosan	AE004091.2:178454-179525
TriC	99.28	1-3048/3048	100.00	TriC is a resistance nodulation cell division (RND) transporter that is a part of TriABC-OpmH a triclosan-specific efflux protein.	triclosan	AE004091.2:179521-182569

Vedlegg 14. Resultater fra CARD for prøve FOSS2-Serr-E.

Tabell 57. Viktige resistensgener funnet hos prøve FOSS2-Serr-E ved hjelp av The Comprehensive Antibiotic Resistance Database (Fuentes-Castillo et al.).

Resistensgen	Identitet (%)	Coverage	Coverage (%)	Kommentar	Resistent mot	Accession
CRP	84.83	1-633/633	100.00	CRP is a global regulator that represses MdtEF multidrug efflux pump expression.	Penam	AP009048.1:4154296-4153663
FONA-6	96.17	1-888/888	100.00	FONA-6 is a class A β -lactamase gene found in <i>Serratia fonticola</i> .	Fluoroquinolone, macrolide, penam	AJ251244.1:1053-1941

H-NS	81.59	1-402/414	97.10	H-NS is a histone-like protein involved in global gene regulation in Gram-negative bacteria. It is a repressor of the membrane fusion protein genes <i>acrE</i> , <i>mdtE</i> and <i>emrK</i> as well as nearby genes of many RND-type multidrug exporters.	Cephalosporin, cephamycin, fluoroquinolone, macrolide, penam, tetracycline	BA000007.3:1738104-1737690
MexB	80.24	1-3074/3141	97.52	MexB is the inner membrane multidrug exporter of the efflux complex MexAB-OprM.	Diaminopyrimidine, fluoroquinolone, phenicol	L11616:1569-4710
MexF	84.67	1-3158/3189	98.68	MexF is the multidrug inner membrane transporter of the MexEF-OprN complex. <i>mexF</i> corresponds to 2 loci in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1 (gene name: <i>mexF/mexB</i>) and 4 loci in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LESB58 (gene name: <i>mexD/mexB</i>).	Acridine_dye, fluoroquinolone, macrolide, phenicol, tetracycline	AE004091.2:2810008-2813197
mexW	81.28	1-3008/3057	98.23	MexW is the RND-type membrane protein of the efflux complex MexVW-OprM.	Aminocoumarin, carbapenem, cephalosporin, cephamycin, diaminopyrimidine, fluoroquinolone, macrolide, monobactam, penam, penem, peptide, phenicol, sulfonamide, tetracycline	NC_002516.2:4904646-4907703

Pseudomonas_aeruginosa_CpxR	80.92	1-673/678	98.82	CpxR is directly involved in activation of expression of RND efflux pump MexAB-OprM in P. aeruginosa. CpxR is required to enhance mexAB-oprM expression and drug resistance in the absence of repressor MexR.	Aminocoumarin, aminoglykosid, carbapenem, cephalosporin, cephamycin, diaminopyrimidine, fluoroquinolone, macrolide, monobactam, penam, penem, peptide, phenicol, sulfonamide, tetracycline	LT673656.1:1885022-1884344
-----------------------------	-------	-----------	-------	---	--	----------------------------

Vedlegg 15. Resultater fra VFDB for FOSS9-*E. coli*-E

Tabell 58. Viktige resistensgener funnet hos prøve FOSS9-*E. coli*-E ved hjelp av «Virulence Factor Database for *E. coli* (ecoli_yf)».

Virulensgen	Identitet (%)	Coverage	Coverage (%)	Kommentar	Accession
afaA	100.00	1-306/306	100.00	fimbrial major subunit AfaA	gi:218921796
afaD	100.00	1-444/444	100.00	AfaD	gi:218921799
afaE-I	100.00	1-486/486	100.00	AFA-I adhesin	gi:218921800
agn43	96.64	1-3129/3129	100.00	antigen 43	gi:26249490
agn43	97.63	1-3126/3126	100.00	antigen 43 (Ag43) phase-variable biofilm formation autotransportør, CP4-44 prophage	gi:218696653
artj	96.31	1-732/732	100.00	<i>E. coli</i> artP artI artQ artM and artJ genes.	SPG000096
asIA	98.18	1-1428/1428	100.00	putative arylsulfatase	gi:9965749
b2972	94.69	1-810/810	100.00	Prepilin peptidase Adherence Hemorrhagic coli pilus	SPG000090
c3400	96.04	3-2805/2805	99.93	hypothetical protein	gi:26249235
c3610	99.81	1-2091/2091	100.00	bifunctional enterobactin receptor/adhesin protein	gi:26249445
cadA	98.99	1-2176/2176	100.00	gb AY319765.1 :1081-3256 <i>Escherichia coli</i> cadBA operon partial sequence	SPG000027
cheA	97.81	1-1965/1965	100.00	chemotaxis protein CheA	gi:15802300
cheB	96.95	1-1050/1050	100.00	chemotaxis-specific methylsterase	gi:15802295
cheR	97.91	1-861/861	100.00	chemotaxis methyltransferase CheR	gi:15802296
cheW	98.02	1-504/504	100.00	purine-binding chemotaxis protein	gi:15802299
cheY	99.23	1-390/390	100.00	chemotaxis regulatory protein CheY	gi:15802294
cheZ	98.76	1-645/645	100.00	chemotaxis regulator CheZ	gi:15802293
chuA	100.00	1-1983/1983	100.00	Ferrichrome receptor	gi:386621151
chuS	100.00	1-1029/1029	100.00	Hemin transport protein HmuS	gi:386621150
chuT	100.00	1-993/993	100.00	putative periplasmic binding protein	VFG045851
chuU	99.50	1-993/993	100.00	putative permease of iron compound ABC transport system	gi:91213011
chuV	99.75	1-801/801	100.00	ATP-binding hydrophilic protein ChuV	gi:26250140
chuW	99.63	1-1338/1338	100.00	putative oxygen independent coproporphyrinogen III oxidase	VFG045852

chuX	100.00	1-495/495	100.00	putative heme-binding protein ChuX	gi:26250137
chuY	99.68	1-624/624	100.00	hypothetical protein	gi:91213010
csgA	100.00	1-459/459	100.00	curlin major subunit CsgA	VFG045793
csgB	100.00	1-483/483	100.00	minor curlin subunit CsgB	VFG045792
csgC	100.00	1-333/333	100.00	putative curli production protein CsgC	VFG045794
csgD	100.00	1-651/651	100.00	putative 2-component transcriptional regulator for 2nd curli operon	VFG045791
csgE	100.00	1-390/390	100.00	curli production assembly/transport component CsgE	VFG045790
csgF	100.00	1-417/417	100.00	curli production assembly/transport component CsgF	VFG045789
csgG	100.00	1-834/834	100.00	curli production assembly/transport component CsgG	VFG045788
draP	98.85	1-174/174	100.00	DraP	gi:13241935
draP	98.85	1-174/174	100.00	DraP	gi:13241935
daaF	100.00	1-228/228	100.00	DaaF protein	gi:145699
daaF	98.68	1-228/228	100.00	DaaF protein	gi:145699
EC958_0639	99.95	1-2004/2004	100.00	hypothetical protein	VFG045809
EC958_0640	90.76	68-669/669	89.39	hypothetical protein	VFG045810
EC958_0640	100.00	1-669/669	100.00	hypothetical protein	VFG045810
EC958_0641	93.47	1-668/669	98.95	hypothetical protein	VFG045811
EC958_0641	100.00	1-669/669	100.00	hypothetical protein	VFG045811
EC958_3095	98.61	1-2379/2379	100.00	hypothetical protein	VFG045808
EC958_3105	100.00	1-1638/1638	100.00	hypothetical protein	VFG045812
EC958_4611	98.89	153-3840/3840	96.02	hypothetical protein	VFG045818
EC958_4614	99.01	1-3930/3930	99.92	serine protease autotransporter protein	VFG045824
EC958_5031	100.00	1-522/522	100.00	hypothetical protein	VFG045799
EC958_5032	100.00	1-1545/1545	100.00	hypothetical protein	VFG045800
EC958_5043	99.20	1-1377/1377	100.00	hypothetical protein	VFG045817
ECNA114_2856	100.00	1-1338/1338	100.00	hypothetical protein	gi:386620385
ECNA114_28561	100.00	1-666/666	100.00	hypothetical protein	gi:386620386
ECNA114_2857	100.00	1-1653/1653	100.00	hypothetical protein	gi:386620387
ECNA114_2858	100.00	1-492/492	100.00	hypothetical protein	gi:386620388
ECNA114_2860	100.00	1-2637/2637	100.00	Clp ATPase	gi:386620390

ECNA114_2871	100.00	1-537/537	100.00	hypothetical protein	gi:386620402
ECNA114_2872	99.77	1-429/429	100.00	hypothetical protein	gi:386620403
ECP_2814	95.75	1-3432/3432	100.00	hypothetical protein	gi:110642969
ecpA	99.03	1-618/618	100.00	MatB precursor	gi:91209355
ecpC	99.96	1-2526/2526	100.00	hypothetical protein	gi:386617794
ecpD	99.88	1-1644/1644	100.00	hypothetical protein	gi:386617793
ECS88_3547	99.77	1-885/885	100.00	lipoprotein NlpI	gi:218560235
entA	98.13	1-747/747	100.00	23-dihydro-23-dihydroxybenzoate dehydrogenase	gi:26246575
entB	99.53	1-858/858	100.00	isochorismatase	gi:26246574
entC	99.41	1-1188/1188	100.00	isochorismate synthase 1	gi:26246572
entD	97.73	1-662/771	85.86	phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex	gi:26246560
entE	99.13	1-1611/1611	100.00	23-dihydroxybenzoate-AMP ligase component of enterobactin synthase multienzyme complex	gi:26246573
entF	97.77	1-3854/3882	99.28	enterobactin synthase multienzyme complex component ATP-dependent	gi:26246565
entS	98.32	1-1251/1251	100.00	enterobactin exporter iron-regulated	gi:26246570
fepA	98.80	1-2241/2241	100.00	ferrienterobactin outer membrane transporter	gi:26246561
fepB	99.69	1-957/957	100.00	ferrienterobactin ABC transporter periplasmic binding protein	gi:26246571
fepC	99.14	1-816/816	100.00	ferrienterobactin ABC transporter ATPase	gi:26246567
fepD	97.84	1-1017/1017	100.00	ferrienterobactin ABC transporter permease	gi:26246569
fepE	93.92	1-1134/1134	100.00	ferric enterobactin transport protein FepE	gi:26246566
fepG	97.68	1-993/993	100.00	iron-enterobactin ABC transporter permease	gi:26246568
fes	99.17	1-1203/1203	100.00	enterobactin/ferric enterobactin esterase	gi:26246563
fimA	100.00	1-549/549	100.00	Putative type 1 fimbriae major subunit FimA	gi:386622102
fimB	100.00	1-603/603	100.00	tyrosine recombinase/inversion of on/off regulator of fimA	gi:260847128
fimC	99.72	1-726/726	100.00	Periplasmic chaperone FimC	gi:386622104
fimD	97.59	1-2652/2652	100.00	fimbrial outer membrane usher protein	gi:387607091
fimD	100.00	1-2637/2637	100.00	fimbrial outer membrane usher protein	gi:387615050
fimE	100.00	1-597/597	100.00	tyrosine recombinase	gi:386622101
fimF	98.31	1-531/531	100.00	fimbrial protein	gi:387607090

fimF	100.00	1-531/531	100.00	minor component of type 1 fimbriae	gi:387615051
fimG	98.41	1-504/504	100.00	fimbrial-like adhesin protein	gi:410482685
fimG	100.00	1-504/504	100.00	minor component of type 1 fimbriae	gi:387615052
fimH	100.00	1-903/903	100.00	minor component of type 1 fimbriae	gi:387615053
fimI	100.00	1-648/648	100.00	FimI fimbrial protein	VFG045776
flgA	96.82	1-660/660	100.00	flagellar basal body P-ring biosynthesis protein FlgA	gi:15801189
flgB	99.04	1-417/417	100.00	flagellar basal body rod protein FlgB	gi:15801190
flgC	98.27	1-405/405	100.00	flagellar basal body rod protein FlgC	gi:15801191
flgD	96.55	1-696/696	100.00	flagellar basal body rod modification protein	gi:15801192
flgE	97.51	1-1206/1206	100.00	flagellar hook protein FlgE	gi:15801193
flgF	97.75	1-756/756	100.00	flagellar basal body rod protein FlgF	gi:15801194
flgG	98.21	1-783/783	100.00	flagellar basal body rod protein FlgG	gi:15801195
flgH	98.43	1-699/699	100.00	flagellar basal body L-ring protein	gi:15801196
flgI	96.45	1-1098/1098	100.00	flagellar basal body P-ring protein	gi:15801197
flgJ	98.30	1-942/942	100.00	flagellar rod assembly protein/muramidase FlgJ	gi:15801198
flgK	97.99	1-1644/1644	100.00	flagellar hook-associated protein FlgK	gi:15801199
flgL	96.65	1-954/954	100.00	flagellar hook-associated protein FlgL	gi:15801200
flgN	98.56	1-417/417	100.00	flagella synthesis protein FlgN	gi:15801187
flhA	95.52	1-2077/2079	99.90	flagellar biosynthesis protein FlhA	gi:15802291
flhB	97.91	1-1149/1149	100.00	flagellar biosynthesis protein FlhB	gi:15802292
flhC	98.62	1-579/579	100.00	transcriptional activator FlhC	gi:15802303
flhD	99.17	1-360/360	100.00	transcriptional activator FlhD	gi:15802304
flhE	93.06	1-389/393	98.98	flagellar protein	gi:15802290
fliA	98.75	1-720/720	100.00	flagellar biosynthesis sigma factor	gi:15802357
fliE	97.14	1-315/315	100.00	flagellar hook-basal body protein FliE	gi:15802372
fliF	97.95	1-1659/1659	100.00	flagellar MS-ring protein	gi:15802373
fliG	98.80	1-996/996	100.00	flagellar motor switch protein G	gi:15802374
fliH	96.36	1-687/687	100.00	flagellar assembly protein H	gi:161367588
fliI	98.03	1-1374/1374	100.00	flagellum-specific ATP synthase	gi:161367587
fliJ	98.65	1-444/444	100.00	flagellar biosynthesis chaperone	gi:15802377
fliK	97.43	1-1128/1128	100.00	flagellar hook-length control protein	gi:15802378
fliL	98.50	1-465/465	100.00	flagellar basal body-associated protein FliL	gi:15802379
fliM	98.21	1-1005/1005	100.00	flagellar motor switch protein FliM	gi:15802380

fliN	95.65	1-414/414	100.00	flagellar motor switch protein FliN	gi:15802381
fliO	97.81	1-366/366	100.00	flagellar biosynthesis protein FliO	gi:161367586
fliP	97.97	1-738/738	100.00	flagellar biosynthesis protein FliP	gi:15802383
fliQ	97.04	1-270/270	100.00	flagellar biosynthesis protein FliQ	gi:15802384
fliR	97.45	1-786/786	100.00	flagellar biosynthesis protein FliR	gi:15802385
fliS	97.57	1-411/411	100.00	flagellar protein FliS	gi:15802360
fliT	97.27	1-366/366	100.00	flagellar biosynthesis protein FliT	gi:15802361
fliY	97.50	1-801/801	100.00	cystine transporter subunit	gi:15802355
fliZ	97.62	1-588/588	100.00	flagella biosynthesis protein FliZ	gi:15802356
flk	98.29	1-995/996	99.90	flagella biosynthesis regulator	gi:15802868
fyuA	100.00	1-2022/2022	100.00	TonB-dependent siderophore receptor subfamily	gi:386599817
gadX	93.52	1-633/633	100.00	gb ADUM01000070.1 :99762-100394 Escherichia coli 3431 gec3431.assembly.48 whole genome shotgun sequence HTH-type transcriptional regulator gadX	SPG000043
gspC	94.48	1-960/960	100.00	putative type II secretion protein GspC	gi:157156659
gspD	97.19	1-2061/2061	100.00	general secretion pathway protein D	gi:157157281
gspE	94.91	1-1494/1494	100.00	general secretory pathway protein E	gi:157159001
gspF	94.28	1-1224/1224	100.00	general secretion pathway protein F	gi:157154920
gspG	96.27	1-456/456	100.00	general secretion pathway protein G	gi:157157959
gspH	94.50	1-564/564	100.00	general secretion pathway protein H	gi:157158634
gspI	94.62	1-372/372	100.00	general secretion pathway protein I	gi:157156956
gspJ	94.98	1-598/600	99.67	general secretion pathway protein J	gi:157157609
gspK	95.30	1-978/978	100.00	general secretion pathway protein K	gi:157155920
gspL	94.66	1-1179/1179	100.00	GspL-like protein	gi:157156601
gspM	92.91	1-536/537	99.81	putative general secretion pathway protein YghD	gi:157154814
gspo	98.23	1-678/678	100.00	Prepilin peptidase Secretion system Type II Secretion System	SPG000100
hma	100.00	1-2148/2148	100.00	putative outer membrane receptor for iron compound or colicin	gi:26248334
hofB	97.91	1-1386/1386	100.00	hypothetical protein	gi:15799791
hofC	95.76	1-1203/1203	100.00	type IV pilin biogenesis protein	gi:15799790

hofq	98.06	1-1239/1239	100.00	Outer membrane secretin Adherence Hemorrhagic coli pilus	SPG000051
ibeB	99.64	1-1383/1383	100.00	Cation efflux system protein	gi:386618019
irp1	99.92	1-9492/9492	100.00	non-ribosomal peptide synthase (yersiniabactin siderophore biosynthetic protein)	gi:387607664
irp2	99.92	1-6126/6126	100.00	non-ribosomal peptide synthase (yersiniabactin siderophore biosynthetic protein)	gi:387607663
iucA	99.89	1-1791/1791	100.00	aerobactin siderophore biosynthesis protein	gi:218701706
iucB	100.00	1-948/948	100.00	aerobactin siderophore biosynthesis protein IucB	gi:386640481
iucC	100.00	1-1743/1743	100.00	aerobactin siderophore biosynthesis protein IucC	gi:386640482
iucD	99.92	1-1278/1278	100.00	L-lysine 6-monooxygenase	gi:218701709
iutA	100.00	1-2202/2202	100.00	ferric aerobactin receptor precursor IutA	gi:386640484
kpsD	98.33	1-1677/1677	100.00	KpsD	gi:409035
kpsM	100.00	1-777/777	100.00	E. coli kpsM and kpsT genes involved in polysaccharide transport.	SPG000093
malx	98.92	1-1581/1581	100.00	Escherichia coli strain CFT073 β -cystathionase (r3) gene partial cds, MalX (malX) and sacpa operon antiterminator R1 (r1) genes complete cds, and F447 (f447) gene partial cds.	SPG000039
matA	99.83	1-591/591	100.00	Mat/Ecp fimbriae transcriptional regulator	VFG045782
matC	100.00	1-717/717	100.00	Mat/Ecp fimbriae periplasmic chaperone protein	VFG045784
matF	100.00	1-756/756	100.00	Mat/Ecp fimbriae periplasmic chaperone protein	VFG045787
motA	98.31	1-888/888	100.00	flagellar motor protein MotA	gi:15802302
motB	97.41	1-927/927	100.00	flagellar motor protein MotB	gi:15802301
nada	97.70	1-1044/1044	100.00	Escherichia coli str. K-12 substr. MG1655 complete genome	SPG000048
nadb	97.23	1-1623/1623	100.00	Escherichia coli str. K-12 substr. MG1655 complete genome	SPG000049
nfae111	99.11	3-564/564	99.11	Escherichia coli Dr-family adhesin NFAE-111 (nfaE111) gene complete cds.	SPG000110

ompA	95.82	1-1041/1041	100.00	outer membrane protein A	gi:7188818
ompt	98.22	1-954/954	100.00	E. coli ompT gene for outer membrane protease.	SPG000077
papA	99.49	1-591/591	99.83	major pilin subunit PapA	gi:386625714
papB	98.73	1-315/315	99.68	pap operon regulatory protein PapB	gi:91213844
papI	95.54	1-269/306	87.91	fimbrial regulatory protein	gi:117625211
papX	100.00	1-552/552	100.00	PapX protein	gi:386630724
ppda	98.51	1-471/471	100.00	Pilin-like protein minor pilin or pseudo pilin Adherence Hemorrhagic coli pilus	SPG000131
ppdb	96.99	1-564/564	100.00	Pilin-like protein minor pilin or pseudo pilin Adherence Hemorrhagic coli pilus	SPG000112
ppdc	97.84	1-324/324	100.00	Pilin-like protein minor pilin or pseudopilin Adherence Hemorrhagic coli pilus	SPG000140
ppdD	98.41	1-441/441	100.00	putative major pilin subunit	gi:15799792
sat	100.00	1-3900/3900	100.00	secreted auto transpoter toxin	gi:386630755
sitA	99.56	1-915/915	100.00	putative iron transport protein periplasmic-binding protein SitA	gi:91210366
sitB	99.64	1-828/828	100.00	SitB protein	gi:26247467
sitC	100.00	1-858/858	100.00	Iron transporter inner membrane component	gi:386618821
sitD	100.00	1-858/858	100.00	iron transport protein inner membrane component	gi:218704667
tar/cheM	98.31	1-1662/1662	100.00	methyl-accepting chemotaxis protein II	gi:15802298
trat	99.73	1-732/732	100.00	Plasmid R100 (from E.coli) complement resistance (traT) gene.	SPG000097
upaC	100.00	1-2988/2988	100.00	autotransportør protein UpaC	VFG045825
upaG/ehaG	100.00	1-4344/4344	100.00	hypothetical protein	gi:386621289
usp	100.00	1-1782/1782	100.00	hypothetical protein	gi:386617620
ybtA	99.79	1-960/960	100.00	putative AraC type regulator protein	gi:386619565
ybtE	99.94	1-1578/1578	100.00	yersiniabactin siderophore biosynthetic protein	gi:91211203
ybtP	99.78	1-1803/1803	100.00	Putative inner membrane ABC-transporter	gi:26248274
ybtQ	99.51	1-1830/1830	100.00	putative ABC transporter protein	gi:91211196
ybtS	99.92	1-1305/1305	100.00	putative salicylate synthetase	gi:386639494
ybtT	99.88	1-804/804	100.00	yersiniabactin biosynthetic protein YbtT	gi:117624165
ybtU	99.91	1-1161/1161	100.00	Thiazolanyl-S-HMWP1 reductase YbtU	gi:218695588
ybtX	99.50	1-1404/1404	100.00	hypothetical protein	gi:91211195

ycfz	98.35	1-789/789	100.00	putative factor	SPG000092
yfdb	95.59	1-408/408	100.00	Pilin-like protein minor pilin or pseudo pilin Adherence Hemorrhagic coli pilus	SPG000137
ygr	95.11	1-981/981	100.00	Retraction ATPase Adherence Hemorrhagic coli pilus	SPG000074
yghg	98.78	1-411/411	100.00	Pilin Secretion system Type II Secretion System	SPG000136
yijP	100.00	1-1779/1779	100.00	protein YijP	VFG045770
yjaa	99.76	1-420/420	100.00	hypothetical protein	SPG000135
Z2200	96.45	1-564/564	100.00	putative major fimbrial subunit	gi:15801631
Z2201	97.08	1-720/720	100.00	putative fimbrial chaperone protein	gi:15801632
Z2206	96.61	1-915/915	100.00	putative adhesin, FimH protein	gi:15801636
aaiT	95.59	1-567/567	100.00	conserved hypothetical protein	gi:284924296

Vedlegg 16. Resultater fra MyVirDB for prøve FOSS9-*E. coli*-E

Tabell 59. Viktige virulensgener identifisert hos FOSS9-*E. coli*-E etter screening med Professor Bjørn-Arne Lindstedt sin egen database «MyVirDB».

Gene	Accession number	Comment	% nucleotide match	Coverage	Konsensus ID	Location
AcrA	NC_000913	Multidrug efflux pump subunit AcrA	99.08	1194 / 1194	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	161804..162997
acs	NC_000913	Acetyl-coenzyme A synthetase. APEC acs-yjcH-actP operon, encoding acetate assimilation system, presented the host-induced transcription during its proliferation in macrophages.	97.14	1959 / 1959	konsensus00018 len=106125 cov=27.6 corr=0 origname=NODE_18_length_106125_cov_27.564680 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	22774..24732
actP	NC_000913	Cation/acetate symporter ActP. APEC acs-yjcH-actP operon, encoding acetate assimilation system, presented the host-induced transcription during its proliferation in macrophages.	95.94	1650 / 1650	konsensus00018 len=106125 cov=27.6 corr=0 origname=NODE_18_length_106125_cov_27.564680 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	25253..26902
C3D46_003922	AASCBZ010000028.1	adhesin	99.59	1470 / 1470	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_cov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	999..2468
aec35	AY857617	Part of a selC-Associated Genomic Island of the Extraintestinal Avian Pathogenic Escherichia coli Strain BEN2908	100	1071 / 1071	konsensus00009 len=185513 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_9_length_185513_cov_27.351927 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	4653..5723
aec36	AY857617	Part of a selC-Associated Genomic Island of the Extraintestinal Avian Pathogenic Escherichia coli Strain BEN2908	99.93	1359 / 1359	konsensus00009 len=185513 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_9_length_185513_c	3090..4448

					ov_27.351927 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	
aec37	AY857617	Part of a selC-Associated Genomic Island of the Extraintestinal Avian Pathogenic Escherichia coli Strain BEN2908	100	2388 / 2388	konsensus00009 len=185513 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_9_length_185513_c ov_27.351927 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	694..3081
aer	NC_011751	Aerotaxis receptor	96.65	1521 / 1521	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_c ov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	176344..177 864
afaA	FM955458	AFA-III adhesin operon regulatory protein. Afa, a Diffuse Adherence Fibrillar Adhesin Associated with Enteropathogenic Escherichia coli	100	306 / 306	konsensus00101 len=443 cov=48.5 corr=0 origname=NODE_102_length_443_co v_48.539157 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	122..427
afaD	JN688153	Adhesion to and invasion of HeLa cells by pathogenic Escherichia coli carrying the afa-3 gene cluster are mediated by the AfaE and AfaD proteins, respectively	100	444 / 444	konsensus00011 len=164192 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_11_length_164192_ cov_27.447413 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	350..793
afaE-1	X69197	An adhesin associated with uropathogenic E. coli.	100	486 / 486	konsensus00011 len=164192 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_11_length_164192_ cov_27.447413 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	1552..2037
ampC	CP009072	AmpC β -lactamases (also termed class C or group 1) are typically encoded on the chromosome of many Gram-negative bacteria	99.47	1134 / 1134	konsensus00011 len=164192 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_11_length_164192_ cov_27.447413 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	20777..2191 0
ag43	AE014075	A self-recognizing adhesin that is associated with cell aggregation and biofilm formation in E. coli.	96.68	3130 / 3129	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_c	5102..8230

					ov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	
ag43	NZ_BGJU01 000062	A self-recognizing adhesin that is associated with cell aggregation and biofilm formation in E. coli.	99.37	1734 / 2847	konsensus00049 len=6684 cov=30.9 corr=0 origname=NODE_49_length_6684_c v_30.896394 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	4841..6574
ag43	NZ_BGJU01 000062	A self-recognizing adhesin that is associated with cell aggregation and biofilm formation in E. coli.	97.53	1902 / 2847	konsensus00028 len=38758 cov=26.9 corr=0 origname=NODE_28_length_38758_c ov_26.875049 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	36746..3864 7
ag43	NZ_CP0239 60	A self-recognizing adhesin that is associated with cell aggregation and biofilm formation in E. coli.	96.54	3122 / 3120	konsensus00038 len=18637 cov=29.3 corr=0 origname=NODE_38_length_18637_c ov_29.347458 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	12657..1577 6
arnC	NC_000913	Undecaprenyl-phosphate 4-deoxy-4-formamido-L-arabinose transferase	97.63	969 / 969	konsensus00010 len=181023 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_10_length_181023_ cov_27.434427 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	82038..8300 6
aslA (Arylsul fatase)	CU928163	Arylsulfatase	98.19	1656 / 1656	konsensus00016 len=109353 cov=27.8 corr=0 origname=NODE_16_length_109353_ cov_27.751259 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	71007..7266 2
atoC	NC_011751	Member of the two-component regulatory system AtoS/AtoC	98.48	1386 / 1386	konsensus00010 len=181023 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_10_length_181023_ cov_27.434427 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	126581..127 966
atoE	NC_011751	Short chain fatty acid transporter [Escherichia coli UMN026], positive in EPEC1 and negative in EPEC2	98.11	1323 / 1323	konsensus00010 len=181023 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_10_length_181023_	123754..125 076

					cov_27.434427 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	
atoS	NC_011751	Member of the two-component regulatory system AtoS/AtoC	98.41	1827 / 1827	konsensus00010 len=181023 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_10_length_181023_cov_27.434427 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	127963..129789
autA	KT965673	AutA and AutR, Two Novel Global Transcriptional Regulators, Facilitate Avian Pathogenic Escherichia coli Infection	99.75	795 / 795	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	12283..13077
autR	KT965673	AutA and AutR, Two Novel Global Transcriptional Regulators, Facilitate Avian Pathogenic Escherichia coli Infection	99.34	762 / 762	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	11368..12129
bcr	CP027060	Bicyclomycin resistance protein	96.64	1191 / 1191	konsensus00010 len=181023 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_10_length_181023_cov_27.434427 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	166511..167701
bcsA (cellulose synthase)	CP006632	Catalytically active subunit of cellulose synthase (Biofilm related)	97.1	1347 / 1347	konsensus00009 len=185513 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_9_length_185513_cov_27.351927 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	158798..160144
BlaAMPH	AP012030	A weak β -lactamase	97.06	1158 / 1158	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	72738..73895
c0426/upaB	AE014075	Autotransportør (AT) adhesin from UPEC strain CFT073	96.7	2335 / 2331	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_c	9035..11359

					ov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	
c0478/u paC	AE014075	Autotransportør (AT) adhesin from UPEC strain CFT073	98.8	2988 / 2988	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_c ov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	69041..7202 8
c4485	NC_004431	UPEC-specific gene identified using CGH and in silico BSR analysis of ten UPEC and four fecal/commensal strains. doi: 10.1128/JB.01744-06	99.63	1092 / 1092	konsensus00009 len=185513 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_9_length_185513_c ov_27.351927 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	15858..1694 9
c4759	NC_004431	UPEC-specific gene identified using CGH and in silico BSR analysis of ten UPEC and four fecal/commensal strains. doi: 10.1128/JB.01744-06	99.35	1998 / 1998	konsensus00016 len=109353 cov=27.8 corr=0 origname=NODE_16_length_109353_ cov_27.751259 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	34803..3680 0
cadA (lysine decarbo xylase)	CP025573	Inducible lysine decarboxylase	98.98	2148 / 2148	konsensus00030 len=30907 cov=26.5 corr=0 origname=NODE_30_length_30907_c ov_26.482530 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	11911..1405 8
cheW	CP027060	Chemotaxis protein	99.01	504 / 504	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_c ov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	104574..105 077
cheY	CP028306	Chemotaxis protein	99.49	390 / 390	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_c ov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	109101..109 490
ChuA	LT827011	Outer membrane hemin receptor	99.29	1983 / 1983	konsensus00008 len=191224 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_8_length_191224_c	172264..174 246

					ov_27.310701 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	
cirA	CP030337	Outer membrane receptor for colicins IA and IB	100	1026 / 1026	konsensus00013 len=155515 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_13_length_155515_ cov_27.472903 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	136088..137 113
copA	AE014075	Copper-exporting P-type ATPase	99.24	2505 / 2505	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_c ov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	187377..189 881
csgA	CP023388	curli fimbriae gene	98.69	459 / 459	konsensus00001 len=468645 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_1_length_468645_c ov_27.471300 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	361168..361 626
csgB	CP000243	curli fimbriae gene	99.79	483 / 483	konsensus00001 len=468645 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_1_length_468645_c ov_27.471300 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	360645..361 127
csgE	NC_011750	curli fimbriae gene	98.46	390 / 390	konsensus00001 len=468645 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_1_length_468645_c ov_27.471300 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	358875..359 264
csgFgb	NZ_ANXX0 1000028	curli fimbriae gene	98.8	417 / 417	konsensus00001 len=468645 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_1_length_468645_c ov_27.471300 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	358434..358 850
csgG	LT903847	curli fimbriae gene	97.96	834 / 834	konsensus00001 len=468645 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_1_length_468645_c	357574..358 407

					ov_27.471300 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	
CTX-M-15	KF055402	Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) CTX-M-15	100	876 / 876	konsensus00019 len=93357 cov=44.4 corr=0 origname=NODE_19_length_93357_c ov_44.427965 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	12789..1366 4
cusA	NZ_SQLY01 000148	Part of a cation efflux system that mediates resistance to copper and silver.	99.17	3144 / 3144	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_c ov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	250843..253 986
CvaA-colicin V secretion protein	GG773553	Involved, in conjunction with CvaB, in the secretion of colicin V.	98.79	1242 / 1242	konsensus00027 len=41619 cov=27.1 corr=0 origname=NODE_27_length_41619_c ov_27.096897 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	9006..10247
deoK	FJ999998	deoxyribokinase, the deoK operon is more common among pathogenic than commensal Escherichia coli strains	99.57	921 / 921	konsensus00033 len=28765 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_33_length_28765_c ov_27.526837 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	12450..1337 0
draP/Dr fimbriae	CP032261	The Dr family of Escherichia coli adhesins are virulence factors associated with diarrhea and urinary tract infections.	99.26	270 / 270	konsensus00109 len=384 cov=26.1 corr=0 origname=NODE_109_length_384_co v_26.106227 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	58..327
draP/Dr fimbriae	CP032261	The Dr family of Escherichia coli adhesins are virulence factors associated with diarrhea and urinary tract infections.	98.89	270 / 270	konsensus00011 len=164192 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_11_length_164192_ cov_27.447413 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	1081..1350

DUJ02_RS14830	NZ_BGQI01000015.1	DUF3987 domain-containing protein. A family of uncharacterized proteins found by clustering human gut metagenomic sequences.	99.07	1509 / 1509	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_cov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	1080..2588
ecotin	CP025268	General inhibitor of pancreatic serine proteases	97.37	419 / 419	konsensus00010 len=181023 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_10_length_181023_cov_27.434427 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	144892..145310
ecpA (common pilus)	BA000007	common pilus gene	98.3	588 / 588	konsensus00024 len=56285 cov=27.2 corr=0 origname=NODE_24_length_56285_cov_27.203243 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	6453..7040
ecpB (common pilus)	NZ_QOON01000045	common pilus gene	97.76	669 / 669	konsensus00024 len=56285 cov=27.2 corr=0 origname=NODE_24_length_56285_cov_27.203243 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	7097..7765
ecpD (common pilus)	CP019777	common pilus gene	99.45	1644 / 1644	konsensus00024 len=56285 cov=27.2 corr=0 origname=NODE_24_length_56285_cov_27.203243 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	10306..11949
entA	NC_008253	enterobactin biosynthesis and transportation	98.26	747 / 747	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	290696..291442
entE	NZ_ANXX01000023	enterobactin biosynthesis and transportation	99.44	1611 / 1611	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	288215..289825

entH	NZ_CP016182	enterobactin biosynthesis and transportation	95.17	414 / 414	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	291445..291858
feoB	CP019777	Fe(2+) transporter	99.48	2322 / 2322	konsensus00008 len=191224 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_8_length_191224_cov_27.310701 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	65704..68025
fepA	CP000468	Ferrienterobactin receptor	98.92	1945 / 1947	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	272881..274825
fepB	AE014075	Ferrienterobactin-binding periplasmic protein	99.69	957 / 957	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	285885..286841
fepC	AE014075	Predicted ATP-binding subunit of a ferric enterobactin ABC transporter	99.14	816 / 816	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	281715..282530
fepD	AE014075	Ferric enterobactin (Enterochelin) transport	97.84	1017 / 1017	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	283516..284532
fepG	AE014075	Ferric enterobactin transport system permease protein	97.68	993 / 993	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	282527..283519

ferritin B	CP019777	Ferritin is a universal intracellular protein that stores iron and releases it in a controlled fashion	99.8	504 / 504	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_cov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	91261..91764
fes	CP027060	Enterochelin esterase	96	1125 / 1125	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_cov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	275146..276270
EcSMS35_3916	NC_010498	Fic family protein, EcSMS35_3916, positive in EPEC1 absent from EPEC2	99.07	1295 / 1296	konsensus00009 len=185513 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_9_length_185513_cov_27.351927 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	90992..92286
fiu	CP027060	Catecholate siderophore receptor	96.89	2283 / 2283	konsensus00001 len=468645 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_1_length_468645_cov_27.471300 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	89928..92210
flgD	CP027060	Basal-body rod modification protein	96.55	696 / 696	konsensus00001 len=468645 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_1_length_468645_cov_27.471300 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	388580..389275
flgM	CP028192	Negative regulator of flagellin synthesis	97.62	294 / 294	konsensus00001 len=468645 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_1_length_468645_cov_27.471300 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	386561..386854
fmlA (F9-fimbriae)	BA000007	F9 Fimbriae of Uropathogenic Escherichia coli Are Expressed at Low Temperature. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093177	96.45	564 / 564	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_cov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	437030..437593

fsr (Fosmid omycin resistance)	CP027060	Fosmidomycin resistance protein	97.95	1221 / 1221	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_c ov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	180578..181 798
fyuA	CP016828	The ferric yersiniabactin uptake receptor	99.7	2022 / 2022	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_c ov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	4001..6022
gspD (E. coli)	NC_011750	Type II secretion system protein	100	2061 / 2061	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_c ov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	44530..4659 0
hcp	CP014111	Hcp, a hallmark secreted protein of T6SSs, Type VI Secretion System	97.56	1313 / 1312	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_c ov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	202450..203 761
Hemolysin-III	CP003034	inner membrane protein, hemolysin III family gene	99.13	690 / 690	konsensus00012 len=158992 cov=27.2 corr=0 origname=NODE_12_length_158992_ cov_27.155620 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	88684..8937 3
hutX	NZ_CP0238 20	Cytoplasmic Heme-Binding Protein, heme utilization cytosolic carrier protein HutX	95.35	495 / 495	konsensus00008 len=191224 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_8_length_191224_c ov_27.310701 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	177215..177 709
ibeB	AF094824	Invasion protein	98.19	1383 / 1383	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_c ov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	247854..249 236

ibeC	CP019777	Invasion protein	99.54	1734 / 1734	konsensus00014 len=137895 cov=27.7 corr=0 origname=NODE_14_length_137895_ cov_27.655998 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	117473..119 206
ibrA	CP003034	Immunoglobulin-binding regulator	98.91	1196 / 1185	konsensus00029 len=33769 cov=26.3 corr=0 origname=NODE_29_length_33769_c ov_26.269386 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	18154..1934 9
siderophore R4	CP018957	iha adhesin receptor	99.8	2010 / 2010	konsensus00034 len=26527 cov=27.1 corr=0 origname=NODE_34_length_26527_c ov_27.062349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	23194..2520 3
irp1	CU928163	Yersiniabactin biosynthetic protein, part of the HPI island.	99.64	9492 / 9492	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_c ov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	9632..19123
irp2	CP006834	Yersiniabactin biosynthetic protein. The irp2 and fyuA genes in High Pathogenicity Islands are involved in the pathogenesis of infections caused by avian pathogenic Escherichia coli (APEC)	99.41	6108 / 6108	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_c ov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	19211..2531 8
iucA	CU928163	Aerobactin synthesis gene	99.44	1788 / 1788	konsensus00034 len=26527 cov=27.1 corr=0 origname=NODE_34_length_26527_c ov_27.062349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	1818..3605
iucB	AE014075	Part of Aerobactin siderophore	99.4	668 / 668	konsensus00034 len=26527 cov=27.1 corr=0 origname=NODE_34_length_26527_c	3886..4553

					ov_27.062349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	
iucC	NC_017646	Part of Aerobactin siderophore	99.94	1743 / 1743	konsensus00034 len=26527 cov=27.1 corr=0 origname=NODE_34_length_26527_c ov_27.062349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	4553..6295
iucD	CP001232	Part of Aerobactin siderophore	99.77	1278 / 1278	konsensus00034 len=26527 cov=27.1 corr=0 origname=NODE_34_length_26527_c ov_27.062349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	6292..7569
iutA	CP011134	Ferric aerobactin receptor	99.95	2202 / 2202	konsensus00034 len=26527 cov=27.1 corr=0 origname=NODE_34_length_26527_c ov_27.062349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	7651..9852
ivy	CP025268	Inhibitor of vertebrate lysozyme	97.68	474 / 474	konsensus00024 len=56285 cov=27.2 corr=0 origname=NODE_24_length_56285_c ov_27.203243 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	46455..4692 8
kfiC	X77617	K5 capsule gene	99.87	1563 / 1563	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_c ov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	27935..2949 7
kpsC	AWDO0100 0031	Capsule polysaccharide export protein	96.6	2028 / 2028	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_c ov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	23145..2517 2
kpsD	NC_007946	Capsule transport protein	98.33	1677 / 1677	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_c	20722..2239 8

					ov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	
kpsE	NC_017646	Involved in capsule polysaccharide export	99.56	1149 / 1149	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_c ov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	19550..20698
kpsMII	X53819	E. coli Group 2 Polysaccharide Capsule Synthesis Gene	100	777 / 777	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_c ov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	35284..36060
kpsS	CP006632	Capsule polysaccharide export protein	96.23	1167 / 1188	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_c ov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	25207..26373
malX	AF003742	Pathogenicity Island Marker	98.92	1581 / 1581	konsensus00012 len=158992 cov=27.2 corr=0 origname=NODE_12_length_158992_cov_27.155620 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	3128..4708
matD	HM102365	Predicted outer membrane protein associated with E. coli common pilus (ECP) formation in pathogenic E. coli strains	99.56	2526 / 2526	konsensus00024 len=56285 cov=27.2 corr=0 origname=NODE_24_length_56285_c ov_27.203243 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	7791..10316
MBL-fold metallo-hydrolase	CP023388	Candidate phylogroup B2 specific marker	99.62	1044 / 1044	konsensus00015 len=134773 cov=28.2 corr=0 origname=NODE_15_length_134773_cov_28.209636 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	46329..47372
mdfA	NZ_AP021963	Multidrug transporter	99.76	1233 / 1233	konsensus00001 len=468645 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_1_length_468645_c	132749..133981

					ov_27.471300 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	
mdtH	CP019777	Multidrug resistance protein	99.42	1209 / 1209	konsensus00001 len=468645 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_1_length_468645_c ov_27.471300 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	380844..382 052
mkaC	CYAE01000 010	LysR family transcriptional regulator. The intracellular growth and virulence of Salmonella serovar Typhimurium for mice is dependent on a plasmid- borne gene cluster termed mka.	97.24	579 / 579	konsensus00012 len=158992 cov=27.2 corr=0 origname=NODE_12_length_158992_ cov_27.155620 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	107512..108 090
mviM	CU928164	Putative virulence factor	96.65	924 / 924	konsensus00001 len=468645 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_1_length_468645_c ov_27.471300 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	383532..384 455
nfaB/daf aB	AF325672	Escherichia coli diffuse adherence fibrillar adhesin gene	100	481 / 744	konsensus00089 len=481 cov=57.1 corr=0 origname=NODE_89_length_481_cov _57.072973 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	1..481
nikA	CU928163	Nickel-binding periplasmic protein	97.52	1575 / 1575	konsensus00008 len=191224 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_8_length_191224_c ov_27.310701 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	138511..140 085
nlpD- lipoprot ein	NC_017634	NlpD links cell wall remodeling and outer membrane invagination during cytokinesis in Escherichia coli	99.74	1140 / 1140	konsensus00015 len=134773 cov=28.2 corr=0 origname=NODE_15_length_134773_ cov_28.209636 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	49374..5051 3
ompA	NC_008253	Outer membrane protein A	95.73	1053 / 1041	konsensus00001 len=468645 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_1_length_468645_c	289640..290 692

					ov_27.471300 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	
papA	ADTO01000 233	Pap fimbrial major pilin protein. Strains of E.coli that cause infection of the human urinary tract produce pap- pili which are hair-like appendages consisting of about 1000 helically arranged subunits of the protein PapA.	99.69	324 / 324	konsensus00054 len=2955 cov=24.4 corr=0 origname=NODE_54_length_2955_co v_24.370253 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	2271..2594
papA	CP001671	Pap fimbrial major pilin protein. Strains of E.coli that cause infection of the human urinary tract produce pap- pili which are hair-like appendages consisting of about 1000 helically arranged subunits of the protein PapA.	99.63	270 / 270	konsensus00054 len=2955 cov=24.4 corr=0 origname=NODE_54_length_2955_co v_24.370253 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	2591..2860
papC	NC_008253	The papC gene of uropathogenic Escherichia coli is required for the formation of digalactoside-binding Pap pili.	95.25	2316 / 2649	konsensus00010 len=181023 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_10_length_181023_ cov_27.434427 sw=shovill- spades/1.1.0 date=20230425	112..2427
papI	CU928164	Escherichia coli PapI, a key regulator of the pap pili phase variation	99.57	234 / 234	konsensus00054 len=2955 cov=24.4 corr=0 origname=NODE_54_length_2955_co v_24.370253 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	1132..1365
papX	NC_022648	PapX, a P fimbrial operon-encoded inhibitor of motility in uropathogenic Escherichia coli.	100	552 / 552	konsensus00063 len=1259 cov=25.1 corr=0 origname=NODE_63_length_1259_co v_25.118978 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	257..808
ppk	CP025268	Polyphosphate kinase	98.55	2067 / 2067	konsensus00007 len=239893 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_7_length_239893_c ov_27.384645 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	131161..133 227

recG	CP019455	RecG catalyzes reversal of stalled replication forks in response to replication stress in bacteria.	97.35	2072 / 2082	konsensus00009 len=185513 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_9_length_185513_cov_27.351927 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	25188..27259
AM375_25420	CP021722	restriction endonuclease	97.15	2071 / 2076	konsensus00028 len=38758 cov=26.9 corr=0 origname=NODE_28_length_38758_cov_26.875049 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	22682..24752
rpiR	NC_011750	DNA-binding transcriptional repressor RpiR, involved in rpiB and als operon repression, positive. Positive in EPEC absent in EHEC	99.33	891 / 891	konsensus00026 len=47488 cov=27.2 corr=0 origname=NODE_26_length_47488_cov_27.194757 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	6415..7305
sapA	NC_011751	Antimicrobial peptide ABC transporter substrate-binding protein [Escherichia coli UMN026]	97.14	1644 / 1644	konsensus00005 len=324510 cov=26.9 corr=0 origname=NODE_5_length_324510_cov_26.850163 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	137437..139080
sat	HG941718	Secreted autotransporter toxin (Jang et al.) is a 107-kDa serine protease autotransporter of Enterobacteriaceae (SPATE) presenting cytotoxic activity in renal and bladder cells.	100	3888 / 3888	konsensus00034 len=26527 cov=27.1 corr=0 origname=NODE_34_length_26527_cov_27.062349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	10796..14683
sbmC (DNA Gyrase inhibitor)	CP027060	sbmC, a stationary-phase induced SOS Escherichia coli gene, whose product protects cells from the DNA replication inhibitor microcin B17	97.05	474 / 474	konsensus00031 len=30665 cov=25.3 corr=0 origname=NODE_31_length_30665_cov_25.305197 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	2366..2839
shiA	NC_011751	shiA, suppress the host inflammatory response	98.94	1317 / 1317	konsensus00029 len=33769 cov=26.3 corr=0 origname=NODE_29_length_33769_cov_26.269386 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	1213..2529

sitA	ADUG01000044	In E. coli SitABCD represents a manganese and iron transporter	99.45	915 / 915	konsensus00005 len=324510 cov=26.9 corr=0 origname=NODE_5_length_324510_cov_26.850163 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	320137..321051
sitB	NC_017659	In E. coli SitABCD represents a manganese and iron transporter	98.3	825 / 825	konsensus00005 len=324510 cov=26.9 corr=0 origname=NODE_5_length_324510_cov_26.850163 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	321054..321878
sitC	CP000836	In E. coli SitABCD represents a manganese and iron transporter	98.95	858 / 858	konsensus00005 len=324510 cov=26.9 corr=0 origname=NODE_5_length_324510_cov_26.850163 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	321875..322732
sitD	UGFR01000001	In E. coli SitABCD represents a manganese and iron transporter	97.32	858 / 858	konsensus00005 len=324510 cov=26.9 corr=0 origname=NODE_5_length_324510_cov_26.850163 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	322729..323586
Slp-lipoprotein	NZ_NLYY01000004	The Escherichia coli O157:H7 carbon starvation-inducible lipoprotein Slp contributes to initial adherence in vitro via the human polymeric immunoglobulin receptor. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216791	99.12	567 / 567	konsensus00008 len=191224 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_8_length_191224_cov_27.310701 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	169881..170447
stcD (Fimbrial adhesin)	NC_018658	Putative fimbrial-like adhesin protein gene	97.58	1035 / 1035	konsensus00013 len=155515 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_13_length_155515_cov_27.472903 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	74514..75548
sugE	CP018976	Quaternary ammonium compound-resistance SugE	98.43	318 / 318	konsensus00011 len=164192 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_11_length_164192_	19841..20158

					cov_27.447413 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	
tagB	MH899681	TagB, TagC (tandem autotransportør genes B and C), and Sha (Serine-protease hemagglutinin autotransportør) are recently described members of the SPATE (serine protease autotransportørs of Enterobacteriaceae) family. These SPATEs can cause cytopathic effects on bladder cells and contribute to urinary tract infection in a mouse model.	99.32	3837 / 3837	konsensus00030 len=30907 cov=26.5 corr=0 origname=NODE_30_length_30907_c ov_26.482530 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	25470..29306
tagC	MH899681	TagB, TagC (tandem autotransportør genes B and C), and Sha (Serine-protease hemagglutinin autotransportør) are recently described members of the SPATE (serine protease autotransportørs of Enterobacteriaceae) family. These SPATEs can cause cytopathic effects on bladder cells and contribute to urinary tract infection in a mouse model.	99.72	3969 / 3969	konsensus00030 len=30907 cov=26.5 corr=0 origname=NODE_30_length_30907_c ov_26.482530 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	18658..22626
tehA	CP027060	Tellurite resistance protein TehA	99.09	993 / 993	konsensus00005 len=324510 cov=26.9 corr=0 origname=NODE_5_length_324510_c ov_26.850163 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	51446..52438
tehB	CP027060	Tellurite resistance protein TehB	97.98	594 / 594	konsensus00005 len=324510 cov=26.9 corr=0 origname=NODE_5_length_324510_c ov_26.850163 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	50856..51449

TEM1B	LN735560	TEM-1 is the most commonly encountered β -lactamase in Gram-negative bacteria. Up to 90% of ampicillin resistance in <i>E. coli</i> is due to the production of TEM-1.	100	861 / 861	konsensus00021 len=80393 cov=75.1 corr=0 origname=NODE_21_length_80393_c ov_75.138051 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	330..1190
terC	NC_000913	Tellurite resistance protein TerC	97.51	964 / 966	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_c ov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	197169..198 132
tnpA iSEcp1- transpos ase	NC_014384	Typically associated with CMY-type β -lactamases	100	1266 / 1266	konsensus00019 len=93357 cov=44.4 corr=0 origname=NODE_19_length_93357_c ov_44.427965 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	13920..1518 5
tonB	CP027060	TonB is a component of the energy transducing Ton system	97.22	720 / 720	konsensus00005 len=324510 cov=26.9 corr=0 origname=NODE_5_length_324510_c ov_26.850163 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	189785..190 501
traT	NZ_CP0322 05	Complement resistance protein	99.73	732 / 732	konsensus00021 len=80393 cov=75.1 corr=0 origname=NODE_21_length_80393_c ov_75.138051 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	22605..2333 6
usp	CU651637	The <i>E. coli</i> uropathogenic specific protein (Usp) is a genotoxin active against mammalian cells and is associated with strains that provoke prostatitis, pyelonephritis and bacteraemia	95.52	1784 / 1782	konsensus00006 len=295240 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_6_length_295240_c ov_27.371743 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	184955..186 736
vpeC	FJ999998	putative PTS system, specific IIC component. The locus designated vpe (virulence-associated	99.84	1257 / 1257	konsensus00033 len=28765 cov=27.5 corr=0 origname=NODE_33_length_28765_c	7902..9158

		phosphotransferase) contains the vpeA, vpeB, and vpeC genes			ov_27.526837 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	
ybbP (putative ABC-transporter permease)	NC_011751	YbbP is the predicted membrane-spanning subunit of a putative ATP-binding cassette (ABC) exporter complex	96.19	2416 / 2415	konsensus00003 len=409303 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_3_length_409303_c ov_27.429593 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	199867..20281
ybtA	CP028714	Yersiniabactin transcriptional regulator	99.58	960 / 960	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_c ov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	25509..26468
ybtQ	CP003034	Yersiniabactin-iron ABC transporter permease ATP-binding protein YbtQ	99.67	1803 / 1803	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_c ov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	28424..30226
ybtS	NC_007946	Yersiniabactin biosynthesis salicylate synthase	99.77	1305 / 1305	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_c ov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	31527..32831
ybtX	CP003034	Yersiniabactin-iron transporter permease YbtX	99.45	1281 / 1281	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_c ov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	30219..31499
ychO (Autotransporter adhesin)	NC_009801	ychO plays a role in the pathogenicity of APEC strain SEPT362. The ychO gene is highly expressed in the lungs and spleen during in vivo infection assays by strain SEPT362. doi: 10.1186/s12866-016-0654-2	97.71	1395 / 1395	konsensus00005 len=324510 cov=26.9 corr=0 origname=NODE_5_length_324510_c ov_26.850163 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	231394..232788

ydeR	CU928163	Two genes of the F9 operon, ydeQ and ydeR, were increased 2.2-fold with bile treatment. doi: 10.1371/journal.pone.0074647	98.61	504 / 504	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_cov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	441915..442418
yeeR	CP006632	CP4-44 prophage, inner membrane protein YeeR	98.93	2523 / 2523	konsensus00038 len=18637 cov=29.3 corr=0 origname=NODE_38_length_18637_cov_29.347458 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	15891..18413
yfaL	CP019455	Autotransportør in the AIDA-I family. Its overexpression induce aggregation of cells without a detrimental effect.	98.38	3765 / 3765	konsensus00010 len=181023 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_10_length_181023_cov_27.434427 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	105639..109403
yfcV	NZ_AAJU02000033	Any two of the genes chuA (heme receptor), yfcV (YfC fimbria) or vat (vacuolating autotransportør protein), when detected along with the gene fyuA (yersiniabactin siderophore receptor), can be used to differentiate UPEC strains from commensal and DEC strains	96.47	567 / 567	konsensus00007 len=239893 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_7_length_239893_cov_27.384645 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	531..1097
yfdV (transpo rter gene)	NC_011750	Predicted transporter. The EvgA acid response regulator activates transcription of the Escherichia coli yfdXWUVE operon	98.62	945 / 945	konsensus00007 len=239893 cov=27.4 corr=0 origname=NODE_7_length_239893_cov_27.384645 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	22811..23755
SsIE (YghJ)	NZ_ANYH01000066.1	lipoprotein metalloprotease SsIE. A wide range of pathogenic E. coli strains, and some commensals, use a Vibrio-like type II secretion system (T2SS) to translocate the protein SsIE across their outer membrane and onto their extracellular surface. SsIE is	99.91	4557 / 4557	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_cov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	49012..53568

		required for full virulence in a rabbit model of EPEC infection				
yjaA	CP021288	YjaA is involved in the cellular response to hydrogen peroxide and acid stress	99.74	384 / 384	konsensus00043 len=12100 cov=28.0 corr=0 origname=NODE_43_length_12100_cov_28.030028 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	11539..11922
yjcH	NC_000913	APEC acs-yjcH-actP operon, encoding acetate assimilation system, presented the host-induced transcription during its proliferation in macrophages.	97.14	315 / 315	konsensus00018 len=106125 cov=27.6 corr=0 origname=NODE_18_length_106125_cov_27.564680 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	24942..25256
YqgB (putative virulence promoting factor)	CP023258	Gene of unknown class or function significantly induced by AI-2 quorum signaling	100	147 / 147	konsensus00012 len=158992 cov=27.2 corr=0 origname=NODE_12_length_158992_cov_27.155620 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	131971..132117
zntA	AP010958	Zinc/cadmium/lead-transporting P-type ATPase.	95.82	2199 / 2199	konsensus00008 len=191224 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_8_length_191224_cov_27.310701 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	131291..133489
znuA	BA000007	Protein associated with the high-affinity ATP-binding cassette ZnuABC transporter	98.39	933 / 933	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_cov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	134461..135393
znuB	NC_000913	Protein associated with the high-affinity ATP-binding cassette ZnuABC transporter	97.2	786 / 786	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_cov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	132845..133630

znuC	NC_000913	Protein associated with the high-affinity ATP-binding cassette ZnuABC transporter	98.02	756 / 756	konsensus00002 len=452222 cov=26.8 corr=0 origname=NODE_2_length_452222_c ov_26.795199 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	133627..134 382
zupT	CP027060	Zinc transporter	95.74	774 / 774	konsensus00004 len=374428 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_4_length_374428_c ov_27.288349 sw=shovill-spades/1.1.0 date=20230425	143079..143 852

Vedlegg 17. Resultater fra VFDB for prøve MJØSA10-*Pseu-E*.

Tabell 60. Viktige virulensgener identifisert hos prøve MJØSA10-*Pseu-E* ved hjelp av «Virulence Factor Database (VFDB)».

Virulensgen	Identitet (%)	Coverage	Coverage (%)	Kommentar	Accession
alg44	99.66	1-1170/1170	100.00	(alg44) alginate biosynthesis protein Alg8 [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252232
alg8	99.66	1-1485/1485	100.00	(alg8) alginate-c5-mannuronan-epimerase AlgG [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252231
algA	99.65	1-1446/1446	100.00	(algA) phosphomannose isomerase / guanosine 5'-diphospho-D-mannose pyrophosphorylase [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252241
algB	99.56	1-1350/1350	100.00	(algB) two-component response regulator AlgB [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_254170
algC	99.35	1-1392/1392	100.00	(algC) phosphomannomutase AlgC [Alginate biosynthesis (CVF522)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_254009
algD	99.69	1-1311/1311	100.00	(algD) GDP-mannose 6-dehydrogenase AlgD [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252230
algE	99.46	1-1473/1473	100.00	(Moremi et al.) alginate biosynthetic protein AlgK precursor [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252234
algF	99.39	1-651/651	100.00	(algF) alginate o-acetyltransferase AlgF [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252240
algG	99.57	1-1632/1632	100.00	(algG) outer membrane protein AlgE [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252235
algI	99.55	1-1563/1563	100.00	(algI) alginate o-acetyltransferase AlgI [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252238
algJ	99.66	1-1176/1176	100.00	(algJ) alginate o-acetyltransferase AlgJ [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252239
algK	99.58	1-1428/1428	100.00	(algK) alginate biosynthesis protein Alg44 [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252233
algL	99.46	1-1104/1104	100.00	(algL) poly(β -d-mannuronate) lyase precursor AlgL [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252237
algP/algR3	93.86	1-1059/1059	97.73	(algP/algR3) alginate regulatory protein AlgP [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253940

algQ	99.17	1-483/483	100.00	(algQ) Alginate regulatory protein AlgQ [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253942
algR	99.60	1-747/747	100.00	(algR) alginate biosynthesis regulatory protein AlgR [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253948
algU	99.14	1-582/582	100.00	(algU) alginate biosynthesis protein AlgZ/FimS [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249453
algW	98.80	1-1170/1170	100.00	(algW) AlgW protein [Alginate regulation (CVF523)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253136
algX	99.44	1-1425/1425	100.00	(algX) alginate biosynthesis protein AlgX [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252236
algZ	99.54	1-1077/1077	100.00	(algZ) sigma factor AlgU [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253949
aprA	99.31	1-1440/1440	100.00	(aprA) alkaline metalloproteinase precursor [Alkaline protease (VF0090)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249940
chpA	98.66	1-7419/7419	99.92	(chpA) still frameshift probable component of chemotactic signal transduction system [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249104
chpB	98.84	1-1032/1032	100.00	(chpB) probable methylesterase [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249105
chpC	99.01	1-507/507	100.00	(chpC) probable chemotaxis protein [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249106
chpD	99.50	1-795/795	100.00	(chpD) probable transcriptional regulator [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249107
chpE	99.02	1-612/612	100.00	(chpE) probable chemotaxis protein [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249108
clpV1	99.37	1-2709/2709	100.00	(clpV1) type VI secretion system AAA+ family ATPase [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248780
dotU1	99.78	1-1350/1350	100.00	(dotU1) type VI secretion system protein DotU [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248768
exoT	99.64	1-1374/1374	100.00	(exoT) type III secretion system effector ExoT ADP ribosyltransferase activity and GTPase-activating protein activity [ExoT (VF0097)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248734
exoU	100.00	1-2064/2064	100.00	(exoU) type III secretion system effector ExoU phospholipase A2 activity [ExoU (VF0098)] [Pseudomonas aeruginosa PA103]	AAC16023

exoY	97.71	1-1137/1137	98.86	(exoY) type III secretion system effector ExoY adenylate cyclase [ExoY (VF0099)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250881
exsA	99.64	1-837/837	100.00	(exsA) type III secretion system regulatory protein ExsA [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250404
exsB	97.83	1-414/414	100.00	(exsB) type III secretion system pilolitin ExsB [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250403
exsC	98.17	1-438/438	100.00	(exsC) type III secretion system regulatory protein ExsC [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250401
exsD	99.04	1-831/831	100.00	(exsD) type III secretion system regulatory protein ExsD [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250405
exsE	97.15	1-246/246	100.00	(exsE) type III secretion system regulatory protein ExsE [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250402
fha1	98.27	1-1494/1494	100.00	(fha1) type VI secretion system forkhead-associated protein Fha1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248771
fimT	98.82	1-510/510	100.00	(fimT) type 4 fimbrial biogenesis protein FimT [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253239
fimU	99.41	1-507/507	100.00	(fimU) type 4 fimbrial biogenesis protein FimU [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253240
fimV	98.41	1-2760/2760	100.00	(fimV) putative Type IV pili related protein [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251805
fleN	99.53	1-843/843	100.00	(fleN) flagellar synthesis regulator FleN [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250145
fleQ	99.12	1-1473/1473	100.00	(fleQ) transcriptional regulator FleQ [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249788
fleR	98.94	1-1422/1422	99.58	(Oepen et al.) two-component response regulator [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249790
fleS	99.09	1-1209/1209	100.00	(fleS) two-component sensor [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249789
flgA	98.86	1-699/699	100.00	(flgA) flagellar basal body P-ring biosynthesis protein FlgA [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252040
flgB	99.75	1-408/408	100.00	(flgB) flagellar basal body rod protein FlgB [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249768

flgC	100.00	1-441/441	100.00	(flgC) flagellar basal-body rod protein FlgC [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249769
flgD	99.16	1-714/714	100.00	(flgD) flagellar basal-body rod modification protein FlgD [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249770
flgE	98.49	1-1389/1389	100.00	(flgE) flagellar hook protein FlgE [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249771
flgF	98.93	1-750/750	100.00	(flgF) flagellar basal-body rod protein FlgF [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249772
flgG	99.36	1-786/786	100.00	(flgG) flagellar basal-body rod protein FlgG [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249773
flgH	98.85	1-696/696	100.00	(flgH) flagellar L-ring protein precursor FlgH [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249774
flgI	99.55	1-1110/1110	100.00	(flgI) flagellar P-ring protein precursor FlgI [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249775
flgJ	98.92	1-1203/1203	100.00	(flgJ) flagellar rod assembly protein/muramidase FlgJ [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249776
flgK	86.62	1-2052/2052	99.71	(flgK) flagellar hook-associated protein 1 FlgK [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249777
flgM	98.46	1-324/324	100.00	(flgM) negative regulator of flagellin synthesis [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252041
flgN	98.30	1-471/471	100.00	(flgN) flagella synthesis protein FlgN [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252042
flhA	99.15	1-2124/2124	100.00	(flhA) flagellar biosynthesis protein FlhA [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250143
flhB	99.65	1-1137/1137	100.00	(flhB) flagellar biosynthetic protein FlhB [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250140
flhF	99.53	1-1290/1290	100.00	(flhF) flagellar biosynthesis protein FlhF [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250144
fliA	99.73	1-744/744	100.00	(fliA) flagellar biosynthesis sigma factor FliA [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250146
fliE	99.70	1-330/330	100.00	(fliE) flagellar hook-basal body complex protein FliE [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249791

fliF	99.44	1-1797/1797	100.00	(fliF) flagellar M-ring protein FliF [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249792
fliG	99.70	1-1017/1017	100.00	(fliG) flagellar motor switch protein G [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249793
fliH	99.26	1-807/807	100.00	(fliH) flagellar assembly protein H [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249794
fliI	98.97	1-1356/1356	100.00	(fliI) flagellum-specific ATP synthase FliI [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249795
fliJ	98.87	1-444/444	100.00	(fliJ) flagellar protein FliJ [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249796
fliK	98.68	1-1284/1284	100.00	(fliK) flagellar hook-length control protein FliK [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250132
fliL	99.62	1-522/522	100.00	(fliL) flagellar basal body protein FliL [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250133
fliM	99.90	1-972/972	100.00	(fliM) flagellar motor switch protein FliM [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250134
fliN	99.37	1-474/474	100.00	(fliN) flagellar motor switch protein FliN [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250135
fliO	98.90	1-453/453	100.00	(fliO) flagellar protein FliO [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250136
fliP	99.61	1-768/768	100.00	(fliP) flagellar biosynthetic protein FliP [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250137
fliQ	99.63	1-270/270	100.00	(fliQ) flagellar biosynthetic protein FliQ [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250138
fliR	98.96	1-772/777	99.36	(fliR) flagellar biosynthetic protein FliR [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250139
fptA	99.68	1-2163/2163	100.00	(fptA) Fe(Sabri et al.)-pyochelin receptor precursor [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252911
hcp1	100.00	1-489/489	100.00	(hcp1) type VI secretion system substrate Hcp1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248775
hsiA1	98.45	1-1035/1035	100.00	(hsiA1) type VI secretion system hcp secretion island protein HsiA1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248772
hsiB1/vipA	99.81	1-519/519	100.00	(hsiB1/vipA) type VI secretion system tubule-forming protein VipA [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248773

hsiC1/vipB	99.53	1-1497/1497	100.00	(hsiC1/vipB) type VI secretion system tubule-forming protein VipB [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248774
hsiE1	98.94	1-846/846	100.00	(hsiE1) type VI secretion system hcp secretion island protein HsiE1 interacting with HsiB1 to form a novel subcomplex of the T6SS [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248776
hsiF1	99.22	1-510/510	100.00	(hsiF1) type VI secretion system hcp secretion island protein HsiF1 a gp25-like protein but not exhibit lysozyme activity [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248777
hsiG1	99.14	1-1860/1860	100.00	(hsiG1) type VI secretion system hcp secretion island protein HsiG1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248778
hsiH1	99.52	1-1047/1047	100.00	(hsiH1) type VI secretion system hcp secretion island protein HsiH1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248779
hsiJ1	99.70	1-1335/1335	100.00	(hsiJ1) type VI secretion system hcp secretion island protein HsiJ1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248769
icmF1/tssM1	98.82	1-3306/3306	100.00	(icmF1/tssM1) type VI secretion system protein IcmF1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248767
lasA	98.01	1-1257/1257	100.00	(lasA) LasA protease precursor [LasA (VF0088)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250562
lasB	98.40	1-1497/1497	100.00	(lasB) elastase LasB [LasB (VF0087)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252413
lasI	100.00	1-606/606	100.00	(lasI) autoinducer synthesis protein LasI [Quorum sensing (VF0093)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250123
lip1	99.14	1-465/465	100.00	(lip1) lipoprotein [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248770
mbtH-like	100.00	1-219/219	100.00	(mbtH-like) MbtH-like protein from the pyoverdine cluster [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251102
motA	98.12	1-852/852	100.00	(Yazdanpour et al.) flagellar motor protein [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253641
motB	97.80	1-1044/1044	98.56	(motB) flagellar motor protein [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253640
motC	99.33	1-741/741	100.00	(motC) flagellar motor protein [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250151
motD	98.09	1-891/891	100.00	(motD) flagellar motor protein [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250152

motY	99.48	1-966/966	100.00	(motY) probable outer membrane protein precursor [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252216
mucA	99.14	1-585/585	100.00	(mucA) alkaline metalloproteinase precursor [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249454
mucB	99.05	1-951/951	100.00	(mucB) anti-sigma factor MucA inhibitor of alg gene expression [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249455
mucC	99.78	1-456/456	100.00	(mucC) negative regulator for alginate biosynthesis MucB [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249456
mucD	98.95	1-1425/1425	100.00	(mucD) serine protease MucD precursor [Alginate regulation (CVF523)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249457
mucE	98.15	1-270/270	100.00	(mucE) small envelope protein MucE [Alginate regulation (CVF523)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252722
mucP	98.82	1-1353/1353	100.00	(mucP) metalloprotease protease [Alginate regulation (CVF523)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252339
pchA	98.95	1-1431/1431	100.00	(pchA) salicylate biosynthesis isochorismate synthase PchA [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252921
pchB	100.00	1-306/306	100.00	(pchB) salicylate biosynthesis protein PchB [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252920
pchC	99.34	1-756/756	100.00	(pchC) pyochelin biosynthetic protein PchC [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252919
pchD	99.03	1-1644/1644	100.00	(pchD) pyochelin biosynthesis protein PchD [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252918
pchE	98.91	1-4317/4317	100.00	(pchE) dihydroaeruginosic acid synthetase PchE [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252916
pchF	98.88	1-5430/5430	100.00	(pchF) pyochelin synthetase PchF [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252915
pchG	99.05	1-1050/1050	100.00	(pchG) pyochelin biosynthetic protein PchG [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252914
pchH	98.89	1-1713/1713	100.00	(pchH) ABC transporter ATP-binding protein [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252913
pchI	98.90	1-1725/1725	100.00	(pchI) ABC transporter ATP-binding protein [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252912
pchR	98.77	1-891/891	100.00	(pchR) transcriptional regulator PchR [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252917

pcr1	98.23	1-279/279	100.00	(pcr1) type III secretion system protein Pcr1 [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250390
pcr2	98.92	1-372/372	100.00	(pcr2) type III secretion system protein Pcr2 [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250391
pcr3	98.63	1-366/366	100.00	(pcr3) type III secretion system protein Pcr3 [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250392
pcr4	99.70	1-330/330	100.00	(pcr4) type III secretion system protein Pcr4 [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250393
pcrD	99.06	1-2121/2121	100.00	(pcrD) type III secretion system protein PcrD [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250394
pcrG	99.66	1-297/297	100.00	(pcrG) type III secretion system cytoplasmic regulator PcrG [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250396
pcrH	99.01	1-504/504	100.00	(pcrH) type III secretion system regulatory protein PcrH [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250398
pcrR	99.08	1-435/435	100.00	(pcrR) type III secretion system regulatory protein PcrR [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250395
pcrV	98.76	1-885/885	100.00	(pcrV) type III secretion system hydrophilic translocator needle tip protein PcrV [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250397
phzA1	99.39	1-489/489	100.00	(phzA1) phenazine biosynthesis protein PhzA [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252899
phzA1	95.48	47-489/489	90.59	(phzA1) phenazine biosynthesis protein PhzA [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252899
phzB1	99.18	1-489/489	100.00	(phzB1) phenazine biosynthesis protein PhzB [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252900
phzB1	89.89	55-489/489	88.96	(phzB1) phenazine biosynthesis protein PhzB [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252900
phzD1	99.42	104-624/624	83.49	(phzD1) phenazine biosynthesis protein PhzD isochorismatase [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252902
phzH	99.34	1-1833/1833	100.00	(phzH) phenazine-modifying enzyme [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248741
phzM	99.10	1-1005/1005	100.00	(phzM) phenazine-specific methyltransferase PhzM (adenosylmethionine dependent methyltransferase) [Pyocyanin (VF0100)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252898
phzS	98.51	1-1209/1209	100.00	(phzS) flavin dependent hydroxylase PhzS [Pyocyanin (VF0100)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252907

pilB	88.42	1-1701/1701	100.00	(pilB) type 4 fimbrial biogenesis protein PilB [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253216
pilE	99.53	1-426/426	100.00	(pilE) type 4 fimbrial biogenesis protein PilE [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253246
pilF	98.95	1-759/759	100.00	(pilF) type 4 fimbrial biogenesis protein PilF [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252494
pilG	100.00	1-408/408	100.00	(pilG) twitching motility protein PilG [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249099
pilH	99.73	1-366/366	100.00	(pilH) twitching motility protein PilH [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249100
pilI	99.81	1-537/537	100.00	(pilI) twitching motility protein PilI [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249101
pilJ	99.46	1-2049/2049	100.00	(pilJ) twitching motility protein PilJ [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249102
pilK	99.43	1-876/876	100.00	(pilK) methyltransferase PilK [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249103
pilM	99.81	1-1065/1065	100.00	(pilM) type IV pilus inner membrane platform protein PilM [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253731
pilN	99.67	1-597/597	100.00	(pilN) type IV pilus inner membrane platform protein PilN [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253730
pilO	99.52	1-624/624	100.00	(pilO) type IV pilus inner membrane platform protein PilO [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253729
pilP	99.05	1-525/525	100.00	(pilP) type IV pilus biogenesis protein PilP [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253728
pilQ	97.44	1-2145/2145	100.00	(pilQ) type 4 fimbrial biogenesis protein PilQ [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253727
pilR	99.33	1-1338/1338	100.00	(pilR) two-component response regulator PilR [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253237
pilS	99.56	1-1593/1593	100.00	(pilS) two-component sensor PilS [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253236
pilT	99.61	1-1035/1035	100.00	(pilT) twitching motility protein PilT [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249086
pilU	99.74	1-1149/1149	100.00	(pilU) twitching motility protein PilU [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249087

pilV	98.92	1-558/558	100.00	(pilV) type IV pilus biogenesis protein PilV [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253241
pilW	98.79	1-825/825	100.00	(pilW) type IV fimbrial biogenesis protein PilW [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253242
pilX	99.15	1-588/588	100.00	(pilX) type 4 fimbrial biogenesis protein PilX [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253243
pilY1	94.18	1-3486/3486	99.43	(pilY1) type 4 fimbrial biogenesis protein PilY1 [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253244
pilY2	99.42	1-348/348	100.00	(pilY2) type 4 fimbrial biogenesis protein PilY2 [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253245
plcH	99.59	1-2193/2193	100.00	(plcH) hemolytic phospholipase C precursor [PLC (VF0092)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249535
popB	99.49	1-1173/1173	100.00	(popB) type III secretion system hydrophobic translocator pore protein PopB [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250399
popD	98.09	1-888/888	100.00	(popD) type III secretion system hydrophobic translocator pore protein PopD [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250400
popN	99.54	1-867/867	100.00	(popN) type III secretion system outer membrane protein PopN [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250389
ppkA	99.61	1-3099/3099	100.00	(ppkA) serine/threonine protein kinase PpkA [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248764
pppA	99.45	1-729/729	100.00	(pppA) Pseudomonas protein phosphatase PppA [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248765
pscB	99.29	1-423/423	100.00	(pscB) type III secretion system protein PscB [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250406
pscC	99.39	1-1803/1803	100.00	(pscC) type III secretion system secretin PscC [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250407
pscD	98.92	1-1299/1299	100.00	(pscD) type III secretion system basal body protein PscD [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250408
pscE	97.55	1-204/204	100.00	(pscE) type III secretion system cochaperone PscE for PscG [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250409
pscF	100.00	1-258/258	100.00	(pscF) type III secretion system needle filament protein PscF [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250410
pscG	99.42	1-348/348	100.00	(pscG) type III secretion system chaperone PscG for PscF [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250411

pscH	99.54	1-432/432	100.00	(pscH) type III secretion system protein PscH [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250412
pscI	99.41	1-339/339	100.00	(pscI) type III secretion system inner rod protein PscI [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250413
pscJ	99.47	1-747/747	100.00	(pscJ) type III secretion system inner MS ring protein [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250414
pscK	98.72	1-627/627	99.04	(pscK) type III secretion system protein PscK [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250415
pscL	98.92	1-645/645	100.00	(pscL) type III secretion systemt protein PscL [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250416
pscN	98.72	1-1323/1323	100.00	(pscN) type III secretion system ATPase PscN [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250388
pscO	99.16	1-477/477	100.00	(pscO) type III secretion system protein PscO [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250387
pscP	96.91	1-1110/1110	100.00	(pscP) type III secretion system protein PscP [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250386
pscQ	98.92	1-930/930	100.00	(pscQ) type III secretion system protein PscQ [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250385
pscR	99.54	1-654/654	100.00	(pscR) type III secretion system protein PscR [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250384
pscS	100.00	1-267/267	100.00	(pscS) type III secretion system protein PscS [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250383
pscT	99.24	1-789/789	100.00	(pscT) type III secretion system protein PscT [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250382
pscU	98.86	1-1050/1050	100.00	(pscU) type III secretion system protein PscU [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250381
ptxR	98.62	1-939/939	100.00	(ptxR) transcriptional regulator PtxR [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250948
pvcA	99.39	1-987/987	100.00	(pvcA) paerucumarin biosynthesis protein PvcA [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250944
pvcB	99.20	1-876/876	100.00	(pvcB) paerucumarin biosynthesis protein PvcB [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250945
pvcC	99.14	1-1503/1503	100.00	(pvcC) paerucumarin biosynthesis protein PvcC [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250946

pvcD	98.30	1-647/648	99.85	(pvcD) paerucumarin biosynthesis protein PvcD [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250947
pvdA	83.56	1-1332/1332	100.00	(pvdA) L-ornithine N5-oxygenase PvdA [Pyoverdine (VF0094)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251076
pvdF	82.25	1-828/828	100.00	(pvdF) pyoverdine synthetase F [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251086
pvdG	99.08	1-765/765	100.00	(pvdG) pyoverdine biosynthesis protein PvdG [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251115
pvdH	99.50	1-1410/1410	100.00	(pvdH) diamminobutyrate-2-oxoglutarate aminotransferase PvdH [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251103
pvdL	98.91	1-13029/13029	100.00	(pvdL) peptide synthase PvdL [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251114
pvdM	94.15	1-1347/1347	99.78	(pvdM) dipeptidase precursor [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251083
pvdN	99.14	1-1284/1284	100.00	(pvdN) pyoverdine biosynthesis protein PvdN [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251084
pvdO	98.36	1-855/855	100.00	(pvdO) pyoverdine biosynthesis protein PvdO [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251085
pvdP	84.97	1-1635/1635	99.82	(pvdP) tyrosinase required for pyoverdine maturation [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251082
pvdQ	99.52	1-2289/2289	100.00	(pvdQ) 3-oxo-C12-homoserine lactone acylase PvdQ [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251075
pvdS	98.05	1-564/564	100.00	(pvdS) extracytoplasmic-function sigma-70 factor [Pyoverdine (VF0094)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251116
rhlA	99.66	1-888/888	100.00	(rhlA) rhamnolipid transferase chain A [Rhamnolipid (VF0089)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252169
rhlB	99.69	1-1281/1281	100.00	(rhlB) rhamnolipid transferase chain B [Rhamnolipid (VF0089)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252168
rhlC	98.88	1-978/978	100.00	(rhlC) rhamnolipid transferase 2 [Rhamnolipid biosynthesis (CVF524)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249821
rhlI	98.84	1-606/606	100.00	(rhlI) autoinducer synthesis protein RhlI [Quorum sensing (VF0093)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252166
tagF/pppB	98.68	1-681/681	100.00	(tagF/pppB) Pseudomonas protein phosphatase PppB [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248766

tagQ	98.14	1-915/915	100.00	(tagQ) type VI secretion associated protein TagQ outer membrane lipoprotein [HSI-1 (Hcp-secretion island 1) (SS178)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248760
tagR	99.42	1-1713/1713	100.00	(tagR) type IV secretion associated protein TagR positively regulates PpkA [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248761
tagS	98.67	1-1200/1200	100.00	(tagS) type IV secretion associated protein TagS forming a stable inner membrane complex with TagT [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248762
tagT	98.06	1-720/720	100.00	(tagT) type six secretion associated protein TagT ATP-binding component of ABC transporter [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248763
toxA	99.22	1-1916/1917	99.95	(toxA) exotoxin A precursor [ExoA (VF0086)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249839
tse1	99.78	1-465/465	100.00	(tse1) type VI secretion system effector Tse1 peptidoglycanhydrolase [HSI-1 (Hcp-secretion island 1) (SS178)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250535
tse2	99.16	1-477/477	100.00	(tse2) type VI secretion system effector Tse2 [HSI-1 (Hcp-secretion island 1) (SS178)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251392
tse3	99.27	1-1227/1227	100.00	(tse3) type VI secretion system effector Tse3 glycoside hydrolase [HSI-1 (Hcp-secretion island 1) (SS178)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252174
vgrG1a	99.59	1-1932/1932	100.00	(vgrG1a) type VI secretion system substrate VgrG1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248781
vgrG1b	98.52	1-2226/2226	100.00	(vgrG1b) type VI secretion system substrate VgrG1b [HSI-1 (Hcp-secretion island 1) (SS178)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_248785
waaA	99.22	1-1278/1278	100.00	(waaA) lipopolysaccharide core biosynthesis protein WaaP [LPS (VF0085)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253675
waaC	99.53	1-1068/1068	100.00	(waaC) 3-deoxy-D-manno-octulosonic-acid (KDO) transferase [LPS (VF0085)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253698
waaF	99.61	1-1038/1038	100.00	(waaF) heptosyltransferase I [LPS (VF0085)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253699
waaG	99.55	1-1122/1122	100.00	(waaG) B-band O-antigen polymerase [LPS (VF0085)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253697
waaP	99.26	1-807/807	100.00	(waaP) UDP-glucose:(heptosyl) LPS alpha 13-glucosyltransferase WaaG [LPS (VF0085)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253696

xcpA/pilD	99.54	1-873/873	100.00	(xcpA/pilD) type 4 prepilin peptidase PilD [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253218
xcpP	100.00	1-708/708	100.00	(xcpP) secretion protein XcpP [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251794
xcpQ	92.67	1-1977/1977	99.85	(xcpQ) general secretion pathway protein D [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251795
xcpR	99.20	1-1509/1509	100.00	(xcpR) general secretion pathway protein E [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251793
xcpS	99.10	1-1218/1218	100.00	(xcpS) general secretion pathway protein F [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251792
xcpT	99.33	1-447/447	100.00	(xcpT) general secretion pathway protein G [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251791
xcpU	98.46	1-519/519	100.00	(xcpU) general secretion pathway protein H [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251790
xcpV	99.23	1-390/390	100.00	(xcpV) general secretion pathway protein I [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251789
xcpW	99.58	1-714/714	100.00	(xcpW) general secretion pathway protein J [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251788
xcpX	99.30	1-1002/1002	100.00	(xcpX) general secretion pathway protein K [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251787
xcpY	98.35	1-1149/1149	100.00	(xcpY) general secretion pathway protein L [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251786
xcpZ	99.43	1-525/525	100.00	(xcpZ) general secretion pathway protein M [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251785

Vedlegg 18. Resultater fra VFDB for FOSS2-Serr-E.

Tabell 61. Viktige virulensgener identifisert hos prøve FOSS2-Serr-E ved hjelp av Virulence Factor Database (VFDB).

Virulensgen	Identitet (%)	Coverage	Coverage (%)	Kommentar	Accession
fliG	81.77	1-993/993	100.00	(fliG) flagellar motor switch protein G [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081]	YP_001006742
fliM	81.21	1-1005/1005	99.90	(fliM) flagellar motor switch protein FliM [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081]	YP_001006748
fliP	80.27	8-686/687	98.84	(fliP) flagellar biosynthetic protein FliP [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081]	YP_001006751
flgG	80.40	7-654/654	99.08	(flgG) flagellar basal-body rod protein FlgG [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081]	YP_001006759
waaF	80.88	1-972/1038	93.55	(waaF) heptosyltransferase I [LPS (VF0085)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_253699
pvdS	85.74	1-512/564	90.78	(pvdS) extracytoplasmic-function sigma-70 factor [Pyoverdine (VF0094)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251116
flgG	82.33	8-782/786	97.84	(flgG) flagellar basal-body rod protein FlgG [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249773
flgH	81.96	52-694/696	92.39	(flgH) flagellar L-ring protein precursor FlgH [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249774
flgI	85.10	58-1110/1110	94.77	(flgI) flagellar P-ring protein precursor FlgI [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249775
fleQ	82.38	1-1473/1473	99.66	(fleQ) transcriptional regulator FleQ [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249788
fliG	85.57	1-1015/1017	99.71	(fliG) flagellar motor switch protein G [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249793
fliI	83.33	1-1245/1356	91.59	(fliI) flagellum-specific ATP synthase FliI [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249795
pilT	82.48	1-1035/1035	99.61	(pilT) twitching motility protein PilT [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249086
pilG	82.77	1-383/408	93.87	(pilG) twitching motility protein PilG [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249099
pilH	83.61	1-366/366	100.00	(pilH) twitching motility protein PilH [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249100

fliA	82.02	65-734/744	90.05	(fliA) flagellar biosynthesis sigma factor FliA [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250146
fleN	83.21	10-818/843	95.85	(fleN) flagellar synthesis regulator FleN [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250145
flhA	80.85	1-2114/2124	99.15	(flhA) flagellar biosynthesis protein FlhA [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250143
alg8	81.96	34-1485/1485	97.78	(alg8) alginate-c5-mannuronan-epimerase AlgG [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252231
algI	85.09	1-1274/1563	81.51	(algI) alginate o-acetyltransferase AlgI [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252238
algA	81.11	1-1403/1446	97.03	(algA) phosphomannose isomerase / guanosine 5'-diphospho-D-mannose pyrophosphorylase [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_252241
flgC	81.53	1-439/441	99.09	(flgC) flagellar basal-body rod protein FlgC [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_249769
bscN	81.52	1-1237/1335	92.51	(bscN) ATP synthase in type III secretion system [TTSS (VF0035)] [Bordetella pertussis Tohama I]	NP_880888
fliM	87.71	1-967/972	99.28	(fliM) flagellar motor switch protein FliM [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250134
fliN	81.33	28-474/474	91.14	(fliN) flagellar motor switch protein FliN [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250135
fliP	83.52	49-758/768	92.45	(fliP) flagellar biosynthetic protein FliP [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_250137
pvdH	83.38	7-1350/1410	95.25	(pvdH) diaminobutyrate-2-oxoglutarate aminotransferase PvdH [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251103
mbtH-like	83.25	1-203/219	92.69	(mbtH-like) MbtH-like protein from the pyoverdine cluster [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1]	NP_251102

Vedlegg 19. Resultater fra RESF for prøve FOSS9-*E. coli*-E

Tabell 62. Screening av hvilke antibiotikum prøve FOSS9-*E. coli*-E er resistent mot og ikke resistent mot ifølge databasen «Res Finder (RESF)».

Antibiotikum	Klasse	WGS-predicted phenotype	Genetisk bakgrunn
amikacin	aminoglykosid	No resistance	
amikacin	aminoglykosid	No resistance	
amoxicillin	β -lactam	Resistant	blaTEM-1B (blaTEM-1B_AY458016), blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
amoxicillin+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
ampicillin	β -lactam	Resistant	blaTEM-1B (blaTEM-1B_AY458016), blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
ampicillin+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
ampicillin+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
apramycin	aminoglykosid	No resistance	
arbekacin	aminoglykosid	No resistance	
astromicin	aminoglykosid	No resistance	
azithromycin	macrolide	No resistance	
azithromycin	macrolide	No resistance	
aztreonam	β -lactam	Resistant	blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
benzylkonium chloride	quaternary ammonium compound	No resistance	
bleomycin	aminoglykosid	No resistance	
butiromycin	aminoglykosid	No resistance	
butirosin	aminoglykosid	No resistance	
carbomycin	macrolide	No resistance	
cefepime	β -lactam	Resistant	blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
cefixime	β -lactam	No resistance	
cefotaxime	β -lactam	Resistant	blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
cefotaxime+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
cefoxitin	β -lactam	No resistance	
cefoxitin	β -lactam	No resistance	
ceftazidime	β -lactam	Resistant	blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
ceftazidime+avibactam	β -lactam	No resistance	
ceftiofur	under_development	No resistance	
ceftriaxone	β -lactam	Resistant	blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
cephalothin	β -lactam	Resistant	blaTEM-1B (blaTEM-1B_AY458016)
cephalotin	β -lactam	No resistance	
cetylpyridinium chloride	quaternary ammonium compound	No resistance	
chloramphenicol	amphenicol	No resistance	

chloramphenicol	amphenicol	No resistance	
chlorhexidine	quaternary ammonium compound	No resistance	
ciprofloxacin	quinolone	Resistant	gyrA (p.S83L)
clindamycin	lincosamide	No resistance	
colistin	polymyxin	No resistance	
colistin	polymyxin	No resistance	
dalfopristin	streptogramin a	No resistance	
dibekacin	aminoglykosid	No resistance	
doxycycline	tetracycline	No resistance	
ertapenem	β -lactam	No resistance	
ertapenem	β -lactam	No resistance	
erythromycin	macrolide	No resistance	
ethidium bromide	quaternary ammonium compound	No resistance	
florfenicol	amphenicol	No resistance	
fluoroquinolone	quinolone	No resistance	
formaldehyde	aldehyde	No resistance	
fortimicin	aminoglykosid	No resistance	
fosfomycin	fosfomycin	No resistance	
fosfomycin	fosfomycin	No resistance	
fusidic acid	steroid antibacterial	No resistance	
g418	aminoglykosid	No resistance	
gentamicin	aminoglykosid	No resistance	
gentamicin	aminoglykosid	No resistance	
gentamicin c	aminoglykosid	No resistance	
hydrogen peroxide	peroxide	Resistant	sitABCD (sitABCD_AY598030)
hygromycin	aminoglykosid	No resistance	
imipenem	β -lactam	No resistance	
imipenem	β -lactam	No resistance	
isepamicin	aminoglykosid	No resistance	
kanamycin	aminoglykosid	No resistance	
kanamycin a	aminoglykosid	No resistance	
kasugamycin	aminoglykosid	No resistance	
lincomycin	lincosamide	No resistance	
linezolid	oxazolidinone	No resistance	
lividomycin	aminoglykosid	No resistance	
meropenem	β -lactam	No resistance	
meropenem	β -lactam	No resistance	
metronidazole	nitroimidazole	No resistance	
minocycline	tetracycline	No resistance	
mupirocin	pseudomonic acid	No resistance	
nalidixic acid	quinolone	Resistant	gyrA (p.S83L)
neomycin	aminoglykosid	No resistance	
netilmicin	aminoglykosid	No resistance	
oleandomycin	macrolide	No resistance	
paromomycin	aminoglykosid	No resistance	
penicillin	β -lactam	No resistance	
piperacillin	β -lactam	Resistant	blaTEM-1B (blaTEM-1B_AY458016), blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)

piperacillin+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
piperacillin+tazobactam	β -lactam	No resistance	
piperacillin+tazobactam	β -lactam	No resistance	
pristinamycin ia	streptogramin b	No resistance	
pristinamycin iia	streptogramin a	No resistance	
quinupristin	streptogramin b	No resistance	
quinupristin+dalfopristin	streptogramin a	No resistance	
ribostamycin	aminoglykosid	No resistance	
rifampicin	rifamycin	No resistance	
sisomicin	aminoglykosid	No resistance	
spectinomycin	aminocyclitol	No resistance	
spiramycin	macrolide	No resistance	
streptomycin	aminoglykosid	No resistance	
sulfamethoxazole	folate pathway antagonist	No resistance	
sulfamethoxazole	folate pathway antagonist	No resistance	
teicoplanin	glycopeptide	No resistance	
telithromycin	macrolide	No resistance	
temocillin	β -lactam	No resistance	
temocillin	β -lactam	No resistance	
temperature	heat	No resistance	
tetracycline	tetracycline	No resistance	
tetracycline	tetracycline	No resistance	
tiamulin	pleuromutilin	No resistance	
ticarcillin	β -lactam	Resistant	blaTEM-1B (blaTEM-1B_AY458016), blaCTX-M-15 (blaCTX-M-15_AY044436)
ticarcillin+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
tigecycline	tetracycline	No resistance	
tigecycline	tetracycline	No resistance	
tobramycin	aminoglykosid	No resistance	
tobramycin	aminoglykosid	No resistance	
trimethoprim	folate pathway antagonist	No resistance	
trimethoprim	folate pathway antagonist	No resistance	
tylosin	macrolide	No resistance	
unknown aminoglykosid	aminoglykosid	No resistance	
unknown β -lactam	β -lactam	No resistance	
unknown quinolone	quinolone	No resistance	
vancomycin	glycopeptide	No resistance	
virginiamycin m	streptogramin a	No resistance	
virginiamycin s	streptogramin b	No resistance	

Vedlegg 20. Resultater fra RESF for prøve MJØSA10-*Pseu-E*

Tabell 63. Screening av hvilke antibiotikum prøve MJØSA10-*Pseu-E* er resistent mot og ikke resistent mot i følge databasen «Res Finder (RESF)».

Antibiotikum	Klasse	WGS-predicted phenotype	Genetisk bakgrunn
amikacin	aminoglykosid	No resistance	
amoxicillin	β -lactam	Resistant	blaPAO (blaPAO_AY083592)
amoxicillin+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
ampicillin	β -lactam	Resistant	blaPAO (blaPAO_AY083592)
ampicillin+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
apramycin	aminoglykosid	No resistance	
arbekacin	aminoglykosid	No resistance	
astromicin	aminoglykosid	No resistance	
azithromycin	macrolide	No resistance	
aztreonam	β -lactam	No resistance	
benzylkonium chloride	quaternary ammonium compound	No resistance	
bleomycin	aminoglykosid	No resistance	
butiromycin	aminoglykosid	Resistant	aph(3')-IIb (aph(3')-IIb_X90856)
butirosin	aminoglykosid	No resistance	
carbomycin	macrolide	No resistance	
cefepime	β -lactam	Resistant	blaPAO (blaPAO_AY083592)
cefixime	β -lactam	No resistance	
cefotaxime	β -lactam	No resistance	
cefotaxime+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
cefoxitin	β -lactam	No resistance	
ceftazidime	β -lactam	Resistant	blaPAO (blaPAO_AY083592)
ceftazidime+avibactam	β -lactam	No resistance	
ceftiofur	under_development	No resistance	
ceftriaxone	β -lactam	No resistance	
cephalothin	β -lactam	No resistance	
cephalotin	β -lactam	No resistance	
cetylpyridinium chloride	quaternary ammonium compound	No resistance	
chloramphenicol	amphenicol	Resistant	catB7 (catB7_AF036933)
chlorhexidine	quaternary ammonium compound	No resistance	
ciprofloxacin	quinolone	Resistant	crpP (crpP_HM560971)
clindamycin	lincosamide	No resistance	
colistin	polymyxin	No resistance	
dalfopristin	streptogramin a	No resistance	
dibekacin	aminoglykosid	No resistance	
doxycycline	tetracycline	No resistance	

ertapenem	β-lactam	No resistance	
erythromycin	macrolide	No resistance	
ethidium bromide	quaternary ammonium compound	No resistance	
florfenicol	amphenicol	No resistance	
fluoroquinolone	quinolone	No resistance	
formaldehyde	aldehyde	No resistance	
fortimicin	aminoglykosid	No resistance	
fosfomicin	fosfomicin	Resistant	fosA (fosA_ACWU01000146)
fusidic acid	steroid antibacterial	No resistance	
gentamicin	aminoglykosid	Resistant	aph(3')-IIb (aph(3')-IIb_X90856)
hydrogen peroxide	peroxide	No resistance	
hygromycin	aminoglykosid	No resistance	
imipenem	β-lactam	No resistance	
isepamicin	aminoglykosid	No resistance	
kanamycin	aminoglykosid	Resistant	aph(3')-IIb (aph(3')-IIb_X90856)
kasugamycin	aminoglykosid	No resistance	
lincomycin	lincosamide	No resistance	
linezolid	oxazolidinone	No resistance	
lividomycin	aminoglykosid	No resistance	
meropenem	β-lactam	No resistance	
metronidazole	nitroimidazole	No resistance	
minocycline	tetracycline	No resistance	
mupirocin	pseudomonic acid	No resistance	
nalidixic acid	quinolone	No resistance	
neomycin	aminoglykosid	Resistant	aph(3')-IIb (aph(3')-IIb_X90856)
netilmicin	aminoglykosid	No resistance	
oleandomycin	macrolide	No resistance	
paromomycin	aminoglykosid	Resistant	aph(3')-IIb (aph(3')-IIb_X90856)
penicillin	β-lactam	No resistance	
piperacillin	β-lactam	No resistance	
piperacillin+clavulanic acid	β-lactam	No resistance	
piperacillin+tazobactam	β-lactam	No resistance	
pristinamycin ia	streptogramin b	No resistance	
pristinamycin iia	streptogramin a	No resistance	
quinupristin	streptogramin b	No resistance	
quinupristin+dalfopristin	streptogramin a	No resistance	
ribostamycin	aminoglykosid	Resistant	aph(3')-IIb (aph(3')-IIb_X90856)
rifampicin	rifamycin	No resistance	
sisomicin	aminoglykosid	No resistance	
spectinomycin	aminocyclitol	No resistance	
spiramycin	macrolide	No resistance	
streptomycin	aminoglykosid	No resistance	
sulfamethoxazole	folate pathway antagonist	No resistance	
teicoplanin	glycopeptide	No resistance	
telithromycin	macrolide	No resistance	

temocillin	β -lactam	No resistance	
temperature	heat	No resistance	
tetracycline	tetracycline	No resistance	
tiamulin	pleuromutilin	No resistance	
ticarcillin	β -lactam	No resistance	
ticarcillin+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
tigecycline	tetracycline	No resistance	
tobramycin	aminoglykosid	No resistance	
trimethoprim	folate pathway antagonist	No resistance	
tylosin	macrolide	No resistance	
unknown aminoglykosid	aminoglykosid	No resistance	
unknown β -lactam	β -lactam	Resistant	blaOXA-488 (blaOXA-488_CP017969)
unknown quinolone	quinolone	No resistance	
vancomycin	glycopeptide	No resistance	
virginiamycin m	streptogramin a	No resistance	
virginiamycin s	streptogramin b	No resistance	

Vedlegg 21. Resultater fra RESF for prøve FOSS2-Serr-E

Tabell 64. Screening av hvilke antibiotikum prøve FOSS2-Serr-E er resistent mot og ikke resistent mot i følge databasen «Res Finder (RESF)».

Antibiotikum	Klasse	WGS-predicted phenotype	Genetisk bakgrunn
amikacin	aminoglykosid	No resistance	
amoxicillin	β -lactam	No resistance	
amoxicillin+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
ampicillin	β -lactam	No resistance	
ampicillin+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
apramycin	aminoglykosid	No resistance	
arbakacin	aminoglykosid	No resistance	
astromicin	aminoglykosid	No resistance	
azithromycin	macrolide	No resistance	
aztreonam	β -lactam	No resistance	
benzylkonium chloride	quaternary ammonium compound	No resistance	
bleomycin	aminoglykosid	No resistance	
butiromycin	aminoglykosid	No resistance	
butirosin	aminoglykosid	No resistance	
carbomycin	macrolide	No resistance	
cefepime	β -lactam	No resistance	
cefixime	β -lactam	No resistance	
cefotaxime	β -lactam	No resistance	
cefotaxime+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
cefoxitin	β -lactam	No resistance	
ceftazidime	β -lactam	No resistance	
ceftazidime+avibactam	β -lactam	No resistance	
ceftiofur	under_development	No resistance	
ceftriaxone	β -lactam	No resistance	
cephalothin	β -lactam	No resistance	
cephalotin	β -lactam	No resistance	
cetylpyridinium chloride	quaternary ammonium compound	No resistance	
chloramphenicol	amphenicol	No resistance	
chlorhexidine	quaternary ammonium compound	No resistance	
ciprofloxacin	quinolone	No resistance	
clindamycin	lincosamide	No resistance	
colistin	polymyxin	No resistance	
dalfopristin	streptogramin a	No resistance	
dibekacin	aminoglykosid	No resistance	
doxycycline	tetracycline	No resistance	
ertapenem	β -lactam	No resistance	
erythromycin	macrolide	No resistance	
ethidium bromide	quaternary ammonium compound	No resistance	
florfenicol	amphenicol	No resistance	

fluoroquinolone	quinolone	No resistance	
formaldehyde	aldehyde	No resistance	
fortimicin	aminoglykosid	No resistance	
fosfomycin	fosfomycin	No resistance	
fusidic acid	steroid antibacterial	No resistance	
gentamicin	aminoglykosid	No resistance	
hydrogen peroxide	peroxide	No resistance	
hygromycin	aminoglykosid	No resistance	
imipenem	β -lactam	No resistance	
isebamycin	aminoglykosid	No resistance	
kanamycin	aminoglykosid	No resistance	
kasugamycin	aminoglykosid	No resistance	
lincomycin	lincosamide	No resistance	
linezolid	oxazolidinone	No resistance	
lividomycin	aminoglykosid	No resistance	
meropenem	β -lactam	No resistance	
metronidazole	nitroimidazole	No resistance	
minocycline	tetracycline	No resistance	
mupirocin	pseudomonic acid	No resistance	
nalidixic acid	quinolone	No resistance	
neomycin	aminoglykosid	No resistance	
netilmicin	aminoglykosid	No resistance	
oleandomycin	macrolide	No resistance	
paromomycin	aminoglykosid	No resistance	
penicillin	β -lactam	No resistance	
piperacillin	β -lactam	No resistance	
piperacillin+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
piperacillin+tazobactam	β -lactam	No resistance	
pristinamycin ia	streptogramin b	No resistance	
pristinamycin iia	streptogramin a	No resistance	
quinupristin	streptogramin b	No resistance	
quinupristin+dalfopristin	streptogramin a	No resistance	
ribostamycin	aminoglykosid	No resistance	
rifampicin	rifamycin	No resistance	
sisomicin	aminoglykosid	No resistance	
spectinomycin	aminocyclitol	No resistance	
spiramycin	macrolide	No resistance	
streptomycin	aminoglykosid	No resistance	
sulfamethoxazole	folate pathway antagonist	No resistance	
teicoplanin	glycopeptide	No resistance	
telithromycin	macrolide	No resistance	
temocillin	β -lactam	No resistance	
temperature	heat	No resistance	
tetracycline	tetracycline	No resistance	
tiamulin	pleuromutilin	No resistance	
ticarcillin	β -lactam	No resistance	
ticarcillin+clavulanic acid	β -lactam	No resistance	
tigecycline	tetracycline	No resistance	
tobramycin	aminoglykosid	No resistance	
trimethoprim	folate pathway antagonist	No resistance	
tylosin	macrolide	No resistance	

unknown aminoglykosid	aminoglykosid	No resistance	
unknown β -lactam	β -lactam	Resistant	blaFONA-6 (blaFONA-6_AJ251244)
unknown quinolone	quinolone	No resistance	
vancomycin	glycopeptide	No resistance	
virginiamycin m	streptogramin a	No resistance	
virginiamycin s	streptogramin b	No resistance	



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway