

Hanne Regine Hognestad

Utvikling av real-time PCR assay for påvisning av *Staphylococcus epidermidis*

Veileder: Kåre Bergh

Hovedoppgave i medisin
Trondheim, januar 2016

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Det medisinske fakultet
Institutt for laboratoriemedisin, barne- og kvinnesykdommer

INNHold

1	Sammendrag	3
2	Ordliste forkortelser brukt i oppgaven	4
3	Introduksjon	5
3.1	Staphylococcus epidermidis	5
3.2	Påvisning av <i>S. epidermidis</i>	5
3.3	Polymerase kjedereaksjon	5
3.4	PCR for Staphylococcus epidermidis	8
3.5	Formål og hensikt med oppgaven	10
4	Materiale og metode	11
4.1	<i>In silico</i> -analyser	11
4.2	Stammer benyttet i forsøkene	14
4.3	Isolering av DNA fra referansestammer	15
4.4	Fortynning av primere	15
4.5	Kjøring av PCR	15
4.6	PCR-sensitivitet	18
4.7	PCR-effektivitet med slope method	19
4.8	PCR-spesifisitet	20
4.9	PCR med primerpar <i>hsp60</i> og TaqMan-probe	20
4.10	PCR med kliniske prøver som templat	21
5	Resultater	25
5.1	<i>In silico</i> -analyser	25
5.2	MALDI-TOF ID-bestemmelse av stammene	29
5.3	PCR	30
5.4	PCR med TaqMan-probe og primerparet <i>hsp60</i>	40
5.5	PCR med kliniske prøver som templat	41
5.6	Sensitivitet	45
5.7	PCR-effektivitet	49
6	Diskusjon	51
6.1	<i>In silico</i> - analyser.	51
6.2	Vurdering av hvert primerpar og hovedresultater	52
6.3	Spesifisitet	53
6.4	Sensitivitet	53
6.5	PCR-effektivitet	54

6.6	Real-time PCR med TaqMan-probe	54
6.7	Kliniske prøver	55
6.8	Styrker og svakheter med PCR.....	57
6.9	Begrensinger for PCR.....	57
6.10	Videre arbeid	57
7	Konklusjon.....	59
8	Kilder	61

1 SAMMENDRAG

BAKGRUNN *Staphylococcus epidermidis* er ledende årsak til infeksjon i implanterte fremmedlegemer på grunn av bakteriens evne til å kolonisere og danne biofilm på kunstige overflater. Rask identifikasjon av agens ved fremmedlegemeinfeksjoner er viktig for optimal behandling, men ved St. Olavs hospital i dag fins det ikke en hurtigere metode enn dyrkning for diagnostikk av stafylokokkinfeksjon. PCR er derfor ønsket som diagnostisk metode. Oppgavens målsetning er å etablere en sensitiv og spesifikk real-time PCR for påvisning av *S. epidermidis* og fastslå om metoden kan benyttes i rutineundersøkelse av kliniske prøver. På noe lengre sikt er det en forventning om at resultatet kan bli ledd i utviklingen av et PCR-panel for diagnostikk av fremmedlegemeinfeksjoner.

MATERIALE OG METODE I oppgaven ble det sett på fem konserverte gener (*hsp60*, *gap*, *sodA*, *rpoB* og *tuf*) hos stafylokokker og designet et primerassay til hver av genene. Alle primersett ble analysert *in silico* og er testet med real-time PCR med EvaGreen-deteksjon mot et panel på sju stafylokokkspecies. Primerpar *hsp60* og TaqMan-probe er i tillegg testet mot 12 kliniske prøver hvor stafylokokker var påvist.

RESULTATER *In silico*-analysene var spesifikke for alle de fem nydesignede primersettene, men ved PCR-forsøk med et panel på seks andre stafylokokkspecies var kun primerassay *hsp60* og *rpoB* spesifikke ved EvaGreen-deteksjon av PCR-produkt. Sensitiviteten til primerassay *rpoB* og *hsp60* ble beregnet til 9,9 CFU per PCR-reaksjon og har en amplifikasjonseffektivitet på 1,04 (*rpoB*) og 0,88 (*hsp60*). PCR med TaqMan-probe og primerassay *hsp60* er kjørt med kliniske prøver, både vevsprøver og blodkulturer, og er vist spesifikt for *S. epidermidis*.

FORTOLKNING PCR er testet mot et panel med sju stafylokokkspecies og 12 kliniske prøver. Det er derfor knyttet usikkerhet til eventuell kryssreaksjon med andre mikrober og assayet bør valideres bredere før det eventuelt kan tas inn i rutinediagnostikken. Ved fremmedlegemeinfeksjoner er det viktig å påvise agens så raskt som mulig og nydesignet *hsp60* PCR-assay med TaqMan-probe kan bli et viktig ledd i å forbedre diagnostikken av *S. epidermidis*-infeksjoner.

2 ORDLISTE FORKORTELSER BRUKT I OPPGAVEN

BLAST. Basic Local Alignment Search Tool

CFU: Colony forming units. Enhet for bestemme antall viable bakterier i en prøve. Usikkert om koloniene ble dannet av en celle eller en gruppe, derfor underestimerer ofte metoden faktisk antall celler.

CT-verdi/Cq-verdi. Cycle threshold/ quantitation cycle. Skjæringspunktet mellom amplifikasjonskurven og terskelverdien (threshold line). Denne linjen blir satt automatisk av programmet selv eller man kan manuelt justere til for eksempel til 200 RF (relative fluorescence units, mål der man har deteksjon av fluorescens) for alle prøver. CT-verdien er det syklusnummeret hvor fluorescensen passerer terskelverdien. Det er et relativt mål på konsentrasjonen i PCR-reaksjonen.

dsDNA: double stranded DNA

FRET-probe. Fluorescens resonance energy transfer – probe

KNS: koagulase negative stafylokokker

MALDI-TOF: Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight

McF: McFarland. Mål på tettheten i en oppslemming av bakterier i væske.

MGW: Molecular Grade Water. DNA- og RNA-fritt.

NN: nearest neighbourmetoden. Beregner smeltetemperatur for primersekvens.

PCR: Polymerase kjedereaksjon

RFU: relative fluorescence units

RPM: rounds per minute. Brukes ved sentrifugering.

RT-PCR: real-time polymerase kjedereaksjon

ssDNA: single stranded DNA

Tm: Smeltetemperatur for en nukleinsyresekvens (primere, prober, PCR-produkt)

3 INTRODUKSJON

3.1 STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS

Stafylokokker er gram-positive ubevegelige, fakultativt anaerobe kokker. Bakteriene deles inn i koagulase-positive og -negative. *Staphylococcus epidermidis* er vanligst blant de koagulase-negative stafylokokkene (KNS) og er årsaken til de viktigste kliniske infeksjonene med KNS. Bakterien er en del av hudens normalflora, men har en rekke virulensfaktorer som gjør den sykdomsfremkallende. Bakterien koloniserer ulike materialer raskt og *S. epidermidis* har en potent evne til biofilmdannelse, som beskytter bakterien mot antimikrobielle midler og immunforsvaret. På grunn av disse virulensfaktorene er *S. epidermidis* spesielt viktig ved fremmedlegemeinfeksjoner. *S. epidermidis* er kjent som det viktigste agens ved implantatinfeksjoner, som for eksempel av sentrale venekatetere (2). Proteseinfeksjon skyldes oftest stafylokokker, *S. epidermidis* er det nest hyppigste agens etter *S. aureus* (3). *S. epidermidis* er også årsaken til 11 % av endokarditter, typisk ventilendokarditter. (4) Bakterien er og ansett som det vanligste agens ved nosokomiale infeksjoner (5). *S. epidermidis* er assosiert med en rekke andre infeksjoner som endoftalmitt og mediastinit, og er et viktig opportunistisk patogen.

3.2 PÅVISNING AV *S. EPIDERMIDIS*.

På St. Olavs hospital i dag påvises *S. epidermidis* rutinemessig ved dyrkning. Før dyrkning kan det gjøres sonikering med ultralydbølger for å fjerne biofilmen bakteriene har dannet ved biofilmassosierte infeksjoner (6). Det er vist at rutinedyrkning på agar, uten sonikering, ikke er sensitiv nok for sikker påvisning (7). Viktige karakteristika ved dyrkning er (i)vekst av hvite små og tette kolonier over natten (ii) vekst anaerobt med glukose og pyruvat i mediet (iii) ikke koagulaseproduserende (iiii) novobiocinsensitiv (8). Videre ID-bestemmelse av bakterien gjøres med MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight) eller biotyping med API. Totalt tar dyrkning og ID-bestemmelse 2-3 dager.

3.3 POLYMERASE KJEDEREAKSJON

Polymerase kjedereaksjon (PCR) er en metode for å lage mange kopier av en spesifikk DNA-sekvens. Man ekstraherer DNA fra prøven og amplifiserer den spesifikke sekvensen eksponentielt ved hjelp av en DNA-polymerase som man kjører i flere sykler. Ofte brukes det korte sekvenser, for eksempel et gen eller del av et gen. Primerne (forward og revers) er korte syntetiske DNA-framenter som binder starten og slutten av den komplementære DNA-tråden man ønsker å amplifisere. DNA-polymerasen

kan så syntetisere en ny DNA-tråd i forlengelsen av primer med templat-DNA som mal. Designet av primerne er den viktigste faktoren for å påvise DNA-sekvenser som er spesifikk for den bakterien man ønsker å finne. Primerne må også ha rett lengde, smeltetemperatur, ikke hybridisere andre steder på DNA-tråden eller til hverandre, eller danne sekundærstrukturer som hårnåler.

En PCR-reaksjonsmix består av DNA fra det du skal undersøke (for eksempel bakterier) spesifikke primere, deoxyribonuklotid trifosfat (adenosin, cytosin, guanosine, thymidine), magnesiumioner, en bufferkomponent, en termostabil DNA-polymerase og vann. Komposisjonen må ideelt sett bli optimalisert for hver ny PCR-protokoll.

Templat-DNA må isoleres før PCR kjøres; det kan i hovedsak gjøres på to ulike måter. Den enkle metoden er å koke opp bakteriene og frigjøre DNA, men da vil mange andre peptider bli blandet inn sammen med DNAet og templatet vil ikke bli et helt rent DNA-produkt. En mer avansert, og også den vanligste, metoden er å bruke spinnkolonner med en absorpsjonskolonne som fanger DNA, og resterende peptider vil bli sentrifugert bort. Resultatet er da et ganske rent DNA-templat.

Kort fortalt kjøres PCR i tre trinn som gjentas i sykler.

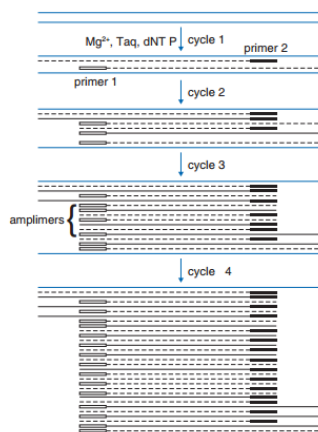
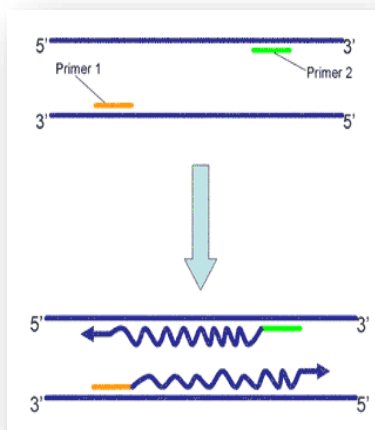
En initialfase med denaturering av DNA ved ca. 95°C. Fra dsDNA til ssDNA, hydrogenbindingene i DNAhelixen brytes, cirka 2- 10 minutter.

Annealing. Det viktigste steget for spesifisiteten til PCR. Temperaturen senkes og primere hybridiserer til templatet, primerne er komplementære i hver ende av DNA som skal amplifiseres (PCR-produktet). Annealingtemperaturen ligger cirka 5 grader under smeltepunktet for primerne, som vanligvis vil ligge i området 50-60 °C (55-60 °C for RT-PCR). Stringensbetingelser kan gjøre PCR spesifikk, det vil si graden av hybridisering til mål-DNA. Kan reguleres med temperatur og ione konsentrasjon.

Elongering. Syntetisering av DNA med DNA-polymerase fra primerne ved ca 72 °C.

Denaturering ved 95 °C.

Antall produkt vil øke eksponentielt med antall sykler. Et typisk PCR-program er 30-50 sykler.



Figur 1. Til venstre. Hentet fra forelesningen "Primer- og probedesign" av Kåre Bergh. Primere binder komplementær tråd og elongeres. Figur 2: Til høyre. Produktet øker eksponentielt med antall sykler. (p. 3, "Principles and technical aspects of PCR amplification"¹⁾)

Ved konvensjonell PCR kjører man først 35-40 sykler før det gjøres en endepunkts-PCR med gel-elektroforese etter reaksjonen er ferdig. En strøm sorterer molekylene basert på størrelse i gelen, de farges for visualisering og gelen sammenliknes med et forventet resultat.

Når man kjører real-time PCR merkes produktet med fluorescens (SYBRGreen/EvaGreen eller DNA-prober) underveis i reaksjonen. Avlesing av resultat kan derfor gjøres samtidig som reaksjonen fortsatt går. Konvensjonell-PCR er altså en mye mer tidkrevende prosess enn real-time-systemet. RT-PCR vil også være kvantitativ siden den detekterer akkumulasjonen av amplifisert materiale mens reaksjonen er i gang. Jo mer templat DNA som er tilstede, jo tidligere vil økningen av fluorescens skje. Ved konvensjonell PCR er kvantitative analyser betydelig mer arbeidskrevende og mer usikre, de er i beste fall semi-kvantitative.

Kjøring av real-time PCR tar bare et par timer totalt og det er en stor fordel i forhold til dyrkning, som er en tidkrevende prosess på minimum 1-2 dager. Potensielle ulemper med PCR kan være forurensing, og problematikk knyttet til spesifisitet, sensitivitet og primerdesign. Andre faktorer enn primerne som kan spille inn og gi et dårlig PCR-resultat er feil konsentrasjon av buffer i PCRmixen og magnesiumioner, duplexdannelse i templatet, mishybridisering ved for lav annealingtemperatur eller for høy konsentrasjon av DNA-polymerase.

Konseptene for PCR er blant annet studert boka «Principles and technical aspects of PCR amplification» av Pelt-Verkuil, Belkum (1).

3.3.1 Prober og påvisning av PCR-produkt

Påvisningen ved RT-PCR skjer samtidig som reaksjonen går. Fluorescens akkumuleres eksponentielt og kan avleses underveis i PCR-reaksjonen. Til dette brukes enten dsDNA-bindene fargestoffer eller prober med fluorescens.

3.3.1.1 SYBRGreen/EvaGreen

SYBR-/EvaGreen binder dsDNA uspesifikt; fluorescensen øker 1000 ganger når fargestoffet er bundet til dsDNA og ikke er i fri løsning. Fluorescenssignalet vil derfor være proporsjonalt med dsDNA som amplifiseres. Dette er en billig og enkel metode, som krever mindre enn probemetoden med tanke på primerdesign (da må man og ta hensyn til probe-primerduplexer, størrelsen på produktet og så videre). På den andre siden vil slikt fargestoff binde alt dsDNA helt uspesifikt, som for eksempel primer-dimerer.

Etter reaksjonen kan man bruke smeltepunktsanalyse for å identifisere ulike produkter i reaksjonen enda mer nøyaktig. Selv om primerne er designet for å være spesifikke for kun *S. epidermidis* vil sannsynligvis primerne også kunne binde seg til andre bakteriers DNA. Ved smeltepunktsanalyse øker man temperaturen gradvis, da vil *S. epidermidis* og for eksempel *S. aureus* ha litt ulike smeltepunktskurver, med toppunkter på forskjellige steder.

3.3.1.2 TaqMan-probe

TaqMan er en av de vanligste probene for å påvise et PCR-produkt. TaqMan er sekvensspesifikk og har fluorescens i 5'enden og en quencher i 3'enden. Proben hybridiserer til PCR-produktet og fluorescensen er quenched av 3'enden. Når 5'3' exonucleaseaktivitet av polymerasen ødelegger proben vil fluorescens avgis. Fordelen med probe er at det gir høy spesifisitet, man kan og legge spesifikke gensekvenser i probeområdet. En mulig negativ side kan være at primerdesignet må tilpasses probeformatet, og at primerne heller ikke må danne duplexer eller andre sekundærstrukturer med proben. Prober er og dyrt i forhold til deteksjon med DNA-bindene fargestoffer.

3.3.1.3 FRET-probe

Fluorescens resonance energy transfer – probe, består av to deler, hver av dem komplementær til PCR-produktet. Donorproben har fluorescein i 3'enden, mens akseptorproben vil ha fluorophor i 5'enden. Når probene binder ved siden av hverandre, med et gap på 1-5 basepar mellom, vil donorproben avgi energi som akseptorproben tar opp og det blir avgitt signal.

3.4 PCR FOR STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS

Det er tidligere beskrevet PCR-metoder for å påvise *S. epidermidis*. Metodene retter seg mot ulike målgener, som det blir aktuelt å se nærmere på videre i oppgaven. Et PCR-assay med målgen *tuf* designet av Martinau et al. er vist spesifikk, men er ikke utviklet for real-timeformatet (9).

En annen konvensjonell PCR er utviklet av Goh et al. for *hsp60* (10). Hirotaki et al. har brukt *nuc* som målgen for en multiplexPCR (11). I denne studien ble PCR-produktet visualisert med elektroforese i agarose-gel. Real-timeformatet ville være ønskelig med tanke på at det tar kortere tid og RT-PCR er en kvantitativ metode.

For *atfE*-genet er det utviklet en spesifikk RT-PCR beskrevet av Francois et al., men dette assayet rettes mot én virulensfaktor. Det er usikkerhet knyttet til om den fins i alle *S. epidermidis* (12). Denne oppgaven sikter mot å kunne identifisere alle *S. epidermidis* og *atfE* egner seg derfor ikke så godt for dette formålet.

femA-SE genet presenteres som en god kandidat for real-time PCR assay for *S. epidermidis* av Jukes et al. 2010(13). Sammen med *femA-SA* og *mecA* for *S. aureus* og meticillinresistens kunne multiplex real-time PCR raskt identifisere og bestemme følsomheten for meticillin til *S. aureus*, *S. epidermidis*, og andre KNS. *femA* koder for factor essential for methicillin resistance. Siden kun 60-70% av *S. epidermidis* er meticillinresistente anses genet som uegnet for å påvise alle *S. epidermidis* i denne oppgaven.

gap (et husholdningsgen) ble undersøkt for diskriminerings evnen av stafylokokk-species av Ghebremedhin, Layer (14). I samme studie nevnes også at genene *tuf*, *rpoB* og *hsp60* kan egne seg for å skille ulike stafylokokker. Det vil derfor bli sett nærmere på om disse genene egner seg for å utvikle et PCR-assay.

I en studie fra 2006 brukes sekvensering av *rpoB* som målgen for å skille mellom alle species av stafylokokker, *rpoB* klarer dette i alle tilfellene. Derfor kan *rpoB* egne seg for å skille stafylokokker på species og subspeciesnivå. Dette beskrives i en studie av Mellmann, Becker (15).

Et annet gen som er undersøkt tidligere av Poyart et al. er *sodA*(16). I denne studien ble det laget en database for *sodA*-sekvenser for 40 ulike stafylokokker. *sodA*-genet koder for manganavhengig superoxid dismutase i 40 ulike KNS. *sodA* har gode muligheter som målgen for utvikling av et assay.

16S rRNA er en del av 30S subenhet i prokaryote ribosomer og flere kopier av *16S rRNA* kan finnes i en bakterie. *16S rRNA* inneholder hypervariable områder som kan være species-spesifikke og egne seg for identifikasjon av bakterier. *16S rRNA* ble brukt i en studie av Kobayashi et al. for å lage et bredt «universelt» assay for stafylokokker med ett sett FRET-prober for å merke *S. aureus* spesifikt. (17). Dette kunne også vært en mulighet for å påvise *S. epidermidis*.

Skow et al. brukte primere for å amplifisere den variable regionen av *16S rRNA*-genet i syv ulike stafylokokker og skilte dem med hybridiseringsprober merket med fluorescens og smeltekurveanalyse (18). Den kunne påvise 36 av 37 av isolatene som var med i studien, men species-spesifikk kvantitering er vanskelig med denne metoden (19).

I en studie fra 2008 bruker Iwase et al. *sodA* som målgen for en 5' nuclease real-time PCR med en TaqMan minor groove binder probe for å påvise og kvantitere *S. epidermidis* spesifikt (19).

Edwards et al. har utviklet et assay for påvisning av 15 species av KNS. Der ble det brukt så mye som tre sett primere og to sett prober med smeltepunktanalyse for påvisning (20).

3.5 FORMÅL OG HENSIKT MED OPPGAVEN

Bakgrunn

S. epidermidis er ledende årsak til infeksjon i implanterte fremmedlegemer på grunn av bakteriens evne til å danne biofilm på kunstige overflater (21). PCR er en annen metode enn dyrkning i mikrobiologisk diagnostikk. Der dyrkning baserer seg på vekst av bakterien er prinsippet bak polymerase kjedereaksjon å påvise gener i mikrobe. Bakteriene trenger derfor ikke være levende når de påvises.

Formålet og hensikten med oppgaven var å designe en sensitiv og spesifikk real-time PCR for påvisning av *S. epidermidis*. Ved St. Olavs hospital brukes i dag dyrkning som standardmetode ved påvisning, derfor kunne RT-PCR være ønsket for raskere identifikasjon av agens. På noe lengre sikt er det en forventning om at resultatet kan bli ledd i utviklingen av et PCR-panel for diagnostikk av fremmedlegemeinfeksjoner.

Forskningsspørsmål:

- Hvilke gener kan egne seg for å utvikle et PCR-assay for *S. epidermidis*?
- Hvilken sensitivitet og spesifisitet har metoden?
- Kan metoden brukes for å påvise *S. epidermidis* i kliniske prøver?

4 MATERIALE OG METODE

4.1 *IN SILICO*-ANALYSER

4.1.1 Identifisere et målgen

Utvikling av en spesifikk og sensitiv PCR for *S. epidermidis* krever et målgen med en sekvens som både er unik for, og finnes hos alle *S. epidermidis*. Det er tidligere beskrevet en del gener som kan egne seg for formålet. (6, 9, 11-14, 16, 22, 23). Gener som kan egne seg for skille ulike stafylokokker er for eksempel høyt konserverte gener, det vil si gener som er ganske like mellom species og stort sett bevart gjennom evolusjonen. Eksempler er *16S rRNA*, *tuf*, *sodA* og *hsp60*. (14) Generelt kan det vært lurt å velge et målgen som koder for en viktig prosess i bakterien og der hvor funksjonen til proteinet endres ved nesten hvilke som helst forandringer i sekvensrekkefølgen av genet.

Første del av oppgaven var å finne et egnet målgen for å designe et PCR-assay. De første søkene ble gjort i PubMed, januar 2015, under arbeidet med protokollskriving. I tillegg ble det gjort ett nytt søk da hovedarbeidet med oppgaven startet i august 2015. Siste søk ble gjort 16.09.2015. Søkord i søkefeltet: «real-time PCR AND staphylococcus epidermidis» og undersøk av dette. Ni målgen ble etter søkene presentert som mulige kandidater:

- *tuf*
- *hsp60*
- *gap*
- *sodA*
- *16S rRNA*
- *atIE*
- *nuc*
- *femA-SE*
- *rpoB*

Gensekvensene til *S. epidermidis* ble funnet ved å søke opp «[navnet på genet] AND Staphylococcus epidermidis» i søkefeltet i *National Centre for Biotechnology Information (NCBI)* sin GenBank (24) og begrense søket til kun *S. epidermidis*. Deretter ble det valgt ut cirka ti treff på ulike sekvenser, både enkeltgensekvenser og som del av helgenomsekvenseringer. RP62A og ATCC 12228, som er vanlige brukte referansestammer av *S. epidermidis* er helgenomsekvensert og ble brukt der det var mulig. Helgenomsekvensene ble lagt mer vekt på en kun enkeltgensekvenser.

Det ble gjort alignment av de utvalgte allel-sekvensene for hvert gen i programmet Clustal Omega, frivare fra European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI)(25). Etter sammenlikning av sekvensene ble det valgt ut en konsensussekvens, den sekvensen det var bredest «enighet» om blant de andre allelene. Treff som ikke passet inn i det hele tatt i alignment med de andre allelene ble forkastet ettersom GenBank ikke er kvalitetssikret.

Alignment med aksesjonsnummer ses i vedlegg 1- 10. * i underkant av alignment representerer at en base er lik for alle sekvensene som er puttet inn i programmet. Sekvensene er editert i programmet Jalview så de lange gensekvensene er sammenliknbare med de kortere sekvensene. Hvilke basepar som er kuttet ses bak aksesjonsnummeret i alignment.

Samme søk etter konsensussekvenser for genene ble også gjort for andre stafylokokker enn *S. epidermidis*. Dette for å finne ulikheter i sekvensrekkefølgen mellom *S. epidermidis* og andre stafylokokker, siden det er mest sannsynlig at *S. epidermidis*' gener er mest like andre stafylokokkers. Forskjellene i baserekkefølgen er mulige utgangspunkt for å lage spesifikke primere for *S. epidermidis*. Utvalget av andre stafylokokker er basert på hvilke som er vanlige i kliniske prøver og hvilke det er viktige å skille fra *S. epidermidis* ved for eksempel en proteseinfeksjon. Følgende stafylokokker ble tatt med i søket:

- *Staphylococcus lugdunensis*
- *Staphylococcus capitis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus hominis*
- *Staphylococcus haemolyticus*
- *Staphylococcus schleiferi*

Sammen med konsensussekvensene for *S. epidermidis* ble det gjort alignment av sekvensene i Clustal Omega for hvert gen og identifisert posisjoner i genet hvor *S. epidermidis* skilte seg ut med en annen sekvensrekkefølge enn de andre. Se vedlegg 2, 4, 6, 8 og 10 for alignment.

4.1.2 Valg av primere

Et mål for oppgaven var å lage et spesifikt assay for *S. epidermidis*, derfor ble primerne plassert der gensekvensen til *S. epidermidis* skilte seg ut fra de andre stafylokokkenes. Hovedulikhetene ble plassert i 3'enden av primeren.

Primerpar ble valgt ut på bakgrunn av følgende punkter:

- Primerlengde optimalt 18-22 bp
- T_m mellom 50-60 °C, optimalt 55- 60 °C for RT-PCR, målt etter både nearest neighbour-metoden (anses som mest pålitelig) og $2(A+T) + 4(G+C)$. Ikke større forskjell enn 3-5 °C i T_m mellom primerne.
- Maksimalt 4 singel- eller dimerrepeats.
- GC-innhold 40-60%
- Ikke danne sekundærstrukturer i primerne: hårnåler eller duplexer med seg selv eller hverandre. Dette er viktigst å unngå i 3'enden av primeren. En duplex eller hårnål med bindingsstyrke ΔG ned mot -2,5 – 3 kcal/mol ble godtatt i 3'endene, mens i 5'enden ned til -20 kcal/mol. En hårnål i 5'enden ble ansett som uvesentlig for reaksjonen.
- Spesifisitet i 3'enden av primeren.
- Intern stabilitet i primeren. Bør være høyest i 5'enden og lavest i 3'enden. Det vil si at maksimalt tre G eller C i de fem siste basene i 3'enden.
- PCR-produktets lengde, i real-time PCR optimalt ikke lenger enn 250 bp.

For alle primerpar ble det etterpå gjort en *in silico* spesifisitetstest. De forslåtte primersekvensen ble søkt på i nucleotide-BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (26) for å utelukke primere som hadde liknende sekvenser som andre vanlige bakterier eller humant DNA.

4.1.2.1 OLIGO7

Design av primerassay ble gjort i programmet OLIGO 7.

4.1.3 Prober

Til hvert primerassay ble det og designet en TaqMan-probe i OLIGO 7. Det var hovedsak tenkt å bruke EvaGreen/SYBRGreen med smeltepunktsanalyse i denne oppgaven fordi dette er en billigere metode. For prober er det viktig at disse kriteriene er oppfylt:

- T_m 5-10 °C grader høyere enn T_m til primersettet
- Ikke repetitive enheter
- Ikke selvkomplementær
- Ikke danne hårnålstrukturer

Taqman-probe	FRET-probe
- GC-innhold 30-80% - Ikke G i 5'endene (den vil fungere som en quencher) - Flere C enn G	- Probene 1-5 basepar unna hverandre - Ikke klustre av GC i endene, unngå purinrike sekvenser (mye A og G) - Tm donor < Tm akseptor - Flest mismatch/mutasjoner i donorprobe - Ikke C i gapet mellom donor og akseptor (G i komplementær sekvens vil fungere som en quencher)

4.2 STAMMER BENYTTET I FORSØKENE

Følgende stammer ble hentet opp fra fryser 25.09.2015 og er brukt i videre forsøk. Ønsket i utgangspunktet å bruke *S. schleiferi* også i og med at denne er brukt som en del av alignment, se vedlegg 1-10, men *S. schleiferi* fantes ikke i fryseren.

S. schleiferi ble byttet ut med en annen stafylokokk; *Staphylococcus condimenti*. Den en KNS og ble funnet ved en alvorlig ledd-/bløtdelsinfeksjon hos et barn og det ønskes å se på hvordan PCR vil fungere med denne. Det fins lite sekvenserte gener/helgenomsekvenser av *S. condimenti*, men det jobbes med en helgenomsekvensering for denne bakterien ved St. Olavs hospital høsten 2015.

1. CCUG 7323T – *S. haemolyticus*
2. CCUG 7326 *S. capitis*
3. CCUG 17621 *S. aureus*
4. nr. 107749 – 14. *S. condimenti*
5. ATCC 35984 – *S. epidermidis*
6. nr. 132349 – 15. *S. hominis*.
7. nr 110000 – 15 *S. lugdunensis*

Stammene som har et nummer er prøvenummeret fra datasystemet til St. Olavs hospital, mens ATCC- og CCUG-stammer er internasjonale referansestammer.

4.2.1 ID-bestemmelse ved MALDI-TOF

For validering av panelet av stafylokokker ble det bestemt ID av alle stammene med MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight massespektrometer). Metoden gir rask identifikasjon av kulturer med bakterier. Bakteriekultur avsettes på en plate dekket med matrix, en laserstråle ioniserer proteinene som akselererer i et magnetisk felt, og det vil dannes et karakteristisk spekter for hver bakterie på grunnlag av beregnet masse av proteinene.

Prosedyre «MALDI-TOF massespektrometri, identifikasjon av bakterier og gjærsopp» fra St. Olavs hospital, avdeling for medisinsk mikrobiologi, versjon 1.2 ble brukt.

4.3 ISOLERING AV DNA FRA REFERANSESTAMMER

Referansestammene ble spredt 28.09.2015 og inkubert i CO_2 -atmosfære ved 37 °C i et døgn.

Ekstraherte DNA fra de sju referansestammene 29.09.2015. Oppskrift fra mikrobiologen på St. Olavs for gram-positive bakterier ble fulgt:

1. En koloni suspendert i 100 µl TE-buffer, pH 7,4.
2. Løsning for lysering laget av 292 µl TE-buffer, 2µl lysostaphin (1mg/ml) og 6µl Proteinase K (20mg/ml).

Hver suspensjon med prøve ble tilsatt 300µl lyseløsning, inkubert 37°C i 15 minutter, deretter 65°C i 15 minutter på varmeblokk. Prøvene ble blandet med vortex før og etter inkubering. Videre ble det fulgt oppskrift fra DNeasy Tissue Kit fra Qiagen, Cat. NO. 69506 for isolering av DNA med spinnkolonne. Alle prøvene ble eluert med 100 µl siste steg.

4.4 FORTYNNING AV PRIMERE

Primere fra Eurogentec ble levert i tørrvekt. Det ble laget en stockløsning på 100 µM og puttet i fryseren 01.10.2015. Primere fortynnet med DNA/RNA-fritt vann. Se vedlegg 11. Tørrvaren ble først sentrifugert i 1 min. Etter fortynningen ble det brukt vortex og sentrifugering igjen.

Fra løsningen på 100 µM ble det laget en bruksløsning på 500 µL 5 µM. Den ble fortynnet med MGW og satt i kjøleskap. Se vedlegg 12.

4.5 KJØRING AV PCR

4.5.1 Førstegangskjøring for alle primerpar.

Første real-time PCR ble kjørt 07.10.2015 med CFX96 Bio-Rad.

Prøvepreparering for en prøve:

- 10 µL SsoFast EvaGreen supermix
- 2 µL Forward primer, 2 µL Revers primer
- 1 µL vann (Molecular Grade Water, DNA- og RNAfritt)

Det samme oppsettet er benyttet for resten av kjøringene med EvaGreen-deteksjon. Etter blanding ble prøvene blandet med vortex og sentrifugert.

I PCR-rør ble SsoFast EvaGreen supermix blandet med ufortynnet templat av hver av referansestammene i 20 µL brønner. Molecular Grade Water ble brukt som negativ kontroll.

- 15 µL mix
- 5µL ufortynnet templat

Etterpå ble prøvene sentrifugert 30 sekunder 550 rpm.

Protokoll 1. PCR for 1. gangskjøring med CFX96 real-time PCR:

1. 98°C 2 minutter
2. 98 °C 5 sekunder
3. 52° C 5 sekunder (valgt etter beregnet smeltetemperatur for primerne, skal ligge ca. 5° C under smeltetemperaturen)

40 sykler mellom trinn 2 og 3.

4. Smelteanalyse fra 65°C til 95°C. Step: 0,5°C økning av temperatur per runde, 5 sekunder per step.

Alle primerparene (*hsp60*, *tuf*, *rpoB*, *gap* og *sodA*) ble kjørt etter denne protokollen.

4.5.2 16S universell PCR

En universell PCR rettet mot 16S rRNA-genet for å fange opp alle bakterier ble kjørt 08.10.2015.

Gen	Sequence (5' - 3')	Posisjon	PCR-produkt	GenBank AccN
16S rRNA				
Forward	5' CCTACGGGAGGCAGCAG 3'	341-357	587bp	CP000247.1
Revers	5' CCCGTCAATTCATTGAGTTT 3'	927-907		

Dette for å vise at det er DNA-templat i alle referansestammeprøvene det kjøres PCR av, slik at et negativt resultat med et nydesignet primerpar kan tolkes som reelt og ikke som et utslag av det ikke var DNA tilstede i templatet. Den universelle PCR kan brukes for å sammenlikne templatmengde i hver prøve. En forskjell i CT-verdi på 3,32 sykler kan skyldes en mengdeforskjell i templatet på 10, ikke nødvendigvis at primerparet er mer spesifikt for en stamme enn en annen.

Prøvepreparering:

- 15 µL mix av primer, MGW og EvaGreen som beskrevet over.
- 5µL fortynnet templat 1:10. Molecular grade water som negativ kontroll.

Etterpå ble prøvene sentrifugert 30 sekunder 550 rpm.

Protokoll 2. PCR med 16S-primerpar CFX96 Bio-Rad:

1. 98°C i 2 min
2. 98 °C 5 sekunder
3. 58 °C 10 sekunder

33 sykler mellom trinn 2 og 3.

4. Smelteanalyse fra 50 °C til 95 °C. Step: 0,5°C økning av temperatur per runde, 5 sekunder per step.

4.5.3 Gradientanalyse.

Det ble gjort gradientanalyse med alle primersettene 14.10.2015 og 15.10.2015. 52,00 °C ble satt som utgangspunkt i en av de midterste radene fordi forrige protokoll ble kjørt ved annealingtemperatur 52 °C. Range ble valgt til 20 °C og resten av temperaturene ble stilt inn automatisk av programvaren til CFX96 Bio-Rad. Alle referansestammene ble brukt som templat.

Gradientanalysen ble gjort for å finne en optimal temperatur for PCR-reaksjonen:

- Når amplifiseres mest produkt?
- Blir det mange uspesifikke produkter ved lavere annealingtemperaturer?
- Blir reaksjonen mer spesifikk ved høyere temperaturer?

Prøvepreparering: som beskrevet i avsnitt 4.5.1. Templat ble fortynnet 1:20 (12µl templat + 228 µl vann). MGW ble brukt som negativ kontroll.

Protokoll 3. Gradientanalyse med alle primerpar og CFX96 Bio-Rad

1. 98 °C i 2 minutter
2. 98 °C 5 sekunder
3. Gradient med range 20 °C, temperatur i radene:
 - a. 64,3°C
 - b. 63,1 °C
 - c. 60,9 °C
 - d. 56,9 °C
 - e. 52°C
 - f. 48,2 °C
 - g. 45,5 °C
 - h. 44,3 °C

Sykler: step 2-3 34 ganger.

4. Smelteanalyse 65,0 °C til 95,0°C. Step: 0,5°C økning av temperatur per runde, 5 sekunder per step.

4.6 PCR-SENSITIVITET

Teoretisk sett skal PCR kunne amplifisere et eneste målmolekyl eksponentielt til mange millioner, men det krever optimalisering av komponentmiks og termosyklingen. I realiteten krever de fleste PCR-reaksjoner noen flere kopier av målmolekyler. Sensitiviteten til primerassayet designet til *rpoB* og *hsp60* ble bestemt.

Spredte ATCC 35984 (*S. epidermidis*) til blodagar 20.10.2015 og inkuberte skålene i CO_2 -atmosfære i ett døgn for å få ferske kolonier å arbeide med neste dag.

21.10.2015 ble det laget en oppslemming med 3 ml NaCl 0,9% og ATCC 35984 til 0,5 McFarland.

Deretter ble det laget en fortynningsrekke fra oppslemmingen som vist i tabell. Glass A er oppslemmingen på 0,5 McF som teoretisk tilsvarer 10^8 CFU/ml, det vil si 10^5 CFU/ μ l.

Glass	McF	Fortynning	CFU/ml (teoretisk)	CFU/ μ L (teoretisk)	Utsådd 10 μ l på agar (teoretisk antall)
A	0,5	1	10^8	10^5	
B		1 : 10	10^7	10^4	
C		1 : 100	10^6	10^3	
D		1 : 1000	10^5	10^2	10^3
E		1 : 10 000	10^4	10	10^2
F		1 : 100 000	10^3	1	10

10 μ l av fortynnet oppslemming ble pipettert fra glass D-F og spredt i dublett på blodagar og inkubert i CO_2 -atmosfære ved 37 °C i et døgn. Koloniene ble talt 22.10.2015, gjennomsnittstallet av kolonier i hver dublett ble satt som riktig.

Isolering av DNA. Det ble ekstrahert DNA fra 0,5 McF-løsningen av ATCC 35984 21.10.2015. Se avsnitt 4.3 for fremgangsmåte (unntak: en koloni ble erstattet med 300 μ l 0,5 McF oppslemming med ATCC 35984)

4.6.1 PCR med sensitivitetsbestemmelse

For å bestemme deteksjonsgrensen til PCR med de nydesignede primersettene ble det laget en serie av fortynninger fra DNAet som ble isolert fra oppslemmingen på 0,5 McF av ATCC 35984 (se forrige avsnitt). I hvert rør ble det mikset 18 μ l vann og 2 μ l templat fra det foregående rør, til en tifold fortynningsrekke.

PCR ble kjørt med primerparene til *hsp60* og *rpoB* fordi disse primerparene i tidligere kjøring har vist seg som mest lovende med tanke på spesifisitet (har kun amplifisert *S. epidermidis*, se resultater

avsnitt 5.3.2 og 5.3.4) og hadde relativt lave Cq-verdier. Det ble derfor bestemt å jobbe videre med disse primerparene som utgangspunkt.

Det ble valgt ny annealingtemperatur på 57°C. Dette fordi det teoretisk skal være bedre å kjøre RT-PCR mellom 55°C – 60 °C. Gradientanalysen gjort i tidligere forsøk viste ikke fall i Cq-verdier på høyere temperatur enn 52°C som ble kjørt med første gang.

Prøvepreparering for en prøve: som i avsnitt 4.3. Templatet ble fortynnet som tabell vist over. MGW ble brukt som negativ kontroll. PCR ble utført 22.10.2015.

Protokoll 4 – sensitivitetsbestemmelse av primerassay *hsp60* og *rpoB* på CFX96 Bio-Rad.

1. 98°C i 2 minutter
2. 98°C 5 sekunder
3. 57 °C 10 sekunder
40 sykler mellom trinn 2 og 3.
4. Smelteanalyse fra 65 °C til 95 °C,. Step: 0,5°C økning av temperatur per runde, 5 sekunder per step.

4.6.2 Triplettanalyse av sensitivitet

For å bestemme sensitiviteten mer nøyaktig ble det kjørt en ny PCR med primerparene for *hsp60* og *rpoB* med templatfortynning: 1:1000, 1:10 000, 1: 100 000 og 1: 1000 000, alle i triplett. Dette for å unngå tilfeldige feil. PCR-analysene ble utført 26.10.2015 med protokoll 4 (se forrige avsnitt) og samme prøvepreparering med SSoFast EvaGreen supermix.

4.7 PCR-EFFEKTIVITET MED SLOPE METHOD

Teoretisk sett skal det for hver PCR-syklus skje en dobling av amplifiserte produkter. Effektiviteten ble beregnet ved å kjøre PCR på en serie av tifold fortynninger av templat (se tidligere avsnitt med sensitivitetsbestemmelse). En standardkurve ble laget utfra hver fortynning med de tilhørende Cq-verdiene i programmet Excel.

Det ble 22.10.2015 gjort en analyse der hver fortynning av templat ble kjørt kun en gang (se avsnitt 4.6.1), men med åtte ulike fortynninger slik at standardkurven fra denne analysen baseres på minst fire verdier. Det ble deretter gjort en PCR 26.10.2015 med fire fortynninger av templatet, (1: 1000, 1:10 000, 1: 100 000, 1: 1000 000) i triplett (se avsnitt 4.6.2) som det ble beregnet amplifikasjonseffektivitet ut i fra.

4.8 PCR-SPESIFISITET

In silico-spesifisitet ble bestemt ved søk i nucleotide-BLAST (26) på baserekkefølgen til primere. Det ble spesielt lagt vekt på mulige likheter i 3'enden av primer. Søkene ble gjort i september 2015.

Spesifisiteten er og bestemt ved PCR-kjøring mot referansestammene (stafylokokker) nevnt tidligere i oppgaven, se avsnitt 4.2 og mot et utvalg kliniske prøver som er vist å inneholde stafylokokker.

4.9 PCR MED PRIMERPAR *HSP60* OG TAQMAN-PROBE

29.10.2015 ble det bestilt TaqMan-probe for primerparet til *hsp60* fra TIB MOLBIOL Syntheselabor GmbH. Egenskaper for primerassay *hsp60* se avsnitt 5.1.1.5

4.9.1 Fortynning av TaqMan-proben

Proben ble levert tørrvekt og ble fortynnet i MGW. Det ble brukt vortex og spinner både før og etter blandingene.

Stockløsning 100 μ M satt i fryseren 05.11.2015.

Oligo name	Sekvens	Primere Qty (nmol)	Vann som tilsettes proben til 100 μ M
TaqMan-probe <i>hsp60</i>	5'- 6FAM-CCAAGTTCGCTATCTCGTTC -- BBQ 3'	25,4	254 μ l

Bruksløsning på 5 μ M (fortynnet 100 μ M løsningen 1: 20)

Oligo name	Sekvens	Trekkes opp av 100 μ M løsning	Vann som tilsettes 100 μ M løsning
TaqMan probe <i>hsp60</i>	5'- 6FAM-CCAAGTTCGCTATCTCGTTC -- BBQ 3'	25 μ l	475 μ l

Bruksløsningen oppbevares i kjøleskap i minst mulig lys.

4.9.2 Initial PCR med probe kjørt 05.11.2015

Oppsett for en prøve med TaqMan-probe

- 10 μ l PerfeCta multiplex qPCR Supermix fra Quanta Biosciences
- 2 μ l Forward primer *hsp60*
- 2 μ l Revers primer *hsp60*
- 1 μ l Taqman-probe *hsp60*.

20 μ l PCR-brønner med 15 μ l mix og 5 μ l templat. Templat ved førstegangskjøring med TaqManprobe: 0,5 McF ATCC 35984 *S. epidermidis*, 1: 10, 1:100, 1:1000, 1:10 000 og ufortynnet ATCC 35984 DNA isolert fra en koloni. Negativ kontroll med MGW. Sentrifugert 30 sekunder ved 550 rpm.

Protokoll for to-trinns PCR med CFX96 Bio-Rad med TaqMan-probe

1. 95°C 3 minutter
2. 95 °C 10 sekunder
3. 57 °C 30 sekunder.
 - a. 40 syklers trinn 2-3.

4.9.3 PCR med TaqMan-probe, *hsp60* primerassay og referansestammene.

10.11.2015 og 11.10.2015 ble det gjort PCR med TaqMan-proben, primerparet *hsp60* og DNA fra alle referansestammene som templat. Templat ble fortynnet 1: 10 i et av oppsettene. Samme prøvepreparering og protokoll ble brukt som i den initiale kjøringen med probe (se forrige avsnitt).

4.9.4 Sensitivitetsbestemmelse av PCR med TaqManprobe og primerpar *hsp60*

Sensitiviteten til PCR med TaqMan-probe og primersett *hsp60*. Det ble brukt samme DNA-templat, laget 21.10.2015, som ved sensitivitetsbestemmelse med EvaGreen-deteksjon gjort 26.10.2015. Se avsnitt 4.6. Fortynningene (1: 1000, 1: 10 000, 1: 100 000 og 1: 1000 000) ble kjørt i triplett. Samme protokoll og prøvepreparering som ved initial PCR med TaqMan-probe (se avsnitt 4.9.2) ble brukt.

4.9.5 PCR-effektivitet med TaqMan-probe.

Effektiviteten ble beregnet med slope method for primerparet *hsp60* og TaqMan-proben.

Beregningene ble gjort med Cq-verdiene fra fortynningsrekken kjørt med PCR i triplett 10.11.2015 (se avsnitt 4.9.4).

4.10 PCR MED KLINISKE PRØVER SOM TEMPLAT

4.10.1 PCR med kliniske prøver ekstrahert med Qiagen spinnkolonne

Pasientprøver, både blodkulturer og vevskulturer, ble hentet fra avdeling for medisinsk mikrobiologi ved St. Olavs hospital 12.11.2015. Alle prøvene inneholdt stafylokokker. Det ble isolert DNA fra 11 prøver etter samme protokoll som er beskrevet under «isolering av DNA», se avsnitt 4.3. Unntak fra denne fremgangsmåten var at lysisløsningen ble blandet med 300µl av pasientprøvene.

Det ble gjort PCR på de kliniske prøvene 13.11.2015. Prøvepreparering og protokoll som i avsnitt 4.6.2. Kjøringen med det kliniske oppsettet var blindet.

4.10.2 PCR av kliniske prøver med DNA-ekstraksjon med easyMag®

Qiagen spinnkolonner er ikke beregnet for så mye klinisk materiale som ble tilsatt (300 µl)

12.11.2015, derfor ble det gjort et nytt forsøk på DNA-ekstraksjon. Det ble gjort på samme måte som i rutine-PCR-undersøkelser på St. Olavs hospital; med en silicabasert automatisert metode spesielt

beregnet for klinisk materiale. 200µl klinisk materiale ble satt inn i NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux®), det ga 55 µl eluat. easyMag® klarte ikke produsere eluat fra pasientprøve 4 og 9.

Det ble gjort ny PCR 18.11.2015 med *hsp60*-primerassay og probe med samme prøvepreparering og PCR-protokoll som beskrevet under førstegangskjøringen for TaqMan-probe, avsnitt 4.9.2.

4.10.3 Gradientanalyse med kliniske prøver

Det ble gjort en gradientanalyse med klinisk prøve nummer 2, 5, 10, 11 og 12 19.11.2015 fordi disse prøvene ble amplifisert ved PCR gjort 18.11.2015, se avsnitt 5.5.1. Dette ble gjort for å se om de prøvene som skulle inneholde *S. epidermidis* (2 og 5) kunne skilles fra de med *S. aureus* (10, 11 og 12) ved høyere temperatur. Samme prøvepreparering som ved tidligere kjøring ble brukt. Ny protokoll med ulik temperatur i radene. 57 °C ble valgt i brønn E siden dette har blitt brukt som annealingtemperatur ved tidligere kjøring. Programvaren til CFX 96 Bio-Rad valgte resten av temperaturene, range 15 °C.

Protokoll:

1. 95°C 3 minutter
2. 95 °C 10 sekunder
3. Gradient i hver rad, 30 sekunder
 - a. 66,1 °C
 - b. 65,2 °C
 - c. 63,6 °C
 - d. 60,6 °C
 - e. 57,0 °C
 - f. 54,1 °C
 - g. 52,1 °C
 - h. 51,1 °C

Step 2-3 i 40 sykler.

4.10.4 PCR av kliniske prøver med EvaGreen-deteksjon

Prøve 2, 5, 10, 11 og 12 ble kjørt med SsoFastEvaGreen Supermix 19.11.2015 med samme prøvepreparering og PCR-protokoll som PCR med sensitivitetsbestemmelse med EvaGreen (se avsnitt 4.6.1). Annealingtemperatur 57 °C. De kliniske prøvene ble kjørt med EvaGreen for å se om det amplifiseres PCR-produkt med noenlunde samme smeltepunkt som for *S. epidermidis*.

4.10.5 PCR med rene stammer fra oppvekst i kliniske prøver

Isolerte stammer fra klinisk prøve nummer 11 og 12 ble hentet opp fra fryseren 20.11.2015. Det ble isolert DNA fra stammene med samme prosedyre som for referansestammene (se avsnitt 4.3) 23.11.2015.

Det ble gjort PCR av prøve 11 og 12 og referansestammen ATCC 35984 (*S. epidermidis*). Templat var eluatet fra stammene ufortynnet, fortynning 1:100 og 1: 10 000. ATCC 35984 ble fortynnet 1:10 og 1:10 000.

PCR ble gjort med TaqMan-probe og primerassay *hsp60*. Prøvepreparering og protokoll se tidligere avsnitt 4.9.2. PCR ble og gjort på samme templatere som nevnt over med EvaGreen-deteksjon. Da ble både primerparet *hsp60* og *rpoB* brukt. Prøveprepareringene og protokoll som beskrevet i avsnitt 4.6.1.

I begge PCR-reaksjonene, både med og uten probe, er det brukt annealingtemperatur 57°C slik at de er mest mulig sammenliknbare.

4.10.6 PCR av kliniske prøver med DNA reisolert på easyMag®

På grunn av mistanke om kontaminasjon ble DNA reisolert med easyMag® fra klinisk prøve 11 og 12 (vevsprøver) 24.11.2015. Slik gjøres det og i rutineundersøkelser av pasientprøver om man mistenker at resultatet er feil.

Templat var eluatet fra reisolert eluat ufortynnet, fortynning 1:100 og 1: 10 000. ATCC 35984 ble fortynnet 1:10 og 1: 10 000. Primerpar *hsp60* og EvaGreen-deteksjon ble kjørt 24.11.2015 og med TaqMan-probe 25.11.2015.

5 RESULTATER

5.1 *IN SILICO*-ANALYSER

5.1.1 Valg av målggen, primerdesign og *in silico*-spesifisitet

Etter å ha studert genene nevnt i innledningen (se avsnitt 3.4), ble det valgt ut fem gener til å jobbe videre med: *sodA*, *gap*, *tuf*, *rpoB* og *hsp60*. Det ble designet et PCR-assay for hvert av de nevnte gener. For alle assays ble det i tillegg designet en TaqMan-probe - i tilfelle det senere i oppgaven kunne bli aktuelt å prøve ut dette. I utgangspunktet var det det tenkt EvaGreen-deteksjon av produktet. Videre følger en beskrivelse av de designede primere, egenskaper og spesifisitet *in silico* gjort ved BLAST-søk.

Kommentar til tabeller: T_m er beregnet smeltetemperatur for primerne. NN forkortelse for nearest neighbour-metoden og den andre metoden bruker formelen: 2(A+T) + 4(G+C). NN går for å være mest nøyaktig. For primerparene er det tatt hensyn til kriteriene for primer- og probedesign nevnt i materiale og metode-delen, se avsnitt 4.1.2.

5.1.1.1 *gap*

gap er et «housekeeping» gen, høyt konserverert og koder for glyceraldehyd 3-phosfat dehydrogenase. Alignment fra Clustal Omega vises i vedlegg 1 og 2.

Tabell 1 Primere og TaqManprobe for *gap*

Gen	Sequence (5' - 3')	Position	GenBank AccN
<i>gap</i>			JQ728491
Forward	5' GGAGAAGTTGAAGTTATCGAAG 3'	137 - 158	
Revers	5' GCTAATGAGTTAGTAGTACAAG 3'	441- 420	
Probe	5' ATCTAAATCGCCCCATGGTA 3'	319 - 238	

Tabell 2 Egenskaper for primer og probe for *gap*

Primerpar <i>gap</i>	Forward	Revers	Probe
Ant. basepar	22	22	20 (minusstrand)
Produktlengde	305 bp		
T _m i °C NN/2(A+T)+4(G+C)	52,1/60	51,5/60	56,6/58
Duplex	Ok, fri 3' ende	OK	Ok
Mixed Dupelx	OK		
Hairpins	Ok	Ok	Ok
GC-innhold	41%	36,4 %	45% Ingen G i 5'enden.
Internal stability (Anbefalt verdier mellom -6,4 og - 8)	Ok, men ikke helt optimal. 3'enden i referanseområdet, men baseparene før ligger ganske langt under.	Ok, ikke helt optimal (-6,2 i 3'enden). Anbefalt mellom -6,4 og - 8.	OK

Etter søk i BLAST var forwardprimer 100% lik med *S. caprae* og *Rhodopseudomonas viridis*. 3'enden er den viktigste delen for å gjøre primeren spesifikk og var og lik for *S. saccharolyticus* og en del andre mikroorganismer som ikke tillegges vekt. Siden reversprimer kun fikk 100% treff med *S. epidermidis* anses ikke treffene med *S. caprae* og *S. saccharolyticus* å påvirke PCR.

5.1.1.2 *sodA*

sodA koder for manganavhengig superoxid dismutase i 40 ulike KNS. Det er et konservert gen og kan egne seg for å påvise *S. epidermidis*. Alignment fra Clustal Omega vises i vedlegg 7 og 8.

Tabell 3 Primere og probe for *sodA*

Gen	Sequence (5' - 3')	Position	GenBank AccN
<i>sodA</i>			EU652774
Forward	5' TTAAATTCAGCAGTTGAAGGGA 3'	67-88	
Revers	5' ACAACTAACCAAGCCCAT 3'	350- 333	
Probe	5' TTGCTAATTTAGATAGTGTGCCAT 3'	122-145	

Tabell 4 Egenskaper for primer og probe *sodA*

<i>sodA</i>	Forward	Revers	Probe
Ant. basepar	22	18	24 (plusstrand)
Produktlengde	284 bp		
Tm i °C NN/2(A+T)+4(G+C)	52,1/60	55,8/52	56,7/64
Duplex	Ok	Ok, fri 3'ende	OK
Mixed Dupelx	OK		
Hairpins	Ok	OK	OK
GC-innhold	36,4 %	44%	Ikke GC-klustre i probeende, ingen G i 5'enden.
Internal stability	OK	OK	OK

Etter søk i BLAST var det 100% treff kun med *S. epidermidis* for forwardprimer. Reversprimer var 100% lik *Streptococcus dysgalactica* og *Lactococcus lacti*, men siden ingen hadde lik sekvens som forwardprimer er det i teorien kun *S. epidermidis* primerparet skal være spesifikt for.

5.1.1.3 *rpoB*

rpoB koder for beta-subenheten til DNA-polymerase hos bakterier. Alignment fra Clustal O er vist i vedlegg 6 og 7.

Tabell 5 Primere og probe for *rpoB*

Gen	Sequence (5' - 3')	Position	GenBank AccN
<i>rpoB</i>			EF173659
Forward	5'TGAAACGCCATATCGTAAAGTG 3'	344 - 365	
Revers	5' CAAGTCTAGAATTAGCCTGT 3'	459 - 440	
Probe	5' TAGCTATCCTCTTCATCAGCTGTC 3'	407 - 426	

Tabell 6 Egenskaper for primere og probe *rpoB*

<i>rpoB</i>	Forward	Revers	Probe
Ant. basepar	22	20	24 (minusstrand)
Produktlengde	116 bp		
Tm i °C NN/2(A+T)+4(G+C)	54,3 /62	54,1/56	59/70
Duplex	OK	OK	OK
Mixed Dupelx	OK		
Hairpins	OK	OK	OK
GC-innhold	41%	40%	45,8%
Internal stability	OK	OK	OK

Søk i BLAST viser forwardprimer 100% likhet med *Pseudomonas flectens* i tillegg til *S. epidermidis*. Andre med store likheter og full likhet i 3'enden er: *Pasturellaceae bacterium*, *Vespertiliibacter pulmonis*, *Otariodibacter oris*, *Haemophilus felis* og noen andre mikroorganismer som ikke tillegges vekt i en klinisk setting. Reversprimer viser ikke store likheter med noen mikroorganismer som regnes av betydning.

5.1.1.4 *tuf*

Elongation factor Tu kodes av *tuf*-genet. Dette brukes allerede som påvisning av KNS på St. Olavs hospital, men differensierer ikke mellom de ulike KNS. Alignment fra Clustal O kan ses i vedlegg 9 og 10.

Tabell 7 Primere og probe for *tuf*

Gen	Sequence (5' - 3')	Position	GenBank AccN
<i>tuf</i>			HM627887
Forward	5' AGTTGAAATCATCGGTATGC 3'	296 - 315	
Revers	5' TGTGGGCGATAGTTAGTG 3'	559 - 542	
Probe	5' AAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCT 3'	442 - 464	

Tabell 8 Egenskaper for primere og probe *tuf*

<i>tuf</i>	Forward	Revers	Probe
Ant. basepar	20	18	23
Produktlengde	264 bp.		
Tm i °C NN/2(A+T)+4(G+C)	54,6/56	54/54	59/66
Duplex	OK	OK	OK
Mixed Dupelx	OK		
Hairpins	OK	OK	OK
GC-innhold i %	40 %	50 %	43 %
Internal stability	OK	OK	Ok

BLAST-søk på forwardprimer til *tuf* viser 100% likhet med *S. cohnii*, *S. saccharolyticus*, *S. kloosii*, *Serratia rubidaea*. Det er og store likheter i baserekkefølgen og lik 3'ende med *S. equorum*. BLAST-søk på reversprimer viser ikke treff med de samme bakteriene som forwardprimer, men 100% likhet med *Triticum aestivum*. Likheter i rekkefølge og lik 3'ende som *Mus musculus*, *Corynebacterium mustlae*, *Ascaris lumbricoides*, *H. pylori South Africa*, *Anisakis simplex*, *Serratia fonticola*.

5.1.1.5 *hsp60*

Heat shock-proteiner er viktige for unngå varmeskade på andre proteiner i bakterien. Genene er høykonserverte og en kan derfor regne med å finne det i alle *S. epidermidis*. Alignment av genet fra Clustal Omega kan leses i vedlegg 3 og 4.

Tabell 9 Primere og probe for *hsp60*

Gen	Sequence (5' - 3')	Position	GenBank AccN
<i>Hsp60</i>			EU659874
Forward	5' GTGCAAATCCTGTAGGCTTAA 3'	51- 71	
Revers	5' CAGAAATGTAGCGACCGA 3'	209 -192	
Probe	5'CCAACCTTGCGCTATCTCGTTC 3'	145 - 164	

Tabell 10 Primer og probeegenskaper for *hsp 60*

<i>hsp60</i>	Forward	Revers	Probe
Ant. basepar	21	18	21 (minusstrand)
Produktlengde	159 bp		
Tm i °C NN/2(A+T)+4(G+C)	54,7/60	56,2/54	60,4/64
Duplex	Ok	Ok	Ok
Mixed Dupelx	Reversprimer med probe (G fri energi -2,5kcal/mol)		
Hairpins	Ok	Ok	Ok
GC-innhold	42%	50%	52% GC-clustere i enden OK Ikke G i 5'ende
Internal stability	Ok	Ok	Ok

BLAST-søk på forwardprimer viste 100% likhet med *S. saccharolyticus*, *S. muscae*, *Sebaldella termitidis*. Store likheter og lik 3'ene og med *Cl. botulinum*. Reversprimer får 100 %treff med baserekkefølgen til *S. saprophyticus*, men ingen andre mikroorganismer som sannsynligvis har betydning for PCR. *In silico*-analysen anses derfor som spesifikk for *S. epidermidis*.

I de neste avsnitt beskrives resultater fra søk som gjorde at de følgende genene ble valgt bort for primerdesign.

16S rRNA inneholder hypervariable områder som kan være species-spesifikke og egne seg for identifikasjon av bakterier. Etter søk i GenBank på «*Staphylococcus epidermidis* AND 16S rRNA» ble det valgt ut en konsensussekvens. Konsensussekvensen på 1554 basepar (aksjesjonsnummer: NR_074995) ble søkt på i BLAST. Siden det var veldig liten forskjell mellom *S. epidermidis* og andre vanlige stafylokokker ble genet ansett som uegnet for å lage en PCR. En ønsker helst flere ulikheter i baserekkefølgen for å lage en spesifikk primer. Sekvensen til *S. capitis* var blant annet likt i 1545/1554 basepar.

atlE-genet skal være mer prevalent i de invasive *S. epidermidis* enn i hudflora. Målet med oppgaven skulle være å påvise alle *S. epidermidis*, ikke bare se på de med en spesiell virulensfaktor. *atlE* genet fins ikke i alle *S. epidermidis* og genet ble derfor ansett som uegnet for formålet.

Det var vanskelig å søke på *nuc* som gen i GenBanken, få treff og sekvenserte stammer på dette genet. Valget ble derfor å heller å fokusere på noen av de andre kandidatene.

femA-SE genet presenteres som en god kandidat for real-time PCR-assay for *S. epidermidis* i en studie fra 2010(13). *femA* koder for factor essential for methicillin resistance. Siden kun 60-70% av *S. epidermidis* er meticillinresistente anses genet som uegnet for å påvise alle *S. epidermidis* i denne oppgaven.

5.2 MALDI-TOF ID-BESTEMMELSE AV STAMMENE

Stammene (se avsnitt 4.2 om referansestammer) tatt opp av fryseren 25.09.2015 ble ID-bestemt 30.09.2015. Bildet er en scannet utskrift av resultater fra MALDI-TOF-maskinen. Alle stammer er satt opp dobbelt for kontroll. *S. condimenti* har på det ene feltet ikke fått nok materiale og er derfor merket som «*not reliable identification*».

Result Overview

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
G8 (++) (A)	CCUG 7323T	Staphylococcus haemolyticus	2.08	Staphylococcus haemolyticus	1.966
G9 (+) (B)	CCUG 7323T	Staphylococcus haemolyticus	1.878	Staphylococcus haemolyticus	1.843
G10 (++) (A)	CCUG 7326	Staphylococcus capitis	2.21	Staphylococcus capitis	2.158
G11 (++) (A)	CCUG 7326	Staphylococcus capitis	2.275	Staphylococcus capitis	2.253
G12 (++) (A)	CCUG 17621	Staphylococcus aureus	2.156	Staphylococcus aureus	1.861
H1 (++) (A)	CCUG 17621	Staphylococcus aureus	2.179	Staphylococcus aureus	1.858
H2 (-) (C)	107749-14	not reliable identification	1.615	not reliable identification	1.362
H3 (+) (B)	107749-14	Staphylococcus condimenti	1.842	not reliable identification	1.678
I4 (++) (A)	ATCC 35984	Staphylococcus epidermidis	2.141	Staphylococcus epidermidis	2.066
I5 (++) (A)	ATCC 35984	Staphylococcus epidermidis	2.099	Staphylococcus epidermidis	2.08
I6 (++) (A)	132349-15	Staphylococcus hominis	2.107	Staphylococcus hominis	2.175
I7 (++) (A)	132349-15	Staphylococcus hominis	2.213	Staphylococcus hominis	2.052
I8 (++) (A)	110000-15	Staphylococcus lugdunensis	2.125	Staphylococcus lugdunensis	2.096
I9 (+) (B)	110000-15	Staphylococcus lugdunensis	1.354	Staphylococcus lugdunensis	1.735

Figur 3 Resultater fra MALDI-TOF med ID-bestemmelse av referansestammene.

5.3 PCR

5.3.1 Fargeforklaring:

Alle stammene er representert med de samme fargene i videre grafer. Grafene er skjermdumper fra programmet CFX96 Bio-Rad.

- *S. haemolyticus*, CCUG 7323T
- *S. capitis*, CCUG 7326
- *S. aureus*, CCUG 17621
- *S. condiment*, 107749 – 14
- *S. epidermidis*, ATCC 35984
- *S. hominis*, 132349 -15
- *S. lugdunensis*, 110000-15
- Negativ kontroll

5.3.2 Resultat fra real-time PCR med EvaGreen, alle primerpar og ufortynnet templat. Protokoll 1.

Kommentarer til tabell

CT: cycle threshold. Skjæringspunktet mellom amplifikasjonskurven og terskelverdien (threshold line), denne linjen er satt til 200 RFU (relative fluorescence units, mål der man har deteksjon av fluorescens) for alle prøver. CT-verdien er det syklusnummeret hvor fluorescensen passerer terskelverdien. Det er et relativt mål på konsentrasjonen i PCR-reaksjonen. Samme som Cq-verdi.

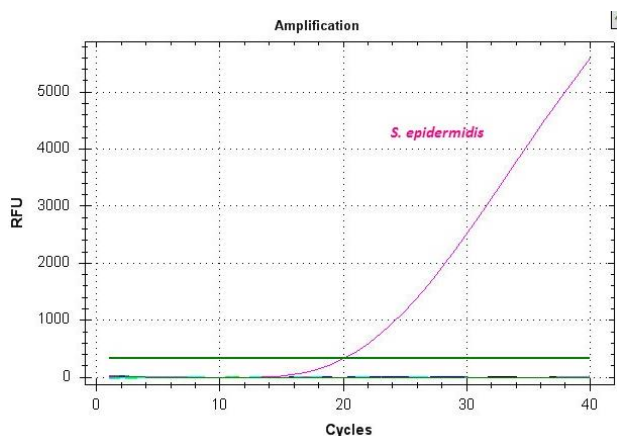
Melt temp: smeltetemperaturen for produktene i PCR-reaksjonen i °C.

Tabell 11 CT-verdier og smeltetemperaturer for initial PCR-analyse med alle primerassay

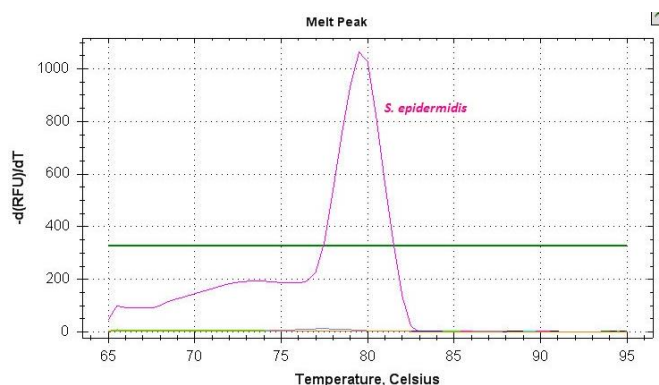
	CCUG 7323T <i>S. haemolyticus</i>	CCUG 7326 <i>S. capitis</i>	CCUG 17621 <i>S. aureus</i>	107749 – 14 <i>S. condimentii</i>	ATCC 35984 <i>S. epidermidis</i>	132349 - 15 <i>S. hominis</i>	110000-15I <i>S. lugdunensis</i>	Neg. kontroll
<i>hsp60</i> Melt temp					79,50			
<i>hsp60</i> CT					18,71			
<i>gap</i> Melt temp	79,00	79,00		79,00	78,50	78,00	78,50	
<i>gap</i> CT	31,86	17,86		32,58	15,26	33,33	34,91	
<i>sodA</i> melt temp	78,50	78,50	78,50		78,50	77,00	78,50	
<i>sodA</i> CT	38,72	33,84	38,49		16,22	28,99	30,59	39,98
<i>tuf</i> Melt temp	81,00	81,00	80,50	79,50	80,50		75,50	
<i>tuf</i> CT	25,93	16,66	34,06	29,20	18,35		38,31	
<i>rpoB</i> melt temp					76,00			
<i>rpoB</i> CT					16,65			

Leser av tabellen at alle primerpar er amplifisert minst en gang, det vil si at det er tilstrekkelig DNA i alle prøvene til å bli oppformert, men det er usikkert om det er sammenliknbare mengde DNA i alle prøvene.

hsp60. Kun *S. epidermidis* ble amplifisert i reaksjonen med annealingtemperatur 52° C. Primerparet kan derfor tolkes som spesifikt for *S. epidermidis*. Se CT-verdier og smeltetemperaturer i tabell 11. Det ble i førsteomgang kun kjørt med annealingtemperatur 52° C, det må derfor gjøres en gradientanalyse for å se om det dannes andre produkter ved høyere og lavere annealingtemperaturer. Videre ses graf som viser amplifikasjonskurve og smeltepunktsskurve.



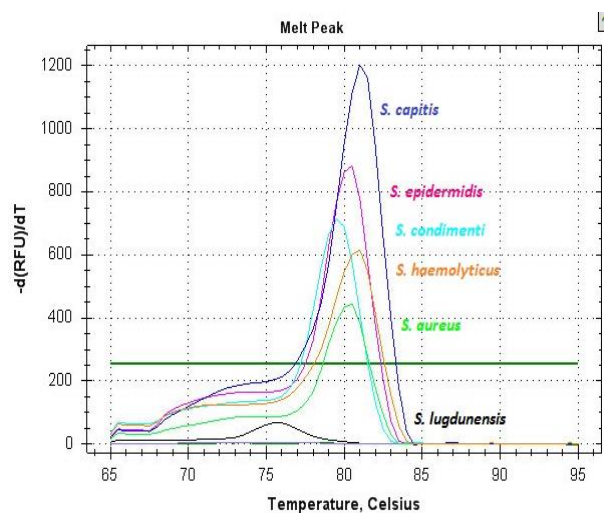
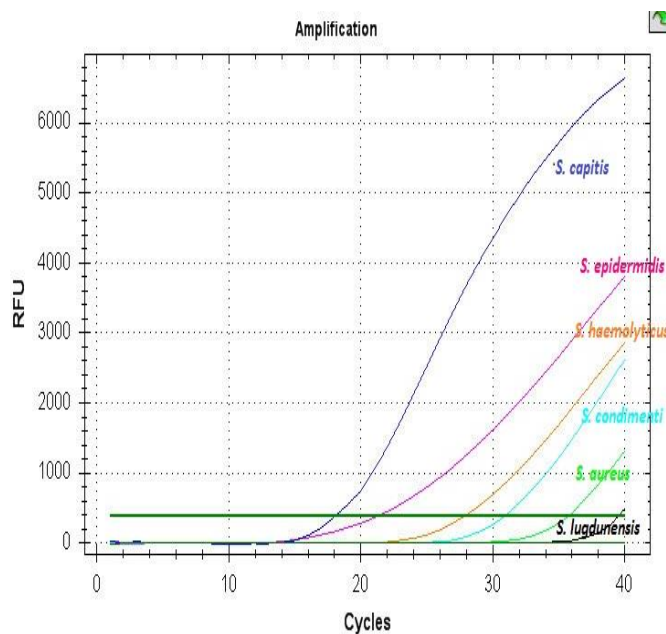
Figur 4 Amplifikasjon av hsp60 (kjørt med protokoll 1)



Figur 5 Smeltepunktsskurven for hsp60 (kjørt med protokoll 1)

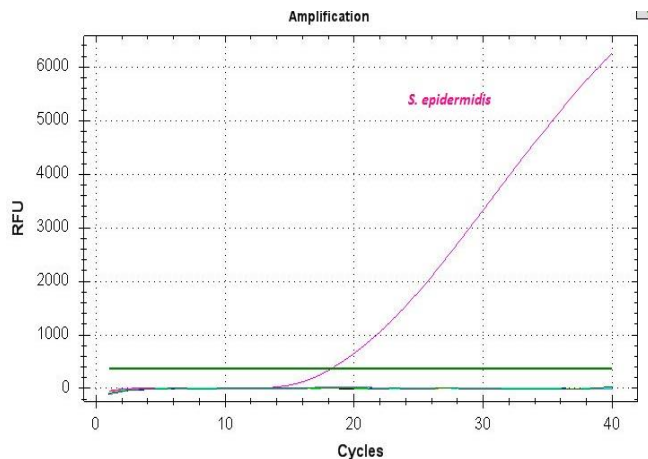
tuf. *S. capitis*, *S. epidermidis*, *S. condimentii*, *S. haemolyticus* og *S. aureus* ble amplifisert.

Den lille toppen av *S. lugdunensis* ved 75,50 °C (se smeltepunktsskurve) tolkes som uspesifikke primerdimerer, den har en høy CT-verdi og en smeltepunktsskurve som avviker klart fra de andre. Ved protokollen som er kjørt med 52 °C tolkes smeltepunktene som for like (se tabell) for å skille *S. epidermidis* fra de øvrige stammene. Det skal derfor gjøres en gradientanalyse for å se nærmere på om andre temperaturer skiller dem bedre.

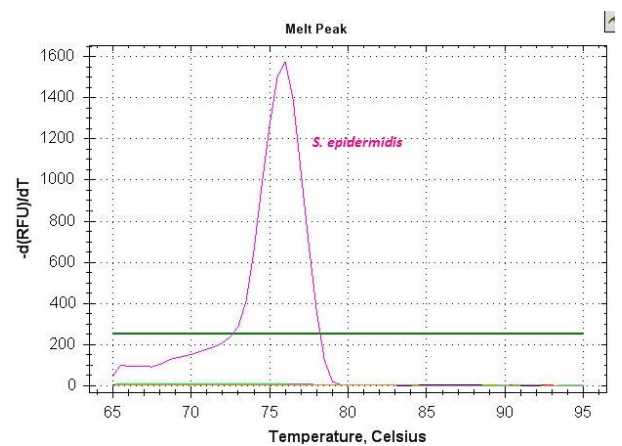


Figur 6 Til venstre amplifikasjonskurve for tuf (protokoll 1), til høyre ses smeltepunktsskurve.

rpoB. *S. epidermidis* var den eneste stammen som ble amplifisert i reaksjonen. Primerparet kan derfor tolkes som spesifikt. Se CT-verdier og smeltetemperaturer i tabell. Det skal gjøres gradientanalyse for å se om andre stammer amplifiseres ved andre annealingtemperaturer.

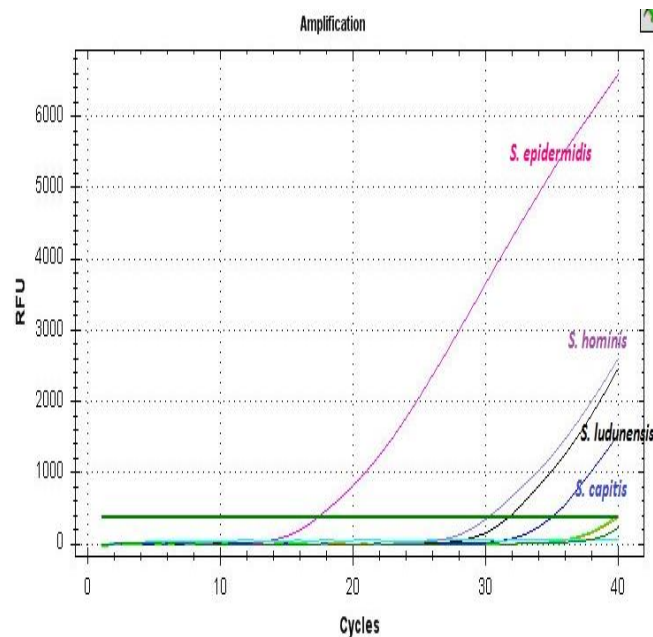


Figur 7 Amplifikasjonskurve for *rpoB* (protokoll 1)

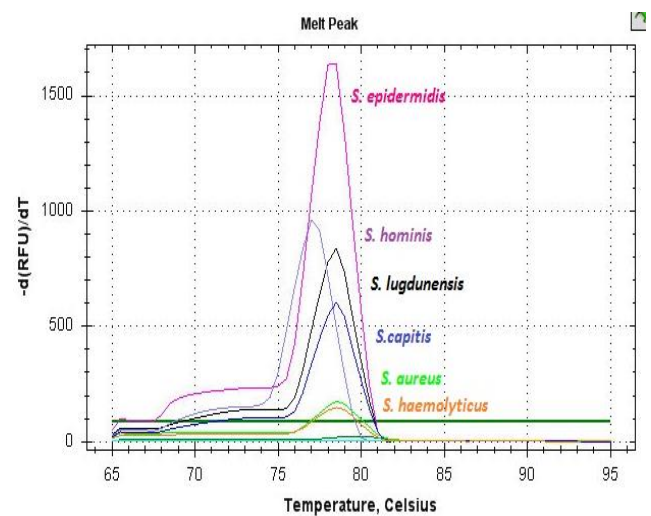


Figur 8 Smeltekurve for *rpoB* (protokoll 1)

sodA. *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*, *S. aureus* og *S. haemolyticus* ble amplifisert i reaksjonen. *S. epidermidis* hadde lavest CT-verdi, se tabell 11. Smeltepunktet til *S. epidermidis* var likt (78,50 °C) som *S. haemolyticus*, *S. aureus* og *S. lugdunensis* og skilte bare 0,5 °C fra *S. hominis*. Det blir derfor vanskelig å skille ut *S. epidermidis* med denne protokollen.

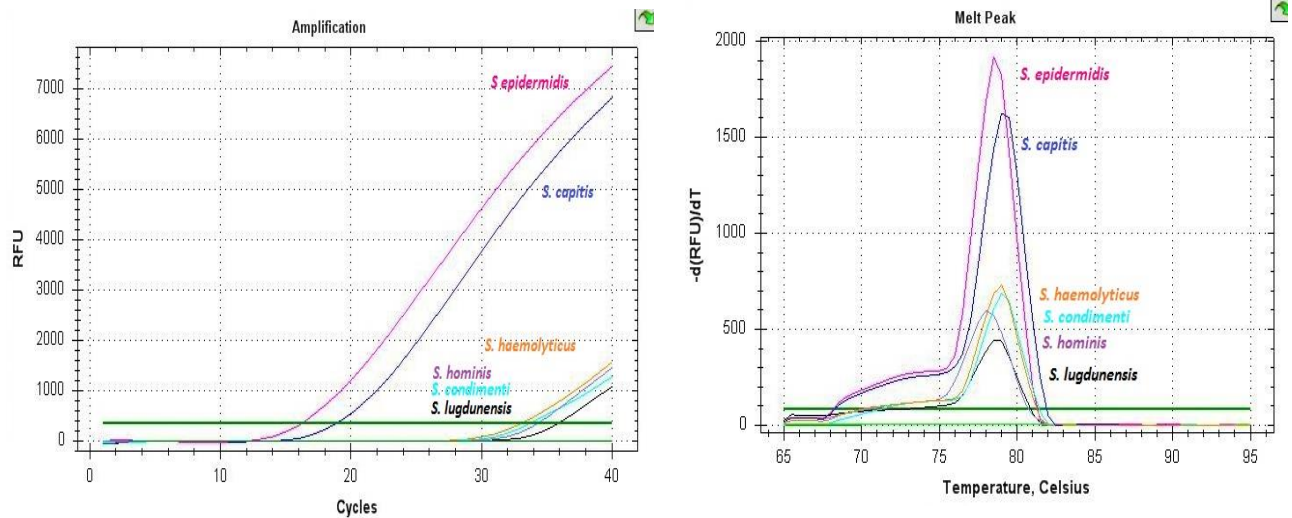


Figur 9 Amplifikasjonskurve for *sodA* (protokoll 1)



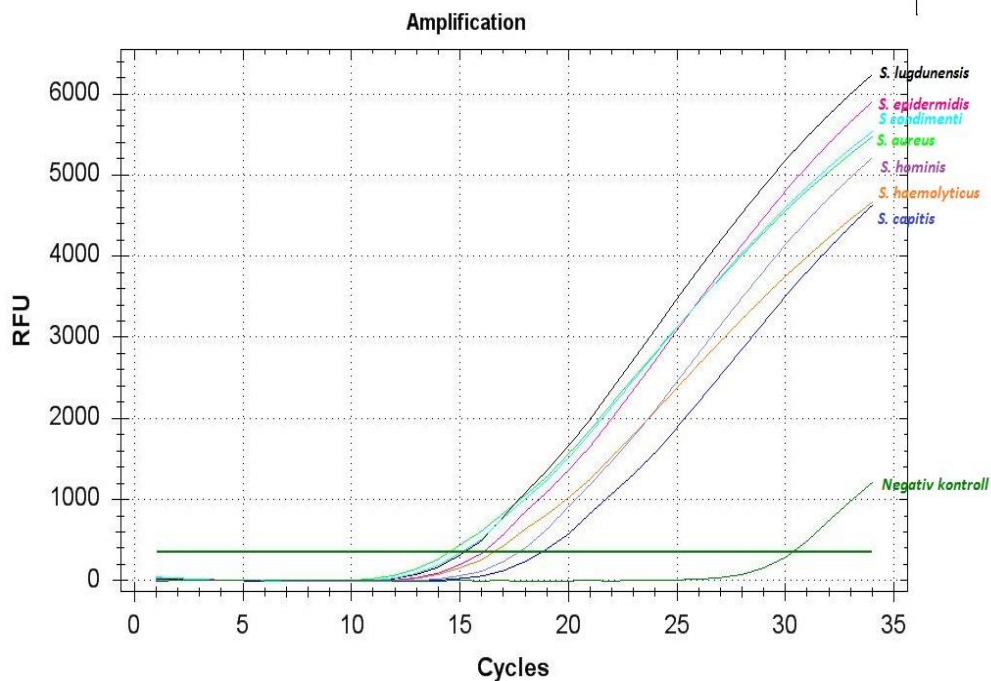
Figur 10 Smeltekurve for *sodA* (protokoll 1)

gap. Alle referansestammene unntatt *S. aureus* ble amplifisert. *S. capitis* og *S. epidermidis* hadde lavest CT-verdier (17,86 og 15, 26). Smeltepunktene varierer fra 78,00 °C – 79,00 °C og er derfor for like til å skille ut *S. epidermidis* spesifikt.



Figur 11 Til venstre amplifikasjonskurve gap (protokoll 1). Til høyre smeltekurve gap (protokoll 1)

5.3.3 Resultat fra 16S rRNA universell PCR



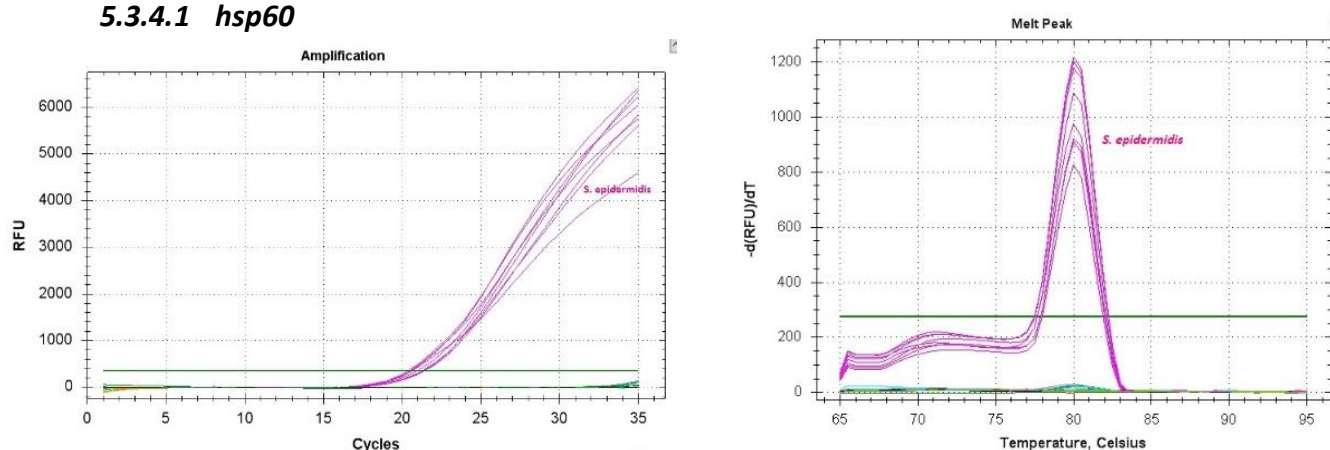
Figur 12 amplifikasjonskurve for 16S universal PCR.

Alle stamme ble amplifisert av den universelle PCR for 16S, det tolkes som at det er DNA-materiale i alle prøvene. Et negativt resultat med et spesifikt primerpar (i de andre reaksjonene) kan derfor tolkes som reelt negativt. Den negative kontrollen slår som ventet positivt ut. 16S er en PCR som skal dekke og oppformere alle bakterier, det fins bakterielt materiale overalt, i reagenser, utstyr og vann.

Cq-verdier og smeltepunkt ved 16S rRNA universal-PCR								
	CCUG 7323T <i>S. haemolyticus</i>	CCUG 7326 <i>S. capitis</i>	CCUG 17621 <i>S. aureus</i>	107749 – 14 <i>S. condimenti</i>	ATCC 35984 <i>S. epidermidis</i>	132349 - 15 <i>S. hominis</i>	110000-15I <i>S. lugdunensis</i>	Negativ kontroll
16S Melt temp	85,50	85,50	85,50	85,50	85,50	85,50	85,50	
16S CT	16,07	18,20	14,02	14,52	15,51	17,20	14,68	29,86

5.3.4 Resultater fra gradientanalyse

5.3.4.1 *hsp60*

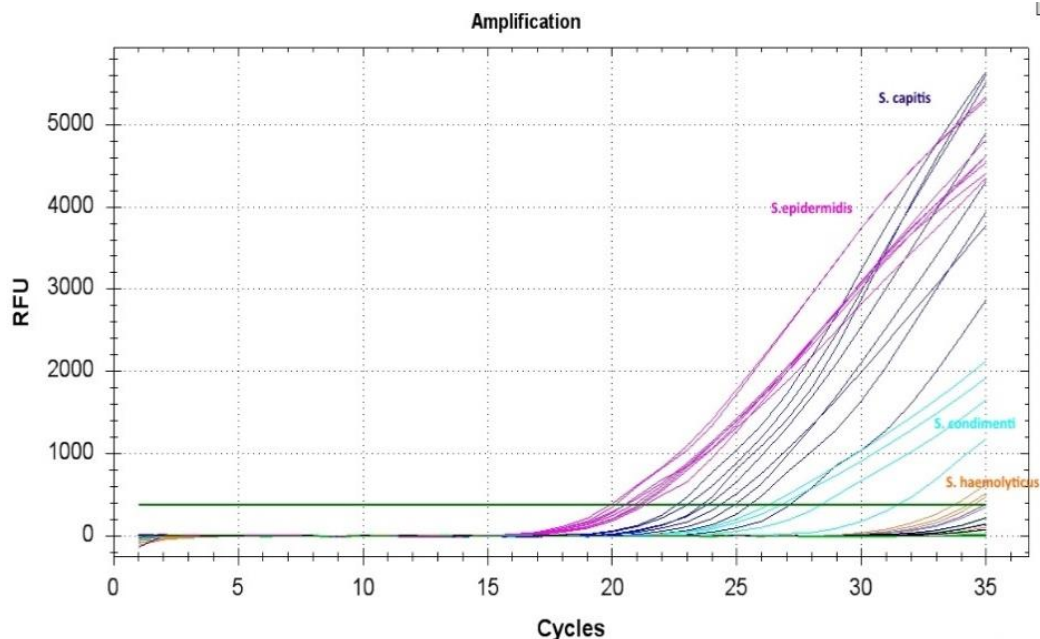


Figur 13 Til venstre er amplifikasjonskurven og til høyre vises smeltepunktsskurven for gradientanalyse medl primerpar *hsp60*

Tabell gradientanalyse <i>hsp60</i> . Cq-verdier og smeltetemperatur etter oppsett i PCR-maskinen.								
<i>hsp60</i>	CCUG 7323T <i>S. haemolyticus</i>	CCUG 7326 <i>S. capitis</i>	CCUG 17621 <i>S. aureus</i>	107749 – 14 <i>S. condimenti</i>	ATCC 35984 <i>S. epidermidis</i>	132349 - 15 <i>S. hominis</i>	110000-15I <i>S. lugdunensis</i>	Neg. kontroll
64,3°C					80, 00 °C 20,65 (Cq)			
63,1 °C					80, 00 °C 20,53 (Cq)			
60,9 °C					80, 00 °C 20,42 (Cq)			
56,9 °C					80, 00 °C 20,56 (Cq)			
52°C					80, 00 °C 21,00 (Cq)			
48,2 °C					80, 00 °C 21,46 (Cq)			
45,5 °C					80, 00 °C 21,40 (Cq)			
44,3 °C					80, 00 °C 21,30 (Cq)			

Kun *S. epidermidis* blir oppformert av primersettet til *hsp60* ved PCR-reaksjoner kjørt med ulike temperaturer. Cq-verdiene er ganske like, noe som er en styrke for primersettet. Lavest Cq-verdi ses ved 60,9 °C.

5.3.4.2 gap



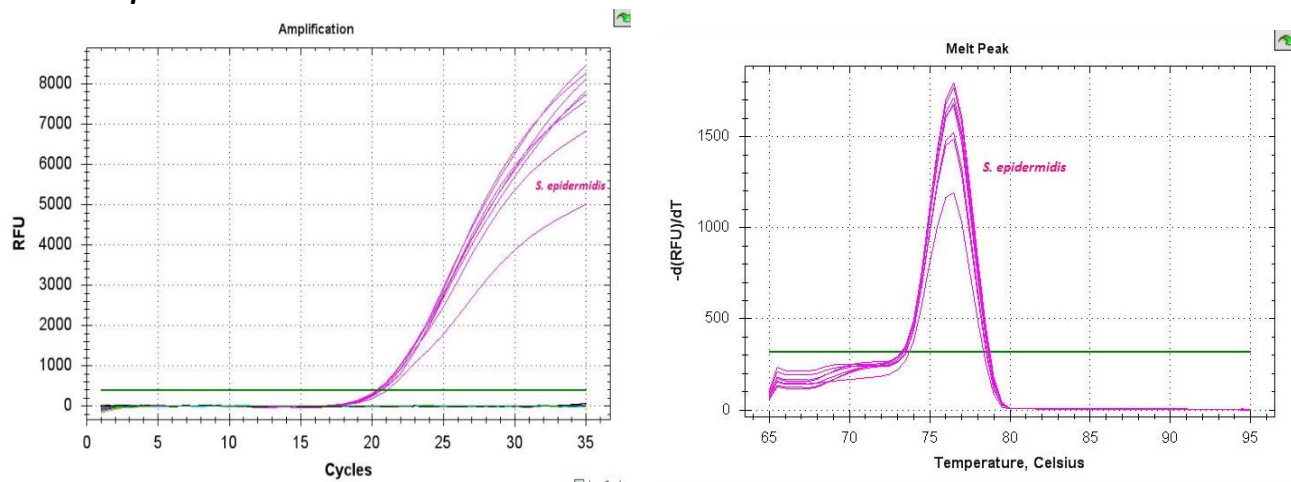
Figur 14 Amplifikasjonskurve gradientanalyse av gap

Tabell gradientanalyse <i>gap</i> . Cq-verdier og smeltetemperatur etter oppsett i PCR-maskinen.								
<i>gap</i>	CCUG 7323T <i>S. haemolyticus</i>	CCUG 7326 <i>S. capitis</i>	CCUG 17621 <i>S. aureus</i>	107749 – 14 <i>S. condimenti</i>	ATCC 35984 <i>S. epidermidis</i>	132349 - 15 <i>S. hominis</i>	110000-151 <i>S. lugdunensis</i>	Neg. kontroll
64,3°C		79,50 °C 27,10 (Cq)			79,00 °C 20,47 (Cq)			
63,1 °C		79,50 °C 25,40 (Cq)			79,00 °C 20,10 (Cq)			
60,9 °C		79,50 °C 23,56 (Cq)			79,00 °C 21,29 (Cq)			
56,9 °C		79,50 °C 22,55 (Cq)			79,00 °C			
52°C	79,50 °C 34,88 (Cq)	79,50 °C 22,99 (Cq)		79,50 °C 31,41 (Cq)	79,00 °C 20,50			
48,2 °C	79,50 °C 33,68 (Cq)	79,50 °C 23,79 (Cq)		79,50 °C 28,34 (Cq)	79,00 °C 20,81 (Cq)			
45,5 °C	79,50 °C 34,23 (Cq)	79,50 °C 24,31 (Cq)		79,50 °C 26,73 (Cq)	79,00 °C 21,04 (Cq)			
44,3 °C	79,50 °C 34,46 (Cq)	79,50 24,88 (Cq)		79,50 °C 26,24 (Cq)	79,00 °C 21,14 (Cq)	78,50 °C 34,94 (Cq)		

S. capitis, i tillegg til *S. epidermidis*, ble oppformert ved alle temperaturer. *gap*-primerparet er derfor ikke spesifikt for kun *S. epidermidis*. Ved økt temperatur bortfaller reaktiviteten for *S. haemolyticus*,

S. condimenti og *S. hominis*. Smeltepunktene på henholdsvis 79,50°C og 79,00 °C er for lite for å skille de to på en sikker måte.

5.3.4.3 *rpoB*



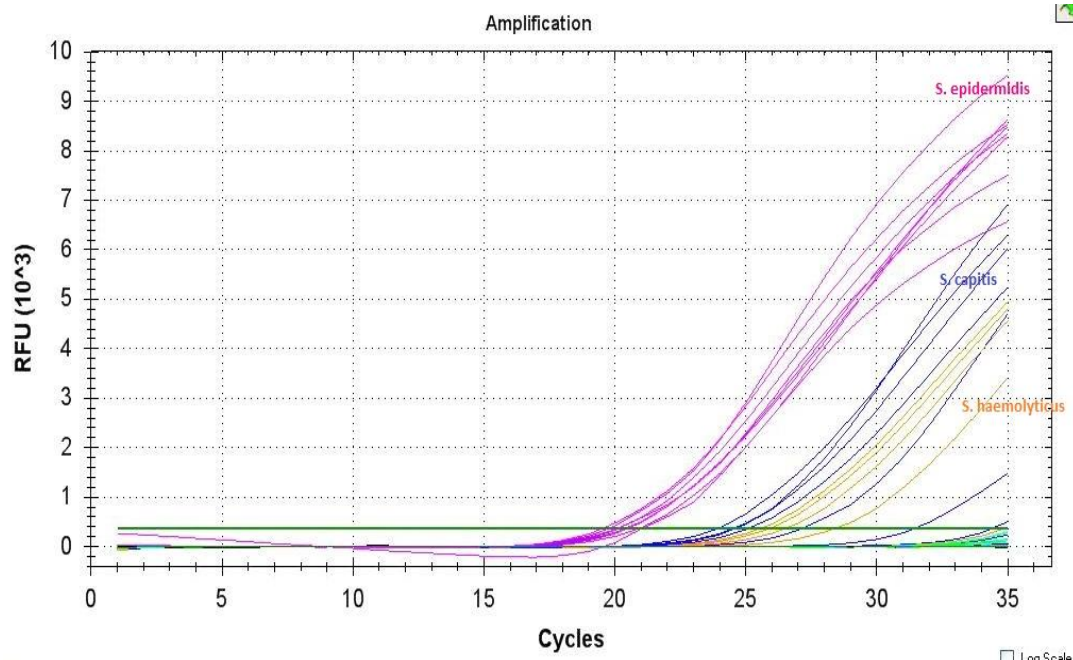
Figur 15 Amplifikasjonskurve (til venstre) og smeltepunktsskurve (til høyre) for gradientanalyse med *rpoB*.

Primerparet *rpoB* er spesifikt for *S. epidermidis* ved alle temperaturer. Cq-verdiene er omtrent de samme for alle annealingtemperaturer.

Tabell gradientanalyse *rpoB*. Cq-verdier og smeltetemperatur etter oppsett i PCR-maskinen.

<i>rpoB</i>	CCUG 7323T <i>S. haemolyticus</i>	CCUG 7326 <i>S. capitis</i>	CCUG 17621 <i>S. aureus</i>	107749 – 14 <i>S. condimenti</i>	ATCC 35984 <i>S. epidermidis</i>	132349 - 15 <i>S. hominis</i>	110000-15I <i>S. lugdunensis</i>	Neg. kontroll
64,3°C					76, 50 °C 21,05 (Cq)			
63,1 °C					76,50 °C 20,60 (Cq)			
60,9 °C					76, 50 °C 20,45 (Cq)			
56,9 °C					76,50 °C 20,40 (Cq)			
52°C					76,50 °C 20,28 (Cq)			
48,2 °C					76,50 °C 20,35 (Cq)			
45,5 °C					76,50 °C 20,62 (Cq)			
44,3 °C					76, 50 °C 20,64 (Cq)			

5.3.4.4 tuf

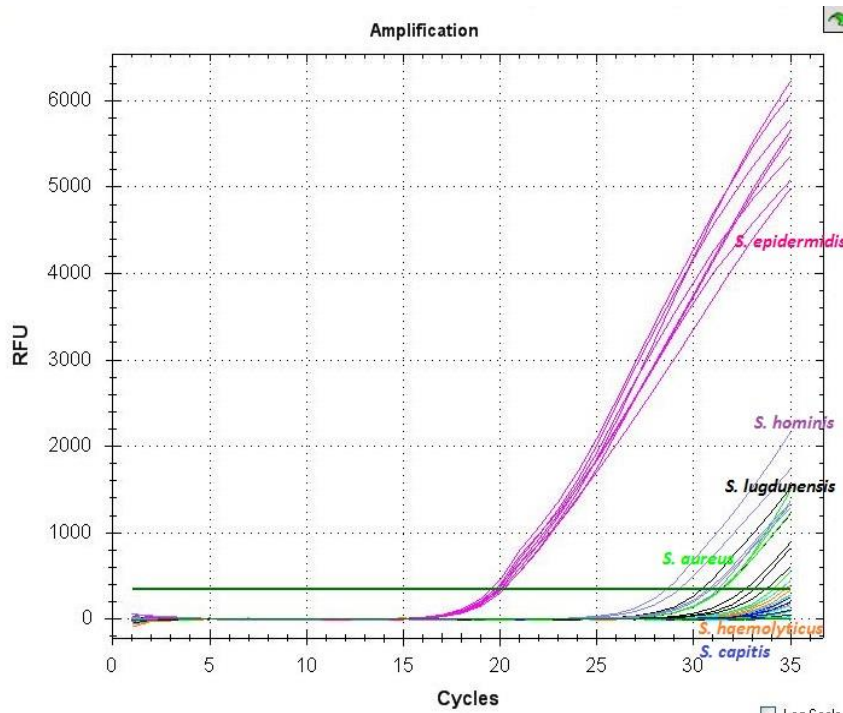


Figur 16 Amplifikasjonskurve for gradientanalyse med tuf.

Tabell gradientanalyse tuf. Cq-verdier og smeltetemperatur etter oppsett i PCR-maskinen.								
tuf	CCUG 7323T S. haemolyticus	CCUG 7326 S. capitis	CCUG 17621 S. aureus	107749 – 14 S. condimenti	ATCC 35984 S. epidermidis	132349 - 15 S. hominis	110000-15I S. lugdunensis	Neg. kontroll
64,3°C					81,00 °C 20,12 (Cq)			
63,1 °C		34,38 (Cq)			81,00°C 21,02 (Cq)			
60,9 °C		31,42 (Cq)			81,00 19,73 (Cq)			
56,9 °C	34,86 (Cq)	81,50 °C 27,14 (Cq)			81, 00°C 19,50 (Cq)			
52°C	81,50 °C 28,36 (Cq)	82,00 °C 24,49 (Cq)			81,00 °C 20,08 (Cq)			
48,2 °C	81,50 °C 26,49 (Cq)	82,00 °C 23,94(Cq)			81,00 °C 20,90 (Cq)			
45,5 °C	81,50 °C 25,52 (Cq)	82,00 °C 24,57(Cq)			81,00 20,45 (Cq)			
44,3 °C	81,50 °C 25,91 (Cq)	82,00 °C 25,08			81,00 °C 20,37 (Cq)			

Bare ved høyest temperatur 64,3 °C, er tuf-primerparet spesifikk for *S. epidermidis*. Cq-verdien til *S. capitis* er høy ved 63, 1°C, men det er ikke nok for å stole på at primersettet er helt spesifikt ved denne temperaturen.

5.3.4.5 *sodA*



Kun *S. epidermidis* amplifiseres ved 60,9 – 64,3 °C for primerparet designet for *sodA*. Ved lavere temperaturer oppformes også *S. hominis*, *S. aureus* og *S. lugdunensis*. Se Cq-verdier og smeltetemperatur i tabell.

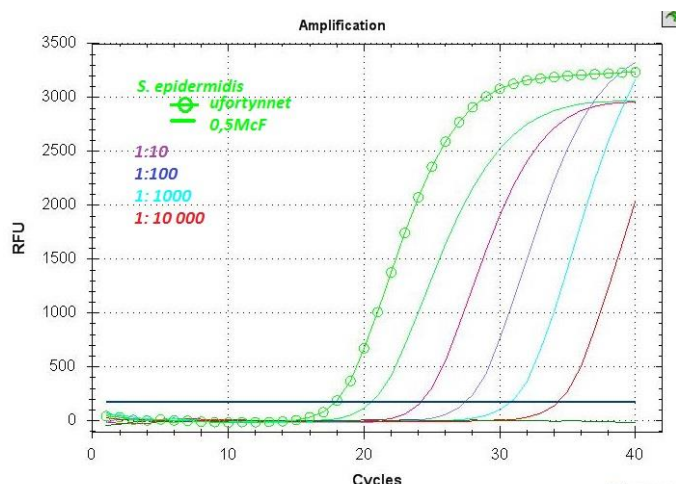
Figur 17 Amplifikasjonskurve gradientanalyse av *sodA*.

Tabell gradientanalyse <i>sodA</i> . Cq-verdier og smeltetemperatur etter oppsett i PCR-maskinen.								
<i>sodA</i>	CCUG 7323T <i>S. haemolyticus</i>	CCUG 7326 <i>S. capitis</i>	CCUG 17621 <i>S. aureus</i>	107749 – 14 <i>S. condiment</i>	ATCC 35984 <i>S. epidermidis</i>	132349 -15 <i>S. hominis</i>	110000-15I <i>S. lugdunensis</i>	Neg. kontroll
64,3°C					78,50°C 19,87 (Cq)			
63,1 °C					78,50 °C 19,60 (Cq)			
60,9 °C					78,50 °C 19,87 (Cq)			
56,9 °C					78,50 °C 19,40 (Cq)	77,50 °C 31,14 (Cq)	33,01 (Cq)	
52°C	34,31 (Cq)				78,50 °C 20,08 (Cq)	77,50 °C 28,44 (Cq)	78,50 °C 30,27 (Cq)	
48,2 °C			80,00°C 31,24 (Cq)		78,50 °C 19,61 (Cq)	77,50 °C 29,11 (Cq)	78,50 °C 31,28 (Cq)	
45,5 °C			80,00 °C 31,29 (Cq)		78,50 °C 19,83 (Cq)	77,50 °C 30,59 (Cq)	32,47 (Cq)	
44,3 °C			80, 00 °C 31,30 (Cq)		78,50 °C 19,96 (Cq)	77, 50°C 30,75 (Cq)	33,55 (Cq)	

5.4 PCR MED TAQMAN-PROBE OG PRIMERPARET *HSP60*

5.4.1 Initiale resultater PCR kjørt 05.11.2015

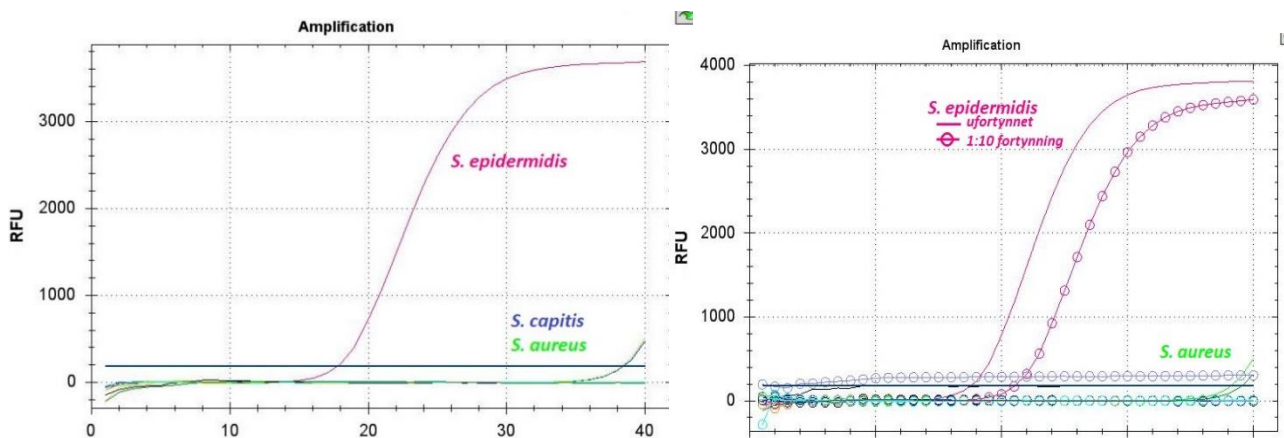
Templat i alle brønner var ATCC 35984, *S. epidermidis*.



Templat	Cq-verdi
ATCC 35984 ufortynnet	17,93
ATCC 35984 0,5 McF oppslemming	20,51
0,5 McF 1:10	24,17
0,5 McF 1: 100	27,44
0,5 McF 1: 1000	30,83
0,5 McF 1: 10 000	34,28
Neg. kontroll	-

Figur 18 Amplifikasjonskurve hsp60 med TaqMan-probe og template ATCC 35984 (*S. epidermidis*)

5.4.2 Resultater PCR med referansestammene og Taqman-probe.



Figur 19 Amplifikasjonskurve med referansestammer som template, TaqMan-probe og hsp60. Oppsett 1 til venstre og oppsett 2 til høyre.

hsp60 primerpar og TaqMan-probe. PCR med referansestammene

Templat	Oppsett 1	Oppsett 2	
	Cq-verdi Ufortynnet template 10.11.2015	Cq-verdi Ufortynnet template 11.11.2015	Cq-verdi Templat 1: 10 fortynnet 11.11.2015
<i>S. haemolyticus</i>	-	-	-
<i>S. capitis</i>	38,45	-	-
<i>S. aureus</i>	38,35	38,05	-
<i>S. condimenti</i>	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	17,78	17,30	20,83
<i>S. hominis</i>	-	-	3,04
<i>S. lugdunensis</i>	-	8,15	-
Neg. kontroll	-	38,88	-

Det ble kjørt PCR tre ganger totalt med de andre referansestammene, siden *S. aureus* og *S. capitis* ble amplifisert i første kjøring. *S. aureus* ble og amplifisert i andre kjøring, men ikke med fortynnet templat. *S. capitis* ble ikke amplifisert i oppsett to og tre. Regner med at resultat *S. hominis* og *S. lugdunensis* (Cq 3,04 og 8,15) er feil. De har heller ikke den karakteristiske sigmaformen til *S. epidermidis* som viser eksponentiell amplifikasjon av produkt.

5.4.3 Sammenlikning av TaqMan-probe og EvaGreen

Tabell 12 Cq-verdier PCR for referansestammen ATCC 35984 (*S. epidermidis*) med TaqMan-probe og EvaGreen med annealingtemperatur 57°C.

Primersett <i>hsp60</i>	ATCC 35984 ufortynnet	ATCC 35984 1: 10	ATCC 35 984 1:100	ATCC 35984 1:10 000
TaqMan	17,30	20,83	25,66	33,22
EvaGreen		19,80	22,65	29,13

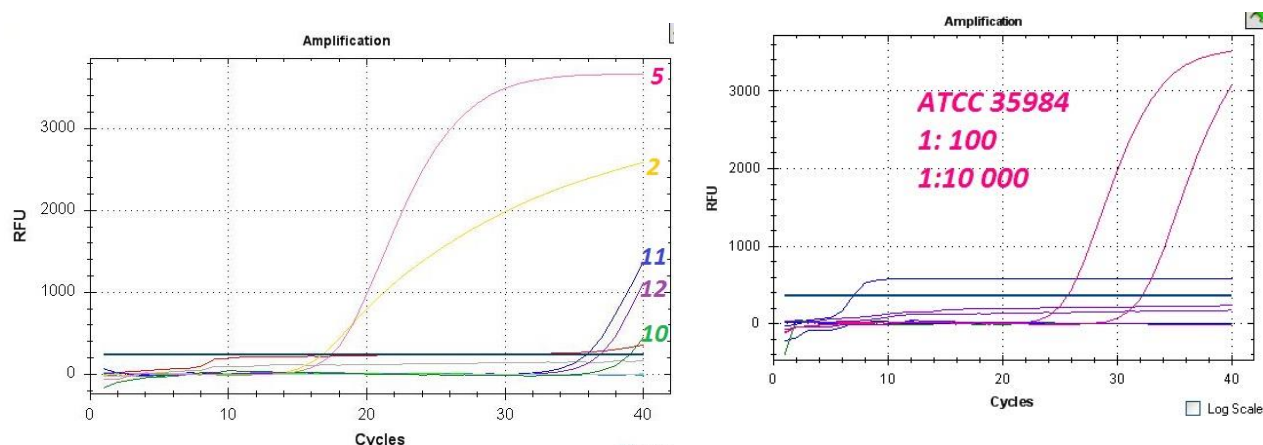
Ser en tendens til litt høyere Cq-verdier med TaqMan enn med EvaGreen.

5.5 PCR MED KLINISKE PRØVER SOM TEMPLAT

Analysen av kliniske prøver var blindet og funn av hvilke stafylokokker det var i prøvene ble hentet fra rutinelaboratoriet ved St. Olavs hospital etter at første PCR var kjørt. Funn av bakterier er bestemt ved dyrkning og ID-bestemmelse med MALDI-TOF. Prøvenummer og hvilke bakterier det var oppvekst av ved dyrkning:

1. *S. aureus*
2. *S. epidermidis*
3. *S. hominis*
4. *S. aureus*
5. *S. capitis* og *S. epidermidis*
6. *S. hominis*
7. *S. epidermidis*
8. *S. hominis*
9. *S. aureus*
10. *S. aureus*
11. *S. aureus*
12. *S. aureus*

5.5.1 PCR-resultater fra kliniske prøver med primerassay *hsp60* og TaqMan-probe.



Figur 20 Kliniske prøver isolert med easyMag®. Til venstre er med DNA isolert første gang. Til høyre med reisolert DNA.

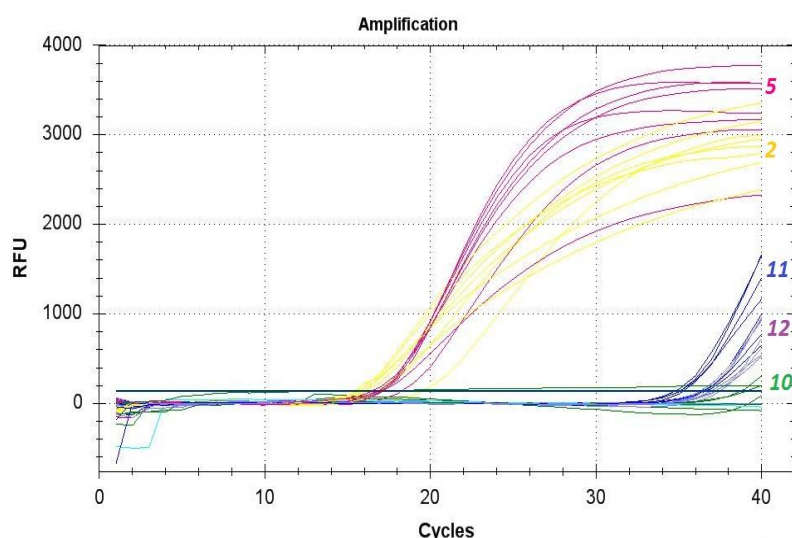
Pasientprøve 11 og 12 ble reisolert fordi det var disse som skulle inneholde *S. aureus*, men likevel slo ut på *hsp60*-primersett. Prøve 10 lot seg ikke reisolere.

Cq-verdier for kliniske prøver kjørt med TaqManprobe			
Prøve-nummer	Isolert med Qiagen spinnkolonne	DNA isolert easyMag 18.11	DNA reisolert med easyMag 24.11
1	-	-	Ikke satt opp
2	-	16,84	Ikke satt opp
3	-	-	Ikke satt opp
4	-	-	Ikke satt opp
5	-	17,41	Ikke satt opp
6	-	-	Ikke satt opp
7	-	-	Ikke satt opp
8	-	28,82	Ikke satt opp
9	-	-	Ikke satt opp
10	-	39,03	Ikke satt opp
11	-	35,91	Fortynning 1:10 000 6,96
12	34,19	36,88	-
ATCC 35984 1:100	Ikke satt opp	Ikke satt opp	25,66
ATCC 35984 1: 10 000	Ikke satt opp	Ikke satt opp	32,19

DNA isolert med spinnkolonne er ikke riktige. Resultat i prøve 8 (DNA isolert med easyMag®) ses bort i fra (rød linje i figur oppe til venstre). Prøve 8 amplifiseres først av alle og har ikke den karakteristiske formen de andre prøvene viser, går derfor ut i fra at dette er feil. Prøve 11 med reisolert DNA med Cq-verdi 6,96 kan en og se bort ifra.

Med reisolert DNA ble oppsettet spesifikt for *S. epidermidis*.

5.5.2 Resultater fra gradientanalyse med primerpar *hp60* og TaqMan-probe

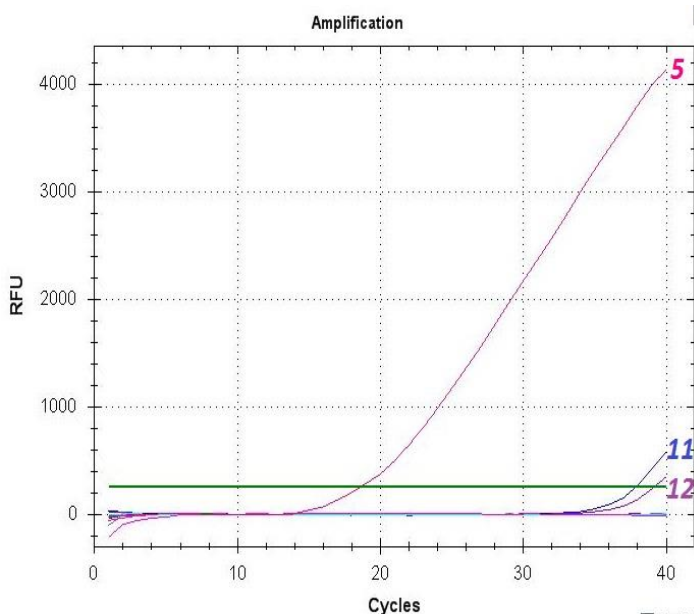


Figur 21 Amplifikasjonskurve gradientanalyse for kliniske prøver.

Ingen temperaturer kunne skille ut prøve 2 og 5 som skulle inneholde *S. epidermidis*. Cq-verdier ses i tabell. Cq-verdi for prøve 10, ved 51,1°C regnes som feil. Ser av grafen at den ikke har den karakteristiske S-formen, og prøve 10 amplifiseres kun i to andre brønner med betydelig høyere Cq-verdier.

Gradientanalyse av kliniske prøver (DNA isolert med easyMag® første gang)					
Temperatur i rad	Prøve 2	Prøve 5	Prøve 10	Prøve 11	Prøve 12
66,1 °C	19,53	17,15	-	36,67	37,23
65,2 °C	16,99	18,28	-	36,36	37,49
63,6 °C	15,76	16,49	-	35,28	36,56
60,6 °C	16,12	16,89	-	34,81	37,26
57,0 °C	15,54	17,12	38,37	35,11	36,57
54,1 °C	16,07	16,93	-	36,32	36,31
52,1 °C	15,46	17,08	39,16	36,50	37,02
51,1 °C	16,80	16,84	15,74	35,10	-

5.5.3 PCR av kliniske prøver med *hsp60* og EvaGreen-deteksjon

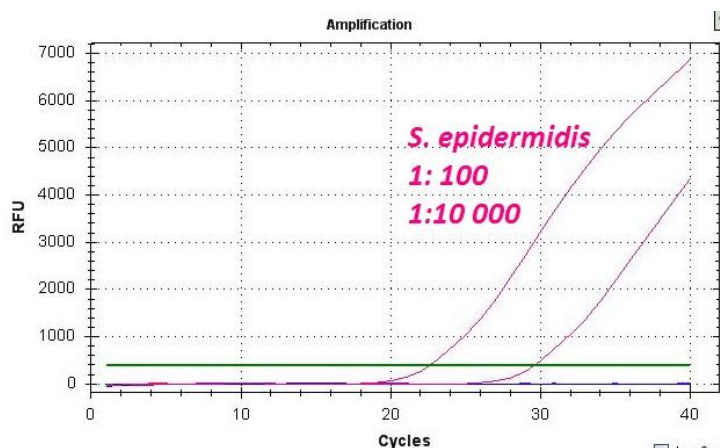


Prøve	Cq	Smeltepunkt
5	18,59	80,00
11	37,86	80,50
12	39,14	80,50

EvaGreen-deteksjon med smeltepunktsanalyse ble brukt for å se etter PCR-produkt i prøve 11 og 12. Dette er med DNA isolert med easyMag® første gang. Smeltepunktene er veldig like og derfor sannsynlig at det er et PCR-produkt som likner på *S. epidermidis* sitt (prøve nummer 5).

5.5.3.1 PCR av kliniske prøver og EvaGreen-deteksjon med reisolert DNA.

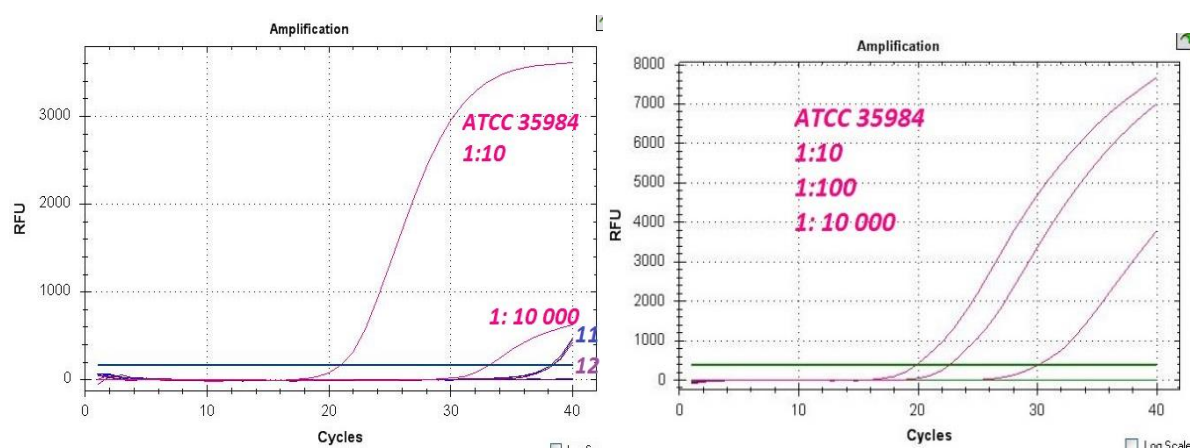
Cq-verdier for kliniske prøver kjørt med EvaGreen-deteksjon		
Templat	Primer-par <i>hsp60</i>	Primer-par <i>rpoB</i>
11 ufortynnet	-	-
11 1:100	-	-
11 1: 10 000	-	-
12 ufortynnet	-	38,16
12 1:100	-	-
12 1: 10 000	-	-
ATCC 35984 1:100	22,65	22,29
ATCC 35984 1: 10 000	29,64	29,13
Neg. kontroll	-	-



Figur 22 Kliniske prøver med *hsp60* primerassay og EvaGreen

Resultatet fra forrige kjøring med EvaGreen kunne ikke reproduseres med reisolert DNA fra pasientprøvene. Det er en mulighet at resultatet i avsnitt 5.5.3 skyldes kontaminasjon. Det ble ikke dannet PCR-produkt i noen andre brønner enn for *S. epidermidis* med primerassay *hsp60*.

5.5.4 PCR på rene stammer fra kliniske prøver



Figur 23 PCR rene stammer dyrket fra kliniske prøver er templat. Til venstre er det brukt primerassayet *hsp60* og probe, til høyre er det brukt primerassayet *hsp60* og EvaGreen-deteksjon.

Resultat fra PCR med rene stammer fra kliniske prøver som templat. Det er brukt samme annealingtemperatur (57°C) i de to oppsettene.

Cq-verdier for PCR med stammer fra kliniske prøver			
Templat (rene stammer fra kliniske prøver)	<i>Hsp60</i> med TaqMan.-probe	<i>Hsp60</i> med Evagreen	<i>rpoB</i> med Evagreen
11 ufortynnet			
11 1:100			
11 1:10 000	38,21		
12 ufortynnet			
12 1:100	38,38		
12 1: 10 000	38,42		
ATCC 35984 1:10	21,02	19,80	20,48
ATCC 35984 1:100	(ikke satt opp)	22,57	23,74
ATCC 35984 1: 10 000	33,22	30,02	32,12

Resultatene viser at eluatet fra stammene dyrket fra klinisk prøve nummer 11 og 12 ikke amplifiseres med EvaGreen-deteksjon, men blir avlest med TaqMan-probe. Dette kan tyde på at det ikke er et PCR-produkt, men probehydrolyse. Prøve 11 og 12 får høye Cq-verdier med TaqMan-probe og det er kun fortytning 1:100 g 1:10 000 som gir utslag; det peker og i retning av at det ikke er normal amplifisering som skyldes kryssreaksjon med *S. aureus*.

5.6 SENSITIVITET

Av oppslemmingen på 0,5 McF av ATCC 35984 ble det laget ti-fold fortytninger og sådd ut 10 µl fra 1:1000 -1:100 000-fortytningene på blodagar (se avsnitt 4.6). Resultat fra CFU-bestemmelsene er vist under i tabell 13:

Tabell 13. Antall kolonier på agar.

Navn	Fortytning	Skål 1	Skål 2	Gjennomsnitt
D	1: 1000	For mange for telling	For mange for telling	-
E	1: 10 000	58	74	66
F	1: 100 000	2	6	4

Ved å benytte CFU-tallet fra skål E (fortytning 1: 10 000) som utgangspunkt regnes utgangsløsningen (glass A, 0,5 McF) å inneholde $66 \cdot 10^2 \cdot 10^4 = 6,6 \cdot 10^7 \frac{CFU}{ml} = 6,6 \cdot 10^4 CFU/\mu l$.

Renset DNA for sensitivitetsanalyse: 300 µl av utgangsløsningen i glass A (0,5 McF oppslemmingen) ble applisert på spinnkolonnen for DNA-ekstraksjon, det vil si $0,3 ml \cdot 6,6 \cdot 10^7 CFU = 1,98 \cdot 10^7 CFU$.

Etter eluering i 100 µl vil eluatet inneholde $1,98 \cdot 10^7 CFU : 100 \mu l = 1,98 \cdot 10^5 \frac{CFU}{\mu l}$. Det vil si ved PCR med 5 µl templat benyttes fra glass A (ufortynnet) $9,9 \cdot 10^5 CFU$.

Følgende tabell (tabell 14) viser antall CFU per PCR-reaksjon i en ti-folds fortytningsrekke laget fra det rensede DNA fra 0,5 McF-oppslemmingen.

Glass	Fortynning	CFU pr PCR (5µl templat)
A	1	$9,9 \cdot 10^5$
B	1: 10	$9,9 \cdot 10^4$
C	1 : 100	$9,9 \cdot 10^3$
D	1 : 1000	$9,9 \cdot 10^2$
E	1 : 10 000	99
F	1 : 100 000	9,9
G	1: 1 000 000	0,99
H	1: 10 000 000	-

Tabell 14 Antall CFU pr PCR-reaksjon.

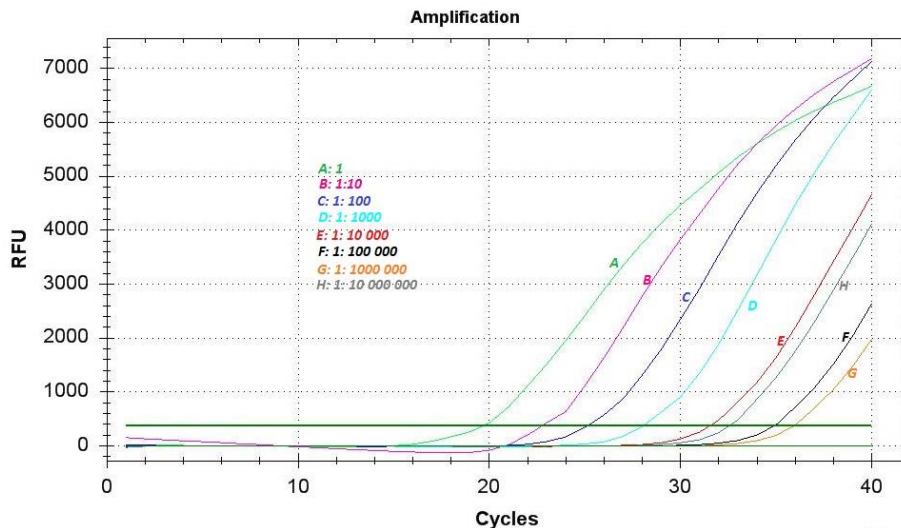
5.6.1 Resultater av PCR med EvaGreen for beregning av sensitivitet

Cq-verdier og smeltetemperaturer for PCR med primerassay *hsp60* og *rpoB*.

Cq og smeltetemperaturer			
PCR av fortynningsrekke fra 0,5 McF oppslemming av ATCC 35984			
	I løsningsen:	<i>hsp60</i>	<i>rpoB</i>
A	1	80,50 °C	77,00°C
		24,04 Cq	19, 53 Cq
B	1: 10	80,50 °C	76,50 °C
		23,78 Cq	22,65 Cq
C	1:100	80, 50°C	76,50 °C
		27,64 Cq	25,03 Cq
D	1:1000	80,50 °C	76,50 °C
		30,10 Cq	27,97 Cq
E	1: 10 000	80,00 °C	76,50 °C
		33,23 Cq	31,42 Cq
F	1: 100 000		76,50 °C
			34,78 Cq
G	1: 1000 000		77,00°C
			35,81 Cq
H	1: 10 000 000		77,00°C
			32,44 Cq

Tabell 15 Cq-verdier og smeltetemperatur for *hsp60* og *rpoB*

Amplifikasjon med primerparet *rpoB*



Figur 24 Til venstre. Amplifikasjonskurve for *rpoB* med fortynningsrekke.

Resultatet fra PCR CFX96 Bio-Rad. Grafen med amplifikasjonskurven for primerparet *rpoB* viser omtrent parallelle linjer for hver tifold fortynning. Cq-verdiene har en differanse på ca. 3 sykler. Usikker deteksjonsgrense fordi H kommer før F og G, dette er i teorien uriktig. Det er og ganske liten forskjell i Cq-verdi mellom F og G (1,03), så vi kan ikke stole på om fortynning G er den virkelige deteksjonsgrensen. For primerparet *hsp60* var 1: 10 000 fortynningen den siste som ble amplifisert. Cq-verdien i B er og lavere enn A (se tabell 15), høyst sannsynlig på grunn av for mye DNA-templat ved lav fortynning i prøvene ved de gitte PCR-betingelsene.

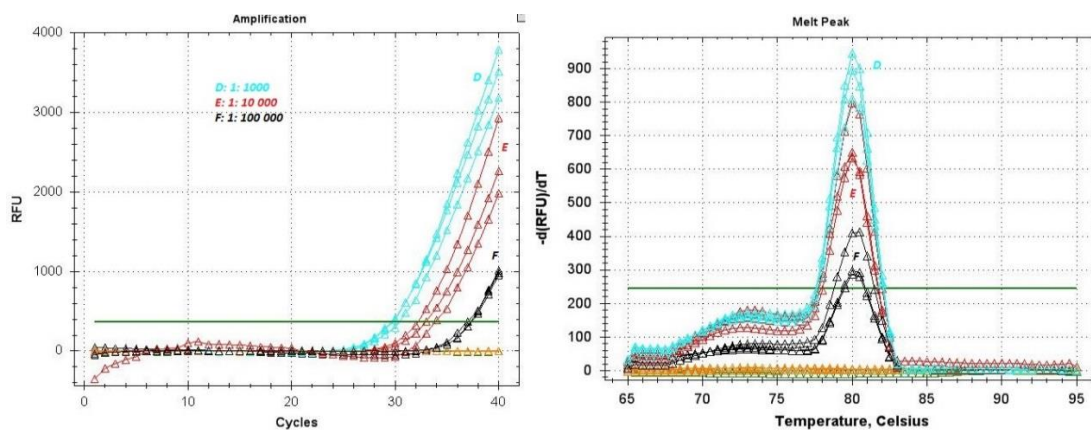
5.6.2 Fortynningsrekke i triplett for å bestemme nøyaktig deteksjonsgrense

Cq og smeltetemperaturer									
PCR av fortynningsrekke fra 0,5 McF oppslemming av ATCC 35984									
Hver fortynning er kjørt i triplett. Cq-verdier og gjennomsnitt er vist.									
	I løsningen:	<i>hsp60</i> smeltetemp.	<i>hsp60</i> Cq-verdier			<i>rpoB</i> smeltetemp	<i>rpoB</i> Cq-verdier		
D	1:1000	80,00 °C	30,32	29,55	29,67	76, 50°C	29,80	29,39	29,21
			Snitt: 29,85				Snitt: 29,47		
E	1: 10 000	80,00 °C	32,88	32,14	33,78	76, 50°C	31,73	32,49	32,46
			Snitt: 32,93				Snitt: 32,23		
F	1: 100 000	80,00 °C	37,29	37,21	36,88	76, 50°C	36,77	35,35	35,68
			Snitt: 37,13				Snitt: 35,93		
G	1: 1000 000	-	-	-	-	-	-	-	-
			-	-	-	-	-	-	-
	Negativ kontroll	-	-	-	-	-	-	-	-

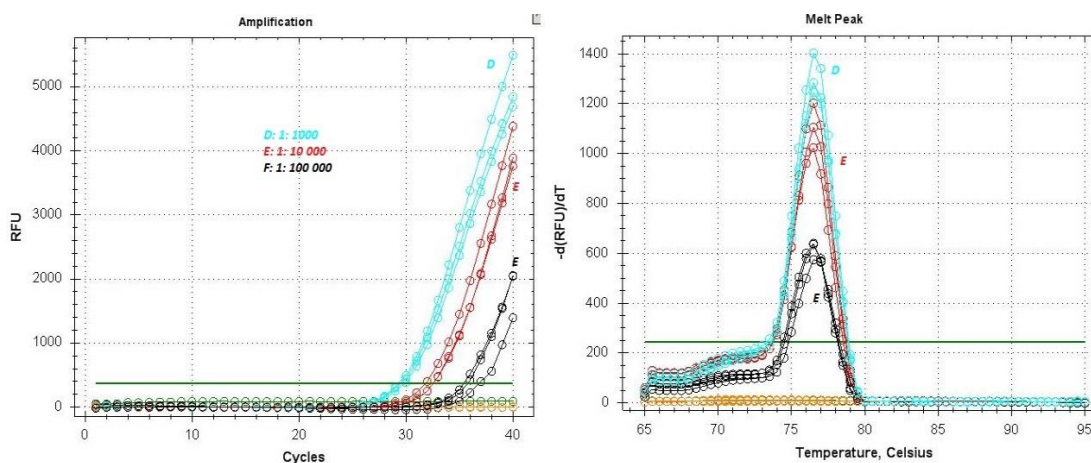
Tabell 16 Cq-verdier og smeltetemperaturer for triplettanalyse med EvaGreen-deteksjon.

Grafene som følger viser amplifikasjons- og smeltepunktsskurve.

- D: 1:1000
- E: 1: 10 000
- F: 1: 100 000
- G: 1: 1 000 000



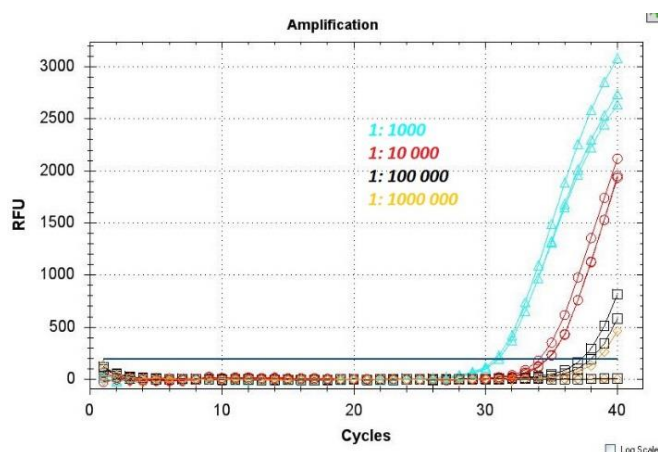
Figur 25
Amplifikasjons-
og
smeltepunkts-
kurve av
sensitivitetsbes-
temmelse for
hsp60



Figur 26
Amplifikasjons-
og
smeltepunkts-
kurve av
sensitivitetsbe-
stemmelse for
rpoB

Deteksjonsgrensen for begge primerparene, *rpoB* og *hsp60*, ble fortyning F (1: 100 000) det tilsvarer 9,9 CFU per PCR-reaksjon.

5.6.3 Sensitivitetsbestemmelse med TaqMan-probe. Fortynningsrekke i triplett.



Figur 27 Amplifikasjonskurve for primerpar hsp60 og TaqMan-probe.

I løsnings:	Primerpar <i>hsp60</i> og TaqMan-probe. Cq-verdier		
1:1000	30,95	30,94	30,22
	Snitt: 30,70		
1: 10 000	34,07	34,67	34,61
	Snitt: 34,45		
1: 100 000	37,98	37,23	-
	Snitt: 37,61		
1: 1000 000	38,46	-	-
	Snitt: -		
Neg. kontroll	-		

Tabell 17 Cq-verdier for primerassay *hsp60* og TaqMan-probe.

Deteksjonsgrensen for primerpar *hsp60* med *TaqMan-probe*, ble fortynning 1: 100 000 det tilsvarer 9,9 CFU per PCR-reaksjon, samme verdi som ved EvaGreenreen-deteksjon. Verdi 1: 1000 000 ble sett bort fra da det ble amplifisert PCR-produkt i kun en brønn og Cq-verdien var 0,85 (burde vært rundt 3,32) høyere enn for fortynning 1:100 000.

5.7 PCR-EFFEKTIVITET

Beregning av amplifikasjonseffektiviteten ble gjort med «slope method»(1 Pelt-Verkuil, Belkum, Hay, page. 136)

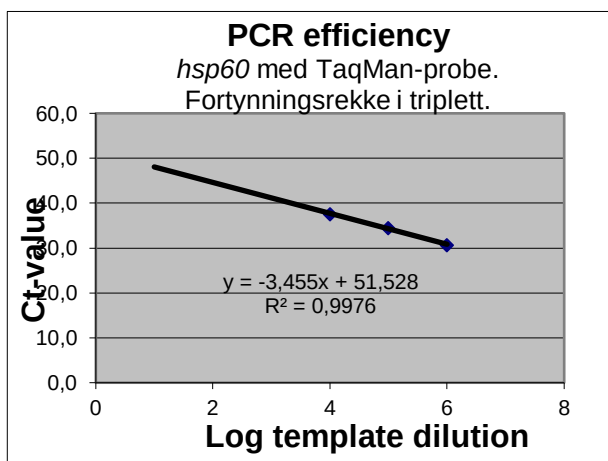
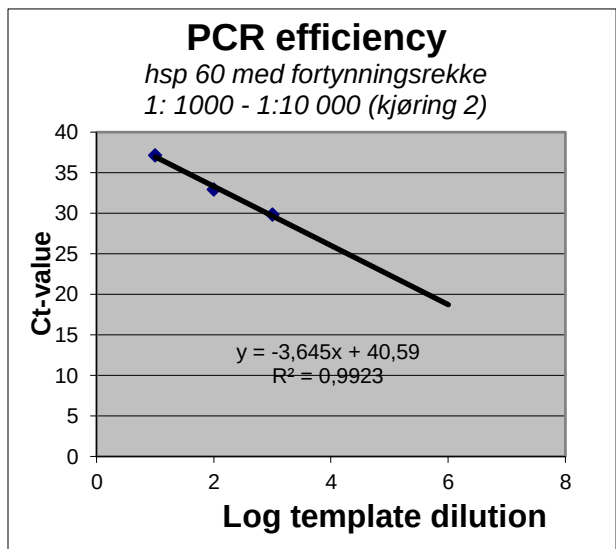
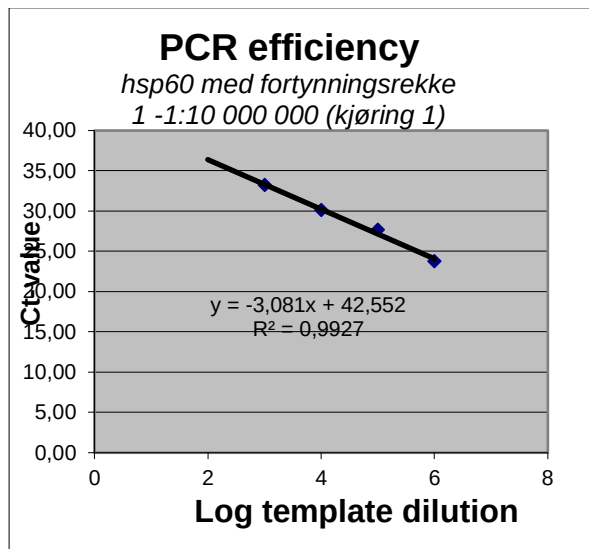
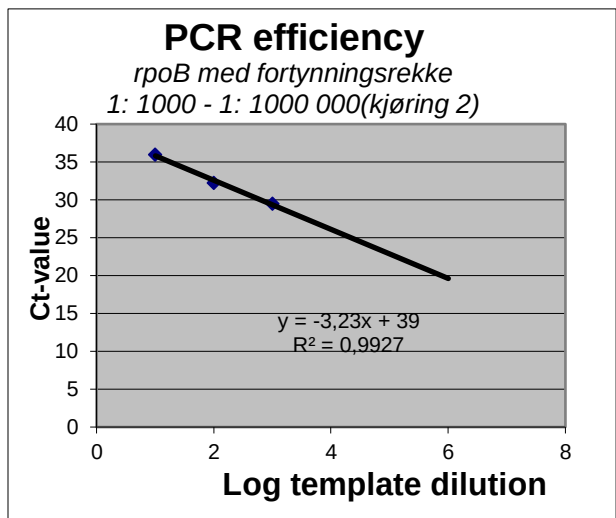
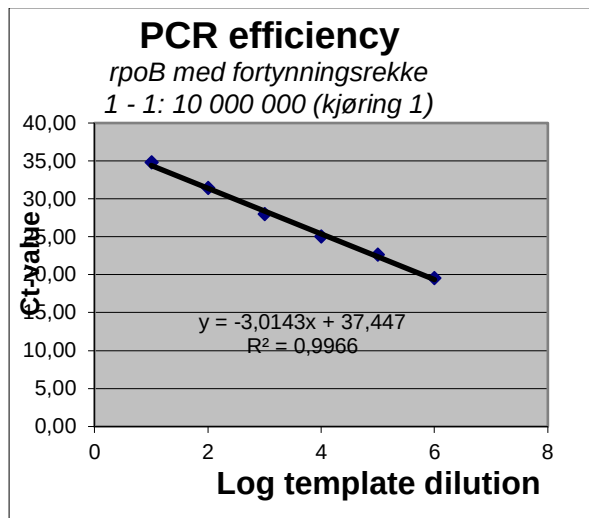
$$Efficiency = 10^{\left(\frac{-1}{slope}\right)} - 1.$$

Slope er stigningen til grafen der Cq-verdien er plottet mot fortynningen. For RT-PCR bør effektiviteten optimalt være 1, men verdier mellom 0,85 og 1,15 er akseptabelt. Hvis effektiviteten er 1, er stigningen (slope): $\log_2 10 = \frac{\log_{10} 10}{\log_{10} 2} = 3,3219209489$. Da er forskjellen i Cq-verdier i den tifold seriefortynning 3,32 mellom hver fortynning, det vil si at etter ca. 3,32 sykler er det amplifisert ti ganger så mye produkt.

Effektiviteten ble beregnet ved å kjøre PCR på en serie av tifold fortynninger av templat. Kjøring 1 er det kjørt fortynninger fra 1 – 1: 10 000 000 (avsnitt 5.6.2). I kjøring 2 er det hver fortynning 1: 1000, 1: 10 000, 1: 100 000 og 1: 1 000 000 kjørt i triplett (avsnitt 5.6.3) og oppgitte Ct-verdier er gjennomsnittet av de tre. Resultater ses i følgende tabell og grafer:

Fortynning	Fortynning nummer	Ct-value rpoB (kjøring 1)	Ct-value rpoB kjøring 2 Snitt av triplett-verdier	Ct-value hsp60 (kjøring 1)	Ct-value hsp60 kjøring 2 Snitt av triplettverdier.	Ct-value hsp60 med TaqMan-probe. Snittverdier av triplett.
1	6	19,53				
1:10	5	22,65		23,78		
1: 100	4	25,03		27,64		
1:1000	3	27,97	29,47	30,10	29,84	30,70
1:10 000	2	31,42	32,22	33,23	32,93	34,45
1: 100 000	1	34,78	35,93		37,13	37,61

Tabell 18 Snitt av Cq-verdier hentet fra avsnitt om sensitivitetsberegninger.



Gene	Slope value (y i grafen)	Amplification efficiency
<i>rpoB</i> kjøring 1	-3,0143	1,15
<i>rpoB</i> kjøring 2	-3,23	1,04
<i>hsp60</i> kjøring 1	-3,081	1,11
<i>hsp60</i> kjøring 2	-3,645	0,88
<i>hsp60</i> med TaqManprobe	-3,455	0,95

6 DISKUSJON

6.1 *IN SILICO*- ANALYSER.

In silico-analyser ble gjort basert på gensekvenser funnet i GenBanken og søk i BLAST. Alle data som fins i GenBank er ikke kvalitetssikret og det kan derfor forekomme feil. Derfor ble gensekvenser med store avvik fra de andre gensekvensene fjernet fra alignment.

Plassering av primere.

Alle primerne ble ikke satt i et konsensusområde for *S. epidermidis*. Se alignment av sekvenser i vedlegg 1-10 bakerst i oppgaven. Som utgangspunkt ble det valgt ut en sekvens som liknet mest mulig på de andre sekvensene, og videre arbeid har grunnlag i denne sekvensen. For *gap-assayet* ligger forwardprimer og reversprimer i et område hvor aksesjonsnummer AF495479 ikke har helt samme baserekkefølge som konsensussekvensen, denne er også den eneste som skiller seg og ut ble derfor ikke tatt hensyn til. Se vedlegg 2. For primerassayet til *hsp60* skiller baserekkefølgen for aksesjonsnummer DQ 991024 seg litt fra de andre der primere er plassert. Se vedlegg 4. Hvis en *S. epidermidis* har samme sekvensrekkefølge som DQ 991024, er det mulig at primerassayet ikke fungerer like bra som for de andre allelene. Denne var og den eneste som skilte seg ut og anses derfor som mindre viktig. Primerne til *rpoB* ligger i et område uten mismatches i sekvensene i alignment for de *S. epidermidis* som er tatt med i alignment. Se vedlegg 6. Primerne designet for *sodA*-genet ligger i et område der kun AF462457 skiller seg fra de andre sekvensene, og er ikke tatt hensyn til ved primerdesign. Se vedlegg 8. For *tuf*-genet er alle sekvensene tatt med i alignment for *S. epidermidis*, se vedlegg 10, helt like. Alle primerne er derfor plassert i et konsensusområde.

Valg av andre stafylokokker.

S. epidermidis ble sammenliknet med seks andre stafylokokker (*S. lugdunensis*, *S. capitis*, *S. aureus*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. schleiferi*) i alignment for å finne en unik sekvens for *S. epidermidis*. Utvalget av disse stafylokokkene er gjort fordi disse er vanlige stafylokokker i kliniske prøver og viktige å skille fra *S. epidermidis* ved infeksjon. Andre som også kunne vært tatt med er *S. caprae*, *S. saprophyticus*, *S. warneri*, *S. cohnii*, siden disse også er vanlige. Stafylokokker er en stor slekt som inkluderer minst 40 species, så en inklusjon av alle ville vært arbeidskrevende og unødvendig, siden alle ikke er like relevante i en klinisk setting. *S. saprophyticus* er en av de vanligste stafylokokkene, men er stort sett problematisk ved urinveisinfeksjoner. Denne oppgaven ønsker å fokusere på å detektere invasive agens, som for eksempel ved fremmedlegemeinfeksjoner.

6.2 VURDERING AV HVERT PRIMERPAR OG HOVEDRESULTATER

Etter første kjøring av PCR (se resultater, avsnitt 5.3.2) ble det stilt spørsmål om templatene inneholdt omtrent like store mengder DNA, og om det kunne ha påvirket resultatet av PCR slik at noen stammer ble oppformert veldig sent og i liten mengde. Det var allerede bevist at DNA var tilstede i alle templatene fordi alle referansestammer hadde blitt oppformert minst en gang i de første PCR-reaksjonene. Det var usikkerhet spesielt rundt CT-verdiene for *S. lugdunensis* og *S. aureus*. Verdiene var høye i de reaksjonene de hadde blitt amplifisert (se tabell 11 i resultater avsnitt 5.3.2). De høye verdiene kunne enten være reelle på grunn av dårlig primerspesifisitet til disse bakteriene, eller så var konsentrasjonen av DNA i templat tilsatt PCR-reaksjonen for lavt og de ville derfor amplifiseres sent i forhold til de andre referansestammene. På grunn av usikkerheten rundt templatmengde ble det kjørt en universal-PCR for *16S rRNA*, som i utgangspunktet skal amplifisere alle bakterier. Alle referansestammene ble amplifisert, og de hadde en relativ lav CT-verdi (se resultater i avsnitt 5.3.3). Den største forskjellen er mellom *S. aureus* (14,02) og *S. capitis* (18,20) med en forskjell på 4,18. Det kan tolkes som at *S. aureus* har cirka ti ganger så høy konsentrasjon av DNA i templatet som *S. capitis*. Det betyr også at negative resultater fra PCR kjørt med de nydesignede primerassays, kan tolkes som reelt negative, og ikke som et utslag av ulik mengde DNA i templatet. Det vil si at PCR kjørt med *hsp60*- og *rpoB*-primerassays mest sannsynlig er spesifikke for *S. epidermidis*.

Smeltepunktsanalyse kan være en annen måte enn primerspesifisitet å identifisere *S. epidermidis* nøyaktig. Primerassays for *rpoB* og *hsp60* amplifiserte kun *S. epidermidis*, smeltepunktsanalyse er derfor unødvendig for videre deteksjon ved bruk av disse assayene. Smeltepunktsanalyse for *tuf* viser at det kun er 0,5°C (se tabell 11 i resultater avsnitt 5.3.2) forskjell på toppen til *S. epidermidis* og *S. capitis*/*S. haemolyticus*. 0,5 °C er for lite til å sikkert kunne skille to PCR-produkter fra hverandre. Det samme problemet gjelder også for primerassays designet for *gap* og *sodA*. Smeltepunktsanalyse blir derfor for dårlig for å identifisere *S. epidermidis*.

Gradientanalysen (se tabell i resultater avsnitt 5.3.4) viser svært gode resultater for både *hsp60* og *rpoB*. Begge primerassays viser cirka samme Cq-verdier også ved høye temperaturer og ingen amplifisering av andre produkter ved temperaturer ned mot 44,3 °C. Primerassay for *gap* er aldri spesifikt for *S. epidermidis*, selv ved høye temperaturer. *tuf*-assayet amplifiserte *S. capitis*, *S. epidermidis*, *S. condimenti*, *S. haemolyticus* og *S. aureus* ved førstegangs kjøring, og ved gradientanalysen med 1:20 fortykning av templat og færre syklus amplifiserte det fortsatt *S. capitis* og *S. haemolyticus* i tillegg til *S. epidermidis*. *sodA*-primerassay amplifiserer kun *S. epidermidis* ved 60,9 – 64,3 °C, men med lavere temperaturer oppformes også *S. hominis*, *S. aureus* og *S. lugdunensis*. Primerassays for *sodA* og *tuf* amplifiserer kun *S. epidermidis* ved annealingtemperatur

over 60,9 °C, da også med relativt lave Cq-verdier (19,87 for *sodA*, og 20,12 for *tuf*). De kan derfor regnes som spesifikke ved så høye temperaturer, men siden både *hsp60* og *rpoB* viste bedre resultater ble det videre i oppgaven fokusert kun på disse to.

6.3 SPESIFISITET

Spesifisiteten til PCR forteller hvor godt metoden kan påvise kun *S. epidermidis*. *In silico*-analysen med BLAST-søk på primersekvensen viste for alle primerpar at det teoretisk kun var *S. epidermidis* som skulle gi oppformering av PCR-produkt. Ved videre testing i laboratoriet så man at bare primersettene designet til *hsp60* og *rpoB* faktisk var spesifikke.

Ved bruk av probe skal i teorien spesifisiteten bli enda bedre. Da kliniske prøver ble kjørt med TaqMan-probe, ble det likevel avlest signal fra prøver som skulle inneholde *S. aureus*. Etter flere forsøk med kliniske prøver og reisolering av DNA (se lenger ned i teksten) ble det avgjort at dette sannsynligvis var en konsekvens av kontaminasjon av prøveoppsettet og primer-assay *hsp60* regnes fortsatt som spesifikt for *S. epidermidis*.

6.4 SENSITIVITET

Ved beregning av sensitiviteten ble bare *hsp60*- og *rpoB*-primerassay brukt fordi de andre primerparene ikke ble regnet som spesifikke nok, og ikke kom til å bli brukt senere likevel

Sensitivitetsanalysen ble gjort ved å dyrke og å kjøre PCR av en fortynningsrekke med stammen ATCC 35984. PCR av primerparet for *rpoB* amplifiserte produkter i brønn H (fortynning 1: 10 000 000) ved den første kjøringen (se tabell i avsnitt 5.6.1) med en Cq-verdi lavere enn F og G. Produkt i brønn H skulle teoretisk ikke blitt amplifisert i det hele tatt på grunn av for lite templat. Anser derfor resultatet som en feil.

Fortynning G (1: 1 000 000) ble og amplifisert ved førstegangskjøring, dette gir en deteksjonsgrense på 0,99 CFU per PCR. Dette er svært lavt. En forklaring kan være at det fins flere kopier av genet i bakterien, men dette er vanskelig å finne ut da GenBank ikke oppgir hvor mange kopier som fins av hvert gen. En annen mulighet er at PCR-analysen har amplifisert døde bakterier, men det er forsøkt unngått ved å lage en fortynningsrekke fra ferske kolonier, spredt dagen før. Resultatet kan også skyldes en fortynningsfeil.

Siden deteksjonsgrensen for PCR var usikker ble det satt opp ett ny fortynningsrekke i triplett for å bestemme sensitiviteten nøyaktig, da var fortynningen 1: 100 000 den siste som ble amplifisert (se resultater avsnitt 5.6.2) For at et resultat skal regnes som deteksjonsgrensen skal 90% av reaksjonene med den fortynningen være positive. I denne oppgavene var det bare en triplettfortynning, så

grensen er satt til at 2/3 fortynninger blir amplifisert for at det skal regnes som en positiv test.

Fortynning 1: 100 000 settes som den reelle deteksjonsgrensen av PCR, det tilsvarer 9,9 CFU per PCR.

For *hsp60*-assayets sensitivitetsanalyse ble deteksjonsgrensen 990 CFU per PCR i den første analysen (Se tabell i avsnitt 5.6.1) Satte derfor denne også opp i triplett og fikk amplifisert produkt i med fortynning 1: 100 000. Dette gir samme deteksjonsgrensen som *rpoB*; 9,9 CFU per PCR.

6.5 PCR-EFFEKTIVITET

PCR-effektiviteten burde optimalt sett blitt beregnet med åtte tifoldfortynninger (som PCR kjørt 22.10.2015) og kjørt fortynningene i triplett (se materiale og metode, avsnitt 4.6.1 og 4.6.2). Ideelt burde det blitt gjort fem slike seriefortynninger for å beregne ett gjennomsnitt av Cq-verdiene for plot.

Det ble kjørt triplett av fire av fortynningene 26.10.2015, men da ble det bare amplifisert produkt av de tre største fortynningene (1:1000, 1: 10 000 og 1: 100 000). En standardkurve ble kun laget basert på et snitt av triplettene av tre ulike fortynninger. En slik kurve bør egentlig baseres på minst fire ulike verdier.

Det ble beregnet PCR-effektivitet fra begge fortynningsrekkene. Det var relativt små forskjeller i slope values for de to genene (*rpoB* og *hsp60*): -3,0143 og -3,23 for henholdsvis den første seriefortynningen og triplettfortynningen av *rpoB* og -3,081 og -3,645 for *hsp60* (se avsnitt 5.7). Verdiene er ganske like og innenfor referanseområdet med en amplifikasjonseffektivitet på 0,85 – 0,88. Dette taler for at verdiene er til å stole på selv om det kun er gjort en lang fortynningsrekke og en triplettanalyse.

6.6 REAL-TIME PCR MED TAQMAN-PROBE

Det ble bestilt en TaqMan-probe til primerassay for *hsp60*, se sekvensrekkefølge og egenskaper i tabell 8, avsnitt 5.1.1.5 og vedlegg 4. Resultater for både *rpoB*- og *hsp60*-primerassay var med EvaGreen-deteksjon ganske like: cirka samme Cq-verdier og begge assay amplifiserer kun *S. epidermidis* ved PCR. *In silico*-analysen skal og i teorien være spesifikk for *S. epidermidis*.

I alignment av *rpoB* (probe merket i blått, se vedlegg 6) er de øverste er to ulike alleler av *S. epidermidis*, og det ble etter design oppdaget en mismatch i probeområdet for den ene allelen (27466918:301678-305229, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228). Derfor ble det bestilt probe fra *hsp60*-assay som skulle være spesifikt for *S. epidermidis*.

Mismatches er markert med grønt. Primerne er markert med gult.

```

EPIDERMIDISgi|138248515|gb|EF173659.1|/171-646      CCATATCGTAAAGTGGATTTAGATACAACTCAACTGATCAATAGATTATTTGACA 240
EPIDERMIDIS2gi|27466918:301678-305229/1453-1928      CCATATCGTAAAGTGGATTTAGATACAACTCAACTGATCAATAGATTATTTGACA 240
SCHLEIFERIGi|74099891|gb|DQ120747.1|/10-485          CCATACGAGAAAGTAGACCTTGAACAAACACAATTACAGACCGTATTGATTACCTTACT 240
AUREUSgi|88193823:522160-525711/1453-1928           CCATATCGTAAAGTGGATTTAGATACACATGCTATCACTGATCAAAATTGACTATTTAACA 240
HAEMOLYTICUSreversgi|68445725:2465778-2469329/1594-2069  CCATATCGTAAAGTAGACTTAGACACATACTCTATTACAGATCAAAATCGACTACTTAACT 240
CAPITISgi|74099855|gb|DQ120729.1|/10-485           CCGTATCGTAAAGTGGATTTAGATACGAACTCTATTACAGATCAAAATCGACTACTTAACT 240
LUGDISreversgi|339893212:2393359-2396913/1453-1928    CCATATCGTAAAGTAGATTTAGATACAAATGCAATCAGATCAAAATTGACTACTTAACT 240
HOMINISgb|AHL01000047.1|:25264-28815/1453-1928      CCATATCGTAAAGTAGATTTAGATACCAATTCAATTCTGATCAAAATTGATTATTTAACT 240
** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

EPIDERMIDISgi|138248515|gb|EF173659.1|/171-646      GCTGATGAAGAGGATAGTACGTTGTTGCACAGGCTAATTCTAGACTTGATGAAAATGGT 300
EPIDERMIDIS2gi|27466918:301678-305229/1453-1928      GCTGATGAAGAGGATAGTTACGTTGTTGCACAGGCTAATTCTAGACTTGATGAAAATGGT 300
SCHLEIFERIGi|74099891|gb|DQ120747.1|/10-485          GCGGATGAAGAAGACAGTTATGTTGTTGCCAAGCGAACTCAAGACTTGATGAAAACGGA 300
AUREUSgi|88193823:522160-525711/1453-1928           GCTGACGAAGAAGATAGCTATGTTGTTGACACAAGCAAACTCTAAATTAGATGAAAATGGT 300
HAEMOLYTICUSreversgi|68445725:2465778-2469329/1594-2069  GCTGATGAAGAAGATAGCTATGTTGTTGCCAAGCGAACTCTCGCTTAGATGAAAATGGT 300
CAPITISgi|74099855|gb|DQ120729.1|/10-485           GCTGATGAAGAAGATAGCTACGTAGTTGCCAAGCGAACTCACGTTTAGACGAAAATGGT 300
LUGDISreversgi|339893212:2393359-2396913/1453-1928    GCTGATGAAGAAGACAGTTATGTCGTTGCCAAGCGAACTCTCGCTTAGATGAAAATGGT 300
HOMINISgb|AHL01000047.1|:25264-28815/1453-1928      GCTGATGAAGAAGATAGCTATGTTGTTGCCAAGCGAACTCTCGTTTAGATGAAAATGGT 300
** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

```

***hsp60*-primerassay og *TaqMan*-probe**

PCR amplifiserte kun *S. epidermidis* med EvaGreen-deteksjon og primerparet *hsp60*. Ved analyse med *hsp60* og *TaqMan*-probe med referansestammene som templat, ble også *S. aureus* og *S. capitis* amplifisert ved initial prøvekjøring, se avsnitt 5.4.1 for resultater. Derfor ble det satt opp en kjøring med uforynnnet templat og en med templat i 1:10 fortykning. Her ble og *S. aureus* amplifisert med uforynnnet templat, men ikke når templatet var fortyknet. Den negative kontrollen med MGW ble og amplifisert ved andregangskjøring med *TaqMan*-proben. Dette kan tyde på unøyaktighet, at reagenser kan ha blitt blandet, forurensing av selve assayet, eller hydrolysering av proben. Ved probehydrolysering ødelegges proben og fluorescensen slippes løs og vil avgi signal uten at det har vært en reell amplifisering av PCR-produkt.

6.7 KLINISKE PRØVER

Det oppsto problemer med isolering av DNA fra kliniske prøver, både blodkulturer og vevskulturer, ved bruk av spinnkolonne fra Qiagen (se avsnitt isolering av DNA fra referansestammer for fremgangsmåte, avsnitt 4.3). Filteret i kolonnene ble tilstoppet av blodprodukter/vevskomponenter slik at prosedyren ikke kunne bli fulgt nøyaktig. Resultatene fra PCR med disse eluatene ble dårlige, det ble kun amplifisert PCR-produkt i en brønn, som var bestemt til å være en *S. aureus* ved dyrking og ID-bestemmelse med MALDI-TOF i rutinelaboratoriet ved St. Olavs Hospital. Derfor ble det gjort et nytt forsøk på ekstraksjon av DNA automatisert med NuciliSENS easyMag®, slik det gjøres i rutineundersøkelser med PCR. Resultatet for PCR med disse templatene ble at prøve nummer 2 og 5 fikk lave Cq-verdier på 16,84 og 17,41. Disse skulle inneholde *S. epidermidis* og Cq-verdiene er ganske like som ved kjøring med referansestammen ATCC 35984. Dette viser at DNA-isoleringen er et kritisk trinn. Et uventet resultat var at prøve 10, 11 og 12 ble amplifisert, dette var alle vevsprøver rutinelaboratoriet hadde svart ut som «Rikelig vekst av *S. aureus*». Det er usannsynlig at alle disse prøvene i tillegg inneholdt *S. epidermidis*. En annen mulighet var kryssreaksjon med *S. aureus* og at denne varianten av *S. aureus* var ganske ulik CCUG 17621 som har vært brukt som referansestamme i

tidligere kjøring. Det kunne også være humant DNA som kryssreagerte eller utslag fra noe annet som ikke er et PCR-produkt.

Derfor ble det gjort en gradientanalyse med prøve 2, 5, 10, 11 og 12 for å se om høyere temperaturer kunne skille prøvene som skulle inneholde *S. epidermidis* og *S. aureus* (svake resultater med Cq >35). Det kunne ikke gradientanalysen. Det er et større fall i Cq-verdier for prøve 5 og 2 ved høyere temperaturer, enn for 11 og 12. Det ble deretter kjørt en PCR med EvaGreen-deteksjon og primerparet *hsp60*. Dette var for å se om det var blitt dannet et PCR-produkt, eller om resultatene var en konsekvens av probehydrolyse. Her ble og prøve 11 og 12 amplifisert, og smeltepunktsskurven viste nesten samme smeltepunkt som for prøve nummer 5 med *S. epidermidis* (80,50 °C for 11 og 12 og 80,00 °C for 5). Dette tyder på at brønnene med prøve 11 og 12 inneholdt PCR-produkt og ble derfor vurdert som unødvendig å gjøre gel-elektroforese for å finne ut dette.

Neste steg for å finne ut om det var en kryssreaksjon med *S. aureus* var å hente opp stammer dyrket fra de kliniske prøvene (11 og 12) fra fryseren. Disse var renkulturer. De ble isolert DNA fra en koloni manuelt med spinnkolonne og kjørt PCR med TaqMan-probe og primerparet *hsp60* og med EvaGreen-deteksjon med både primerparet *hsp60* og *rpoB*. Det viste utslag for prøve 11 og 12 bare med oppsettet med probe. Her var det og de minste fortynningene som faktisk ga utslag og de hadde veldig høye Cq-verdier (se avsnitt 5.5.4). Dette peker mer i retning av probehydrolysing enn en kryssreaksjon med *S. aureus*.

Siste steg for å finne ut om hvorfor prøve 11 og 12 ble amplifisert med både TaqMan-probe og med EvaGreen-deteksjon, var å reisolere DNA med easyMag® av kliniske prøvene. En slik fremgangsmåte ville man også valgt i rutinediagnostikk; ved svake og usikre resultater reisolere man DNA hvis mulig og gjør analysen på nytt. Det ble gjort PCR med primerassay *hsp60* og EvaGreen-deteksjon og med TaqMan-probe av produkt. I analysene med reisolert DNA ble det ikke amplifisert noe produkt, unntatt *S. epidermidis*. Siden resultater fra tidligere kjøring av kliniske prøver ikke lot seg reproducere, blir derfor resultatet med amplifikasjon av prøve 11 og 12 sett på som kontaminasjon, ikke en kryssreaksjon med *S. aureus* eller probehydrolyse.

En annen metode å håndtere svake resultater ved PCR-analyse, er å sette en cut-off-verdi. I denne oppgaven kunne en slik cut-off vært satt ved 35 syklar. På denne måten ville de svake resultatene med Cq>35 (som klinisk prøve 11 og 12) blitt ekskludert som negative allerede ved første kjøring.

Flere av de andre kliniske prøvene (1, 4, 6, og 9) inneholdt også *S. aureus*, med disse prøvene fikk ikke noe utslag med TaqMan-proben. Dette styrker tanken om at *S. aureus* ikke kryssreagerer med primerassay *hsp60* og probe, men at utslagene med TaqMan-proben er var en konsekvens av kontaminasjon.

Ved sammenlikning av primersett *hsp60* med EvaGreen-deteksjon og TaqMan-probe er det generelt lavere Cq-verdier for EvaGreen-deteksjon med annealingtemperatur 57 °C. Se tabell i resultater avsnitt 5.4.3. Det er heller ikke vist at TaqMan-proben har bedre sensitivitet eller spesifisitet en EvaGreen, verken med referansestammene eller de kliniske prøvene. Kun klinisk prøve 2, 5, 10, 11 og 12 ble kjørt med EvaGreen, men med samme resultater som med TaqMan. EvaGreen er billigere enn TaqMan og det kan vurderes om eventuelt EvaGreen kunne brukes fremfor TaqMan-probe med dette primersettet, men det vil også kreve en post-PCR smeltepunktsanalyse.

6.8 STYRKER OG SVAKHETER MED PCR

Det er ikke gjort noen annen optimalisering av PCR annet enn gradientanalyse, da ble annealingtemperaturen satt til 57 °C i stedet for 52 °C som ble valgt ved førstegangskjøring for PCR. Det er vanlig å optimalisere PCR ved å endre for eksempel ione konsentrasjonen, her kunne det vært gjort ved å endre sammensetningen av SSoFastEvaGreen supermix/ PerfeCta multiplex qPCR Supermix, primerpar, MGW og templat. I forsøkene som har blitt kjørt har PCR gitt tilfredsstillende resultater med standardoppsett, og det har derfor ikke vært funnet nødvendig å prøve og endre på mengdene.

Det er demonstrert DNA-isoleringen er et kritisk trinn og analysemetoden er utsatt for kontaminering, kun små mengde DNA kan gi falskt positive resultater.

6.9 BEGRENINGER FOR PCR

PCR er kun testet mot et panel som det allerede er vist inneholder stafylokokker. Det er derfor fortsatt usikkert om assayet kryssreagerer med andre mikrober enn stafylokokker. Det var kun et panel på 12 kliniske prøver, og bare 11 det lot seg ekstrahere DNA fra. Det er litt for få til å si at PCR sikkert ikke kryssreagerer med andre stafylokokker. Testing mot kliniske prøver skulle i utgangspunktet være blindet, men etter isolering av DNA med Qiagen spinnkolonne som var mislykket ble ikke de videre PCR-analysene lenger blindet.

6.10 VIDERE ARBEID

Ved fremmedlegemeinfeksjoner er viktige å identifisere agens så fort som mulig for å kunne gi riktig behandling. Ved St. Olavs hospital i dag fins det ikke en raskere måte enn dyrkning å diagnostisere stafylokokkinfeksjon, som er det viktigste agens ved fremmedlegemeinfeksjoner. En spesifikk panstaph-PCR (en metode som vil kunne påvise alle stafylokokker) ville i løpet av noen timer kunne sagt om det var stafylokokker tilstede eller ikke. Deretter kunne spesifikke PCR-assay for species blitt brukt for videre identifikasjon.

Denne oppgaven som har som målsetning å kunne påvise *S. epidermidis*. Det fins en PCR for *S. aureus* som brukes ved mikrobiologisk avdeling, men denne er ikke veldig sensitiv. Det kunne derfor vært ønskelig å lage et panel for identifikasjon av de viktigste mikrobene med et panstaph -assay, et *S. aureus*-assay og et *S. epidermidis*-assay for rask identifikasjon.

7 KONKLUSJON

I oppgaven er det sett på fem konserverte gener hos stafylokokker den hensikt å kunne designe et spesifikt RT-PCR primerassay for påvising *S. epidermidis*. *In silico*-analysene var spesifikke for alle de fem primersettene, men ved PCR-forsøk med et panel på seks andre stafylokokker var kun primerassay *hsp60* og *rpoB* spesifikke ved EvaGreen-deteksjon av PCR-produkt. Sensitiviteten til primerassay *rpoB* og *hsp60* ble beregnet til 9,9 CFU per PCR-reaksjon og har en amplifikasjonseffektivitet på 1,04 (*rpoB*) og 0,88 (*hsp60*).

PCR som brukes i rutinediagnostikk bruker i de fleste tilfeller et primersett med probe for å øke spesifisiteten til assayet. PCR med Taqman-probe og primerassay *hsp60* er kjørt med kliniske prøver, både vevsprøver og blodkulturer, og det er vist at det er spesifikt for *S. epidermidis* og har en sensitivitet på 9,9 CFU per PCR-reaksjon. Primersettet er ikke testet med andre kliniske prøver enn dem med stafylokokker tilstede og bør derfor valideres bredere før det eventuelt kan tas inn i rutinediagnostikken.

Ved fremmedlegemeinfeksjoner er det viktig å påvise agens så raskt som mulig og nydesignet *hsp60* PCR-assay med Taqman-probe kan bli et viktig ledd i forbedre diagnostikken av *S. epidermidis*-infeksjoner.

8 KILDER

1. Pelt-Verkuil Ev, Belkum Av, Hays JP. Principles and Technical Aspects of PCR Amplification 2008.
2. Namvar AE, Bastarahang S, Abbasi N, Ghehi GS, Farhadbakhtiarian S, Arezi P, et al. Clinical characteristics of *Staphylococcus epidermidis*: a systematic review. *GMS hygiene and infection control*. 2014;9(3):Doc23.
3. Arciola CR, Campoccia D, Ehrlich GD, Montanaro L. Biofilm-based implant infections in orthopaedics. *Adv Exp Med Biol*. 2015;830:29-46.
4. Fowler VG, Jr., Miro JM, Hoen B, Cabell CH, Abrutyn E, Rubinstein E, et al. *Staphylococcus aureus* endocarditis: a consequence of medical progress. *JAMA*. 2005;293(24):3012-21.
5. Gomes F, Teixeira P, Oliveira R. Mini-review: *Staphylococcus epidermidis* as the most frequent cause of nosocomial infections: old and new fighting strategies. *Biofouling*. 2014;30(2):131-41.
6. Tunney MM, Patrick S, Curran MD, Ramage G, Hanna D, Nixon JR, et al. Detection of prosthetic hip infection at revision arthroplasty by immunofluorescence microscopy and PCR amplification of the bacterial 16S rRNA gene. *J Clin Microbiol*. 1999;37(10):3281-90.
7. Costerton JW. Biofilm theory can guide the treatment of device-related orthopaedic infections. *Clin Orthop Relat Res*. 2005(437):7-11.
8. Jones D, Deibel RH, Niven CF, Jr. Identity of *Staphylococcus epidermidis*. *J Bacteriol*. 1963;85:62-7.
9. Martineau F, Picard FJ, Ke D, Paradis S, Roy PH, Ouellette M, et al. Development of a PCR assay for identification of staphylococci at genus and species levels. *J Clin Microbiol*. 2001;39(7):2541-7.
10. Goh SH, Potter S, Wood JO, Hemmingsen SM, Reynolds RP, Chow AW. HSP60 gene sequences as universal targets for microbial species identification: studies with coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol*. 1996;34(4):818-23.
11. Hirotaki S, Sasaki T, Kuwahara-Arai K, Hiramatsu K. Rapid and accurate identification of human-associated staphylococci by use of multiplex PCR. *J Clin Microbiol*. 2011;49(10):3627-31.
12. Francois P, Pittet D, Bento M, Pepey B, Vaudaux P, Lew D, et al. Rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from sterile or nonsterile clinical samples by a new molecular assay. *J Clin Microbiol*. 2003;41(1):254-60.
13. Jukes L, Mikhail J, Bome-Mannathoko N, Hadfield SJ, Harris LG, El-Bouri K, et al. Rapid differentiation of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative staphylococci and methicillin susceptibility testing directly from growth-positive blood cultures by multiplex real-time PCR. *J Med Microbiol*. 2010;59(Pt 12):1456-61.
14. Ghebremedhin B, Layer F, Konig W, Konig B. Genetic classification and distinguishing of *Staphylococcus* species based on different partial gap, 16S rRNA, hsp60, rpoB, sodA, and tuf gene sequences. *J Clin Microbiol*. 2008;46(3):1019-25.
15. Mellmann A, Becker K, von Eiff C, Keckevoet U, Schumann P, Harmsen D. Sequencing and staphylococci identification. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(2):333-6.
16. Poyart C, Quesne G, Boumaila C, Trieu-Cuot P. Rapid and accurate species-level identification of coagulase-negative staphylococci by using the sodA gene as a target. *J Clin Microbiol*. 2001;39(12):4296-301.
17. Kobayashi N, Bauer TW, Sakai H, Togawa D, Lieberman IH, Fujishiro T, et al. The use of newly developed real-time PCR for the rapid identification of bacteria in culture-negative osteomyelitis. *Joint Bone Spine*. 2006;73(6):745-7.

18. Skow A, Mangold KA, Tajuddin M, Huntington A, Fritz B, Thomson RB, Jr., et al. Species-level identification of staphylococcal isolates by real-time PCR and melt curve analysis. *J Clin Microbiol.* 2005;43(6):2876-80.
19. Iwase T, Hoshina S, Seki K, Shinji H, Masuda S, Mizunoe Y. Rapid identification and specific quantification of *Staphylococcus epidermidis* by 5' nuclease real-time polymerase chain reaction with a minor groove binder probe. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;60(2):217-9.
20. Edwards KJ, Kaufmann ME, Saunders NA. Rapid and accurate identification of coagulase-negative staphylococci by real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2001;39(9):3047-51.
21. McCann MT, Gilmore BF, Gorman SP. *Staphylococcus epidermidis* device-related infections: pathogenesis and clinical management. *J Pharm Pharmacol.* 2008;60(12):1551-71.
22. Kilic A, Basustaoglu AC. Double triplex real-time PCR assay for simultaneous detection of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, and *Staphylococcus haemolyticus* and determination of their methicillin resistance directly from positive blood culture bottles. *Res Microbiol.* 2011;162(10):1060-6.
23. Sakai H, Procop GW, Kobayashi N, Togawa D, Wilson DA, Borden L, et al. Simultaneous detection of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci in positive blood cultures by real-time PCR with two fluorescence resonance energy transfer probe sets. *J Clin Microbiol.* 2004;42(12):5739-44.
24. National Center for Biotechnology Information USNLoM. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore>.
25. (EMBL-EBI) TEBI. <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>. 2015.
26. National Library of Medicine (NLM) NCfBI. <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

VEDLEGG

Vedlegg.....	1
1.1 Vedlegg 1 – Alignment av alle stafylokokker for <i>gap</i>	3
1.2 Vedlegg 2 – Primere og probe for <i>gap</i>	19
1.3 Vedlegg 3 – Alignment av alle stafylokokker for <i>hsp60</i>	22
1.4 Vedlegg 4 – Primere og probe for <i>hsp60</i>	32
1.5 Vedlegg 5 – Alignment av alle stafylokokker for <i>rpoB</i>	33
1.6 Vedlegg 6 – Primere og probe for <i>rpoB</i>	43
1.7 Vedlegg 7 – Alignment av alle stafylokokker for <i>sodA</i>	45
1.8 Vedlegg 8 – Primere og probe for <i>sodA</i>	54
1.9 Vedlegg 9 – Alignment av alle stafylokokker for <i>tuf</i>	56
1.10 Vedlegg 10 – Primere og probe for <i>tuf</i>	66
1.11 Vedlegg 11 – Fortynning av primere. Stockløsning 100 µM	67
1.12 Vedlegg 12 –Fortynning av primere. Bruksløsning 5 µM.	68

Kommentarer til vedlegg

Vedlegg viser alignment av basesekvenser for ulike stafylokokker. Aksesjonsnummer fra GenBank ses foran i alignment. Der noen av basene er kuttet bort er det markert med hvilke baser det gjelder bak aksesjonsnummeret.

* under alignment marker at alle basene er like.

Grønn farge er markør for den utvalgte konsensussekvensen.

Gul markerer hvor de designede primerne er lagt.

Blå markerer hvor designet TaqMan-probe ligger.

Lysegrønn i vedlegg 2, 4, 6 ,8 og 10 marker mismatcher i områder der hvor primer ligger.

Alignment gap i Clustal omega

1.1.1.1 Staphylococcus epidermidis.

gi 20799591 gb AF495479.1	AAGTGGTTGCAGTAAACGACTTAACTGATGACGATATGTTAGCACACTTATTTAAATATAT
gi 388330770 gb J0728528.1	AAGTAGTTCGAGTTAAGCATTACAGATGACGATATGTTAGCTCATTTATTTAAATACG
gi 388330737 gb J0728511.1	AAAGTTGCAGTTAACGACTTAAACAGATGACGATATGTTAGCTCATTTATTTAAATACG
gi 85062693 gb DQ321683.1	AAAGTAGTTCGAGTTAACGACTTAAACAGATGACGATATGTTAGCTCATTTATTTAAATACG
gi 199581368 gb EU659906.1	AAAGTAGTTCGAGTTAACGACTTAAACAGATGACGATATGTTAGCTCATTTATTTAAATACG
gi 388330698 gb J0728491.1	AAGTAGTTCGAGTTAACGACTTAAACAGATGACGATATGTTAGCTCATTTATTTAAATACG
gi 294960056 gb GU968738.1	-----TGCAAGTTAACGACTTAAACAGATGACGATATGTTAGCTCATTTATTTAAATACG
gi 294960054 gb GU968737.1	-----TGCAAGTTAACGACTTAAACAGATGACGATATGTTAGCTCATTTATTTAAATACG
gi 294959369 gb GU951707.1	-----TGCAAGTTAACGACTTAAACAGATGACGATATGTTAGCTCATTTATTTAAATACG
gi 199581368 gb EU659906.1	-----TGCAAGTTAACGACTTAAACAGATGACGATATGTTAGCTCATTTATTTAAATACG
gi 199581368 gb EU659906.1	*****
gi 20799591 gb AF495479.1	ACACTATGCAAGGTCGCTTCACTGGTGAAGTTAGAAGTTATCGACGGTGGATTCGCTGTTA
gi 388330770 gb J0728528.1	ATACTATGCAAGGTCGTTTCACTGGAGAAGTTGAAGTTATCGAAGGTGGTTTCCGTTGTA
gi 388330737 gb J0728511.1	ATACTATGCAAGGTCGTTTCACTGGAGAAGTTGAAGTTATCGAAGGTGGATTCGCTGTTGA
gi 85062693 gb DQ321683.1	ATACTATGCAAGGTCGTTTCACTGGAGAAGTTGAAGTTATCGAAGGTGGATTCGCTGTTGA
gi 199581368 gb EU659906.1	ATACTATGCAAGGTCGTTTCACTGGAGAAGTTGAAGTTATCGAAGGTGGATTCGCTGTTGA
gi 388330698 gb J0728491.1	ATACTATGCAAGGTCGTTTCACTGGAGAAGTTGAAGTTATCGAAGGTGGATTCGCTGTTGA
gi 294960056 gb GU968738.1	ATACTATGCAAGGTCGTTTCACTGGAGAAGTTGAAGTTATCGAAGGTGGATTCGCTGTTGA
gi 294960054 gb GU968737.1	ATACTATGCAAGGTCGTTTCACTGGAGAAGTTGAAGTTATCGAAGGTGGATTCGCTGTTGA
gi 294959369 gb GU951707.1	ATACTATGCAAGGTCGTTTCACTGGAGAAGTTGAAGTTATCGAAGGTGGATTCGCTGTTGA
gi 199581368 gb EU659906.1	ATACTATGCAAGGTCGTTTCACTGGAGAAGTTGAAGTTATCGAAGGTGGATTCGCTGTTGA
gi 199581368 gb EU659906.1	*****
gi 20799591 gb AF495479.1	ACGGTAAAGAAATTTAAATCATTCGATGAACACGATGCAAGCAAAATTCCTTTGGAAGAAGT
gi 388330770 gb J0728528.1	ACGGTAAAGAAATTTAAATCATTCGATGAACACGATGCTGGTAAATTTACCATTGGGGCGACT
gi 388330737 gb J0728511.1	ACGGTAAAGAAATTTAAATCATTCGATGAACACGATGCTGGTAAATTTCCCTTTGGGGCGAAT
gi 85062693 gb DQ321683.1	ACGGTAAAGAAATTTAAATCATTCGATGAACACGATGCTGGTAAATTTACCATTGGGGCGAAT
gi 199581368 gb EU659906.1	ACGGTAAAGAAATTTAAATCATTCGATGAACACGATGCTGGTAAATTTACCATTGGGGCGAAT
gi 388330698 gb J0728491.1	ACGGTAAAGAAATTTAAATCATTCGATGAACACGATGCTGGTAAATTTACCATTGGGGCGAAT
gi 294960056 gb GU968738.1	ACGGTAAAGAAATTTAAATCATTCGATGAACACGATGCTGGTAAATTTACCATTGGGGCGAAT
gi 294960054 gb GU968737.1	ACGGTAAAGAAATTTAAATCATTCGATGAACACGATGCTGGTAAATTTACCATTGGGGCGAAT
gi 294959369 gb GU951707.1	ACGGTAAAGAAATTTAAATCATTCGATGAACACGATGCTGGTAAATTTACCATTGGGGCGAAT
gi 199581368 gb EU659906.1	ACGGTAAAGAAATTTAAATCATTCGATGAACACGATGCTGGTAAATTTACCATTGGGGCGAAT
gi 199581368 gb EU659906.1	*****

gi 20799591 gb AF495479.1	gTTAAGTGAAGGTTTAATGACAACTATCCAGCCTTCACCTGGTGACAAAATACTCAAA
gi 388330770 gb JQ728528.1	GTTTAGTTGAAGGTTTTCATGACTACTATTTCATCGTTACACAGGTGACCAAAATACACAAG
gi 388330737 gb JQ728511.1	GTTTAGTTGAAGGTTTTCATGACTACAATTATTCAGTTCACCTGGTGACAAAATACACAAG
gi 85062693 gb DQ321683.1	GTTTAGTTGAAGGTTTTCATGACTACAATTTCAGCTTCACCTGGTGACAAAATACACAAG
gi 199581368 gb EU659906.1	GTTTAGTTGAAGGTTTTCATGACTACAATTTCAGCTTCACCTGGTGACAAAATACACAAG
gi 388330698 gb JQ728491.1	GTTTAGTTGAAGGTTTTCATGACTACAATTTCAGCTTCACCTGGTGACAAAATACACAAG
gi 294960056 gb GU968738.1	GTTTAGTTGAAGGTTTTCATGACTACAATTTCAGCTTCACCTGGTGACAAAATACACAAG
gi 294960054 gb GU968737.1	GTTTAGTTGAAGGTTTTCATGACTACAATTTCAGCTTCACCTGGTGACAAAATACACAAG
gi 294959369 gb GU951707.1	GTTTAGTTGAAGGTTTTCATGACTACAATTTCAGCTTCACCTGGTGACAAAATACACAAG
gi 199581368 gb EU659906.1 /12-814	GTTTAGTTGAAGGTTTTCATGACTACAATTTCAGCTTCACCTGGTGACAAAATACACAAG ***** ** * * * * * ***** ** * * * * *
gi 20799591 gb AF495479.1	ATGCTCCACAGAAGGCCAAAACTCGTGCCTGCTGCCTGCAGCAGCAAAAACATCATCC
gi 388330770 gb JQ728528.1	ACGCACCTCACAGAAAGGTGACAAAACGTGTCACGTGCAGCAGCAGAGAAAATATTATCC
gi 388330737 gb JQ728511.1	ACGCACCTCACAGAAAGGTGACAAAACGTGTCACGTGCAGCAGCAGAGAAAATATTATCC
gi 85062693 gb DQ321683.1	ACGCACCTCACAGAAAGGTGACAAAACGTGTCACGTGCAGCAGCTGAAAATATTATCC
gi 199581368 gb EU659906.1	ACGCACCTCACAGAAAGGTGACAAAACGTGTCACGTGCAGCAGCTGAAAATATTATCC
gi 388330698 gb JQ728491.1	ACGCACCTCACAGAAAGGTGACAAAACGTGTCACGTGCAGCAGCTGAAAATATTATCC
gi 294960056 gb GU968738.1	ACGCACCTCACAGAAAGGTGACAAAACGTGTCACGTGCAGCAGCTGAAAATATTATCC
gi 294960054 gb GU968737.1	ACGCACCTCACAGAAAGGTGACAAAACGTGTCACGTGCAGCAGCTGAAAATATTATCC
gi 294959369 gb GU951707.1	ACGCACCTCACAGAAAGGTGACAAAACGTGTCACGTGCAGCAGCTGAAAATATTATCC
gi 199581368 gb EU659906.1 /12-814	ACGCACCTCACAGAAAGGTGACAAAACGTGTCACGTGCAGCAGCTGAAAATATTATCC * * * * * ***** ** * * * * * ***** ** * * * * *
gi 20799591 gb AF495479.1	CTAACTCAACTGGTGCTTAAAGCAATCGGTAAAGTAAATTCCTGAAATCGACGGAAAAAT
gi 388330770 gb JQ728528.1	CTAACTCAACAGGTGCTTAAAGCTATTCGGTAAAGTTATTCCAGAAATCGATGGTAAAT
gi 388330737 gb JQ728511.1	CTAACTCAACAGGTGCTTAAAGCTATTCGGTAAAGTTATTCCAGAAATCGATGGTAAAT
gi 85062693 gb DQ321683.1	CTAACTCAACAGGTGCTTAAAGCTATTCGGTAAAGTTATTCCAGAAATCGATGGTAAAT
gi 199581368 gb EU659906.1	CTAACTCAACAGGTGCTTAAAGCTATTCGGTAAAGTTATTCCAGAAATCGATGGTAAAT
gi 388330698 gb JQ728491.1	CTAACTCAACAGGTGCTTAAAGCTATTCGGTAAAGTTATTCCAGAAATCGATGGTAAAT
gi 294960056 gb GU968738.1	CTAACTCAACAGGTGCTTAAAGCTATTCGGTAAAGTTATTCCAGAAATCGATGGTAAAT
gi 294960054 gb GU968737.1	CTAACTCAACAGGTGCTTAAAGCTATTCGGTAAAGTTATTCCAGAAATCGATGGTAAAT
gi 294959369 gb GU951707.1	CTAACTCAACAGGTGCTTAAAGCTATTCGGTAAAGTTATTCCAGAAATCGATGGTAAAT
gi 199581368 gb EU659906.1 /12-814	CTAACTCAACAGGTGCTTAAAGCTATTCGGTAAAGTTATTCCAGAAATCGATGGTAAAT ***** ** * * * * * ***** ** * * * * * ***** ** * * * * *
gi 20799591 gb AF495479.1	TAGACGGTGGTGACAAACGTGTTCCAGTTGCNACTGGTTCAATTAACGAATTAAACAGTTG
gi 388330770 gb JQ728528.1	TAGACGGTGGAGCACAACGTGTTCCAGTTGCTACTGGTTCTTTAACTGAATTAACGTGAG
gi 388330737 gb JQ728511.1	TAGACGGTGGAGCACAACGTGTTCCAGTTGCTACTGGTTCTTTAACTGAATTAACGTGAG
gi 85062693 gb DQ321683.1	TAGACGGTGGAGCACAACGTGTTCCAGTTGCTACTGGTTCTTTAACTGAATTAACGTGAG
gi 199581368 gb EU659906.1	TAGACGGTGGAGCACAACGTGTTCCAGTTGCTACTGGTTCTTTAACTGAATTAACGTGAG
gi 388330698 gb JQ728491.1	TAGACGGTGGAGCACAACGTGTTCCAGTTGCTACTGGTTCTTTAACTGAATTAACGTGAG
gi 294960056 gb GU968738.1	TAGACGGTGGAGCACAACGTGTTCCAGTTGCTACTGGTTCTTTAACTGAATTAACGTGAG
gi 294960054 gb GU968737.1	TAGACGGTGGAGCACAACGTGTTCCAGTTGCTACTGGTTCTTTAACTGAATTAACGTGAG
gi 294959369 gb GU951707.1	TAGACGGTGGAGCACAACGTGTTCCAGTTGCTACTGGTTCTTTAACTGAATTAACGTGAG
gi 199581368 gb EU659906.1 /12-814	TAGACGGTGGAGCACAACGTGTTCCAGTTGCTACTGGTTCTTTAACTGAATTAACGTGAG ***** ** * * * * * ***** ** * * * * * ***** ** * * * * *

gi 57865352:446473-447483	ATGGCAATTAAAGTAGCAATTAATGGTTTGGTAGAAATTGGTCGTTTAGCATTAGAAGA
gi 388330698 gb JQ728491.1 /1-927	-----TGGTAGAAATTGGTCGTTTAGCATTAGAAGA

gi 57865352:446473-447483	ATTCAAGATGTAGAAGGCTTTGAAGTAGTTGCACTTAACGACTTTAACAGATGACGATATG
gi 388330698 gb JQ728491.1 /1-927	ATTCAAGATGTAGAAGGCTTTGAAGTAGTTGCACTTAACGACTTTAACAGATGACGATATG

gi 57865352:446473-447483	TTAGCTCATTTATTAAAAACGATACGATGCAAGGTCGTTTCACTGGAGAAAGTTGAAGTT
gi 388330698 gb JQ728491.1 /1-927	TTAGCTCATTTATTAAAAACGATACGATGCAAGGTCGTTTCACTGGAGAAAGTTGAAGTT

gi 57865352:446473-447483	ATCGAAGGTGGATCCCGTGTGAACGGTAAAGAAATTAATCATTCGATGAACCAAGATGCT
gi 388330698 gb JQ728491.1 /1-927	ATCGAAGGTGGATCCCGTGTGAACGGTAAAGAAATTAATCATTCGATGAACCAAGATGCT

gi | 57865352 : 446473 - 447483
gi | 388330698 | gb | JQ728491.1 | /1 - 927

GGTAAATTACCATGGGCGATTTAGATATCGACGTAGTATTAGAATGTAAGTGGTTCTAT
GGTAAATTACCATGGGCGATTTAGATATCGACGTAGTATTAGAATGTAAGTGGTTCTAT

gi | 57865352 : 446473 - 447483
gi | 388330698 | gb | JQ728491.1 | /1 - 927

ACTGATAAGAAAAAGCACAAGCTCACATCGATCGAGGTGCTAAAAAGTATTAATCTCA
ACTGATAAGAAAAAGCACAAGCTCACATCGATCGAGGTGCTAAAAAGTATTAATCTCA

gi | 57865352 : 446473 - 447483
gi | 388330698 | gb | JQ728491.1 | /1 - 927

GCTCCAGCTAAAGGTGATGTAAAAACAATCGTATTAACACCTAACCATGATACATTAGAT
GCTCCAGCTAAAGGTGATGTAAAAACAATCGTATTAACACCTAACCATGATACATTAGAT

gi | 57865352 : 446473 - 447483
gi | 388330698 | gb | JQ728491.1 | /1 - 927

GGTTCAGAAACAGTTGTTTCAGGTGCTTCTTGTAAGGTTTCATGACTACAATTCACGCTTAC
GGTTCAGAAACAGTTGTTTCAGGTGCTTCTTGTAAGGTTTCATGACTACAATTCACGCTTAC

gi | 57865352 : 446473 - 447483
gi | 388330698 | gb | JQ728491.1 | /1 - 927

AAAGTTTAAAGTGACGAATTCGGTTTAGTTGAAGGTTTCATGACTACAATTCACGCTTAC
AAAGTTTAAAGTGACGAATTCGGTTTAGTTGAAGGTTTCATGACTACAATTCACGCTTAC

gi | 57865352 : 446473 - 447483
gi | 388330698 | gb | JQ728491.1 | /1 - 927

ACTGGTGACAAAAATACACAAGACGCACCTCACAGAAAAGGTGACAAAACGTCGTGCAGGT
ACTGGTGACAAAAATACACAAGACGCACCTCACAGAAAAGGTGACAAAACGTCGTGCAGGT

gi | 57865352 : 446473 - 447483
gi | 388330698 | gb | JQ728491.1 | /1 - 927

GCAGCAGCTGAAAAATATTATCCCTAACTCAACAGGTGCTGCTAAAAGCTATCGGTAAAGTT
GCAGCAGCTGAAAAATATTATCCCTAACTCAACAGGTGCTGCTAAAAGCTATCGGTAAAGTT

gi | 57865352 : 446473 - 447483
gi | 388330698 | gb | JQ728491.1 | /1 - 927

ATTCAGAAAAATCGATGGTAAATAGACGGTGGAGCACAAACGTGTTCCAGTTGCTACTGGT
ATTCAGAAAAATCGATGGTAAATAGACGGTGGAGCACAAACGTGTTCCAGTTGCTACTGGT

gi | 57865352 : 446473 - 447483
gi | 388330698 | gb | JQ728491.1 | /1 - 927

TCTTTAACTGAATTAACGTAGTATTAGACAAACAAGATGTAAGTGTGACCAAGTTAAC
TCTTTAACTGAATTAACGTAGTATTAGACAAACAAGATGTAAGTGTGACCAAGTTAAC

gi | 57865352 : 446473 - 447483
gi | 388330698 | gb | JQ728491.1 | /1 - 927

AGTGCTATGAACAACAGCTTCGACGAATCATTTCGGTTACACTGAAGACGAAATCGTATCT
AGTGCTATGAACAACAGCTTCGACGAATCATTTCGGTTACACTGAAGACGAAATCGTATCT

gi | 57865352 : 446473 - 447483
gi | 388330698 | gb | JQ728491.1 | /1 - 927

TCTGATATTGTTGGTATGACTTACGGTTTATTGTCGACTCAAACTCGTGTGTTATG
TCTGATATTGTTGGTATGACTTACGGTTTATTGTCGACTCAAACTCGTGTGTTATG

gi | 57865352 : 446473 - 447483
gi | 388330698 | gb | JQ728491.1 | /1 - 927

ACTGTTGGAGATCGTCAATTAGTTAAAGTTGCAGCTTGGTACGACAAATGAAATGCTTTAC
ACTGTTGGAGATCGTCAATTAGTTAAAGTTGCAGCTTGGTATGATAACGAAATGTC ---

1.1.2 Staphylococcus aureus

Konsensussekvens: NCTC 8325 (NC_007795)

S. aureus
gi | 88193823 : 777185 - 778195 ttagcgcatattat-aaatatgacacatgcaaggtcggtttcacaggtagagggta
gi | 87159884 : 843347 - 844357 TTAGCGCATTTATTAAAAATATGACACTATGCAAGGTGCTTTCACAGGTGAAGTTAGAGGTA
gi | 109676851 | gb | DQ647033.1 | TTAGCGCATTTATTAAAAATATGACACTATGCAAGGTGCTTTCACAGGTGAAGTTAGAGGTA
-----GTTTCACAGGTGAAGTTAGAGGTA

S. aureus
gi | 88193823 : 777185 - 778195 gttgatgggtgttcgcgtaagtgaagaagttaaatcattcagtgaaaccagatgca
gi | 87159884 : 843347 - 844357 GTTGATGGTGTTCCTCGGTAAATGGTTAAAGAAGTTAAATCATTCAGTGAACCCAGATGCA
gi | 109676851 | gb | DQ647033.1 | GTTGATGGTGTTCCTCGGTAAATGGTTAAAGAAGTTAAATCATTCAGTGAACCCAGATGCA

S. aureus
gi | 88193823 : 777185 - 778195 agcaaatattaccttggaagacttaaatatcgatgtagtattagaatgtactggtttctac
gi | 87159884 : 843347 - 844357 AGCAAAATTACCTTGGAAGACTTTAAATATCGATGCTAGTATTAGAAATGTTACTGGTTCTAC
gi | 109676851 | gb | DQ647033.1 | AGCAAAATTACCTTGGAAGACTTTAAATATCGATGCTAGTATTAGAAATGTTACTGGTTCTAC

S. aureus
gi | 88193823 : 777185 - 778195 actgataaagataaagcacaagctcatattgaagcaggcgctaaaaaagtattaatctca
gi | 87159884 : 843347 - 844357 ACTGATAAAGATAAAGCACAAGCTCATATTGAAGCAGCGCTAAAAAAGTATTAACTCTCA
gi | 109676851 | gb | DQ647033.1 | ACTGATAAAGATAAAGCACAAGCTCATATTGAAGCAGCGCTAAAAAAGTATTAACTCTCA

S. aureus
gi | 88193823 : 777185 - 778195 gcaccagctactggtgacttaaaacaatcgtattcaacactaacaccacaaggttagat
gi | 87159884 : 843347 - 844357 GCACCAGTACTGGTGACTTAAAAACAATCGTATTCAACACTAACCCACCAAGATTAGAC
gi | 109676851 | gb | DQ647033.1 | GCACCAGTACTGGTGACTTAAAAACAATCGTATTCAACACTAACCCACCAAGATTAGAC

S. aureus
gi | 88193823 : 777185 - 778195 ggttctgaacagttgtttcagtgcttcagtactacaaactcattagcaccagttgct
gi | 87159884 : 843347 - 844357 GGTTCTGAACAGTTGTTTCAGGTGCTTCATGTACTACAACTCATTAGCACCAAGTTGCT
gi | 109676851 | gb | DQ647033.1 | GGTTCTGAACAGTTGTTTCAGGTGCTTCATGTACTACAACTCATTAGCACCAAGTTGCT

S. aureus
gi | 88193823 : 777185 - 778195 aaagttttaaacgatgactttggtttagttgaaggtttaatgactacaattcacgcttac
gi | 87159884 : 843347 - 844357 AAAGTTTTAAACGATGACTTTGGTTTAGTTGAAGGTTTAAATGACTACAAATTCACGCTTAC
gi | 109676851 | gb | DQ647033.1 | AAAGTTTTAAACGATGACTTTGGTTTAGTTGAAGGTTTAAATGACTACAAATTCACGCTTAC

S. aureus
gi | 88193823 : 777185 - 778195 acaggtgatcaaatcacaaagcgcacctcacagaaaaggtgacaacgtcgctcgt
gi | 87159884 : 843347 - 844357 ACAGGTGATCAAAATACACAAGCAGCGACCTCACAGAAAAGGTGACAACGTCGTGCTCGT
gi | 109676851 | gb | DQ647033.1 | ACAGGTGATCAAAATACACAAGCAGCGACCTCACAGAAAAGGTGACAACGTCGTGCTCGT

S. aureus	gi 88193823 : 777185 - 778195	gcagcagcagaaaaacatcatccctaactcaacagggtgtgctgaagctatcggtaaagtt
gi 87159884 : 843347 - 844357		GCAGCGGCAGAAAAACATCATCCCTAACTCAACAGGTGCTGCTAAAGCTATCGGTAAGTT
gi 109676851 gb DQ647033.1		GCAGCGCAGAAAAACATCATCCCTAACTCAACAGGTGCTGCTAAAGCTATCGGTAAGTT
		GCAGCGCAGAAAAACATCATCCCTAACTCAACAGGTGCTGCTAAAGCTATCGGTAAGTT

S. aureus	gi 88193823 : 777185 - 778195	attcctgaatacgtggttaaatagatggtggtgcacaacgtgttcctgtagctacaggt
gi 87159884 : 843347 - 844357		ATTCTGAAATCGATGGTAAATTAGATGGTGGTGCACAACGTGTTCTGTAGCTACAGGT
gi 109676851 gb DQ647033.1		ATTCTGAAATCGATGGTAAATTAGATGGTGGTGCACAACGTGTTCTGTAGCTACAGGT
		ATTCTGAAATCGATGGTAAATTAGATGGTGGTGCACAACGTGTTCTGTAGCTACAGGT

S. aureus	gi 88193823 : 777185 - 778195	tcattaactgaattaacagtagtattagaaaaaacaagacgttaacagttgaacaagttaac
gi 87159884 : 843347 - 844357		TCATTAACTGAATTAACAGTAGTATTAGAAAAACAAGACGTTAACAGTTGAACAAAGTTAAC
gi 109676851 gb DQ647033.1		TCATTAACTGAATTAACAGTAGTATTAGAAAAACAAGACGTTAACAGTTGAACAAAGTTAAC
		TCATTAACTGAATTAACAGTAGTATTAGAAAAACAAGACGTTAACAGTTGAACAAAGTTAAC

S. aureus	gi 88193823 : 777185 - 778195	gaagctatgaaaaatgcttcaaacgaatcattcggttacactgaagcgaagaatcgtttct
gi 87159884 : 843347 - 844357		GAAGCTATGAAAAATGCTTCAAACGGAATCATTCGTTACACTGAAGACGAAATCGTTTCT
gi 109676851 gb DQ647033.1		GAAGCTATGAAAAATGCTTCAAACGGAATCATTCGTTACACTGAAGACGAAATCGTTTCT
		GAAGCTATGAAAAATGCTTCAAACGGAATCATTCGTTACACTGAAGACGAAATCGTTTCT

S. aureus	gi 88193823 : 777185 - 778195	tcagacgttgtaggtatgacttacggttcattattcgaagctacacaaactcgtgtaatg
gi 87159884 : 843347 - 844357		TCAGACGTTGTAGGTATGACTTACGTTTCATTATTCGACGCTACACAACTCGTGAATG
gi 109676851 gb DQ647033.1		TCAGACGTTGTAGGTATGACTTACGTTTCATTATTCGACGCTACACAACTCGTGAATG
		TCAGACGTTGTAGGTATGACTTACGTTTCATTATTCGACGCTACACAACTCGTGAATG

S. aureus	gi 88193823 : 777185 - 778195	tcagttggtgaccgtcaattagttaaagttgcagcttggtgatgataacgaaatgtcatat
gi 87159884 : 843347 - 844357		TCAGTTGGCGACCGTCAATTAGTTAAAGTTGCAGCTTGGTATGATAACGAAATGTCATAT
gi 109676851 gb DQ647033.1		TCAGTTGGCGACCGTCAATTAGTTAAAGTTGCAGCTTGGTATGATAACGAAATGTCATAT

S. aureus	gi 88193823 : 777185 - 778195	actgcacaattagttcgtacattagcatacttagctgaactttcttaataaa
gi 87159884 : 843347 - 844357		ACTGCACAATTAGTTCGTACATTAGCATACTTAGCTGAACTTCTAAATAA
gi 109676851 gb DQ647033.1		ACTGCACAATTAGTTCGTACATTAGCATACTTAGCTGAACTTCTAAATAA

[illegible]

gi 85062713 gb DQ321693.1	GCATACACTGGTGACCAAAATGACTCAAGATGGTCCACACAGAAAAGGTGACAAACGTCGT
gi 20799621 gb AF495494.1	GCATACACTGGTGACCAAAATGACTCAAGATGGTCCACACAGAAAAGGTGACAAACGTCGT
gb AEQA01000002.1 :47956-48957	GCAATTACAAATGATCAAAAATAATATAGATAATCCGCATAAGATTGA-----GAAGA *** ** *** ***** * * **** * * * * * * * * * * *
gi 85062713 gb DQ321693.1	GCTCGTGCAGCTGCACAAAACATCGTACCTAACTCAACTGGTGCTGCTAAAGCAATCGGT
gi 20799621 gb AF495494.1	GCTCGTGCAGCTGCACAAAACATCGTACCTAACTCAACTGGTGCTGCTAAAGCAATCGGT
gb AEQA01000002.1 :47956-48957	GC CGCTTCTTG TGGGAAAGTATTATACCAACATCAACAGGTGCTGCTAAAGCATTAATAA ** *** * ** *** ** * **** * **** * **** * **** * **** * **** *
gi 85062713 gb DQ321693.1	AAAGTTATTCCTGAAATCGATGGTAAATTAGACGGTGGTGCACAAGTGTACCTGTAGCT
gi 20799621 gb AF495494.1	AAAGTTATTCCTGAAATCGATGGTAAATTAGACGGTGGTGCACAAGTGTACCTGTAGCT
gb AEQA01000002.1 :47956-48957	GAAGTTATGCCAGAATTGAATGGCAAACTACACGGCATTAGCACTTCGTGTGCCAACTCAA ***** ** *** * **** ** * **** ** * **** ** * **** ** * **** ** *
gi 85062713 gb DQ321693.1	ACAGGTTCAATTAACCTGAATTAACCTGTAGTATTAGAAAAACAAGATGTAAACAGTAGAACAA
gi 20799621 gb AF495494.1	ACAGGTTCAATTAACCTGAATTAACCTGTAGTATTAGAAAAACAAGATGTAAACAGTAGAACAA
gb AEQA01000002.1 :47956-48957	AATGTATCATTAGTTGATTAGTCGTTGATTAAACAAA---AAGTGACAGTAGATGAA * * ***** *** *** ** * **** ** * **** ** * **** ** * **** ** *
gi 85062713 gb DQ321693.1	GTAACGAAGCGATGAAAAAGCTTCTAACGAATCATTCGGTTACAAATGAAGATGAATTT
gi 20799621 gb AF495494.1	GTAACGAAGCGATGAAAAAGCTTCTAACGAATCATTCGGTTACAAATGAAGATGAATTT
gb AEQA01000002.1 :47956-48957	GTTAATCATGCATTTAGAGATGCAAACTTACAAGGAATTATTGATGTTGAAGAGGCCCT *** ** * ** * * * * * ** * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
gi 85062713 gb DQ321693.1	GTTTCTCTGACGTAGTTGGTATGACTTACGGTTCA---TTATTTGATGCAACACAAACT
gi 20799621 gb AF495494.1	GTTTCTCTGACGTAGTTGGTATGACTTACGGTTCA---TTATTTGATGCAACACAAACT
gb AEQA01000002.1 :47956-48957	CTAGTTCTTAAGGACTATAATACAAATCCTCATTCAGCAGTTATAGATGCTAAAAATACA * **** * * * * * * * * * **** * * **** * * * **** * * * * *
gi 85062713 gb DQ321693.1	CGTGTAAATGTCAGTTGGTGGCCGTCAAATTAGTTAAAGTTGCAGCTTGGTATGATAACGAA
gi 20799621 gb AF495494.1	CGTGTAAATGTCAGTTGGTGGCCGTCAAATTAGTTAAAGTTGCAGCTTGGTATGATAACGAA
gb AEQA01000002.1 :47956-48957	ATGGTCAT-----GGGAGACAATAAAGGTTAAAGTTATAGCCTGGTATGATAACGAA ** ** * * * * * * * **** * * **** * * **** * * **** * * **** *

1.1.4 Staphylococcus capitis

CLUSTAL O(1.2.1) multiple sequence alignment

gi 199581360 gb EU659902.1	-----CTAGAAGTAGTTGCAGTTAACGACTTAAACAGATGATGAAATG
HM352966.1	ATCCAAGATGTAGAAGGCTTTGAAGTAGTAGCAGTTAACGACTTAAACAGATGACGAAATG
gi 307830740 gb HM352966.1	ATCCAAGATGTAGAAGGCTTTGAAGTAGTAGCAGTTAACGACTTAAACAGATGACGAAATG
AYP1020	ATCCAAGATGTAGAAGGCTTTGAAGTAGTAGCAGTTAACGACTTAAACAGATGACGAAATG
gi 294959375 gb GU951710.1	-----GATGTAGTAGGTCCTTGAAGTAGTAGCAGTTAACGACTTAAACAGATGACGAAATG ** * **** * * **** * * **** * * **** * * **** * * **** *

gi|199581360|gb|EU659902.1|
HM352966.1
gi|307830740|gb|HM352966.1|
AYP1020
gi|294959375|gb|GU951710.1|

gi|199581360|gb|EU659902.1|
HM352966.1
gi|307830740|gb|HM352966.1|
AYP1020
gi|294959375|gb|GU951710.1|

gi|199581360|gb|EU659902.1|
HM352966.1
gi|307830740|gb|HM352966.1|
AYP1020
gi|294959375|gb|GU951710.1|

gi|199581360|gb|EU659902.1|
HM352966.1
gi|307830740|gb|HM352966.1|
AYP1020
gi|294959375|gb|GU951710.1|

gi|199581360|gb|EU659902.1|
HM352966.1
gi|307830740|gb|HM352966.1|
AYP1020
gi|294959375|gb|GU951710.1|

gi|199581360|gb|EU659902.1|
HM352966.1
gi|307830740|gb|HM352966.1|
AYP1020
gi|294959375|gb|GU951710.1|

gi|199581360|gb|EU659902.1|
HM352966.1
gi|307830740|gb|HM352966.1|
AYP1020
gi|294959375|gb|GU951710.1|

TTAGCTCACTTATTAAAAATGACACTATGCAAGGTCGCTTCACTGGAGAAAGTTGAAGTC
TTAGCTCACTTATTAAAAACGACACTATGCAAGGTCGCTTCACTGGAGAAAGTTGAAGTT
TTAGCTCACTTATTAAAAACGACACTATGCAAGGTCGCTTCACTGGAGAAAGTTGAAGTT
TTAGCTCACTTATTAAAAACGACACTATGCAAGGTCGCTTCACTGGAGAAAGTTGAAGTT
TTAGCTCACTTATTAAAAACGACACTATGCAAGGTCGCTTCACTGGAGAAAGTTGAAGTT

ATCGATGGTGGATTCCGTGTTAACGGTAAAGAAATTTAAATCATTTCGATGAACCCAGATGCA
ATCGATGGTGGATTCCGTGTTAACGGTAAAGAAATTTAAATCATTTCGATGAACCCAGATGCA
ATCGATGGTGGATTCCGTGTTAACGGTAAAGAAATTTAAATCATTTCGATGAACCCAGATGCA
ATCGATGGTGGATTCCGTGTTAACGGTAAAGAAATTTAAATCATTTCGATGAACCCAGATGCA

AGCAAAATTACCTTGGGGAGACCTAGACATCGACGTAGTATTAGAAATGCTACTGGTTTCTAC
AGCAAAATTACCTTGGGGAGACCTAGACATCGACGTAGTATTAGAAATGCTACTGGTTTCTAC
AGCAAAATTACCTTGGGGAGACCTAGACATCGACGTAGTATTAGAAATGCTACTGGTTTCTAC
AGCAAAATTACCTTGGGGAGACCTAGACATCGACGTAGTATTAGAAATGCTACTGGTTTCTAC
AGCAAAATTACCTTGGGGAGACCTAGACATCGACGTAGTATTAGAAATGCTACTGGTTTCTAC

ACTGACAAAGATAAAGCACAAAGCTCACATCGATGCAGGTGCTAAAAAAGTATTAACTCTCT
ACTGATAAAGATAAAGCACAAAGCTCACATCGATGCAGGTGCTAAAAAAGTATTAACTCTCT
ACTGATAAAGATAAAGCACAAAGCTCACATCGATGCAGGTGCTAAAAAAGTATTAACTCTCT
ACTGATAAAGATAAAGCACAAAGCTCACATCGATGCAGGTGCTAAAAAAGTATTAACTCTCT

GCTCCAGCTACAGGTGATTTAAAAACAATCGTATTCAACACTAACCATGATGAATTAGAT
GCTCCAGCTACTGGTGATTTAAAAACAATCGTATTCAACACTAACCATGATGAATTAGAT
GCTCCAGCTACTGGTGATTTAAAAACAATCGTATTCAACACTAACCATGATGAATTAGAT
GCTCCAGCTACTGGTGATTTAAAAACAATCGTATTCAACACTAACCATGATGAATTAGAT

GGTTCTGAAACAGTTGTATCAGGTGCTTCTGTACAACCTAACTCATTAGCACCAAGTTGCT
GGTTCTGAAACAGTTGTATCAGGTGCTTCTGTACTACTAACTCATTAGCACCAAGTTGCA
GGTTCTGAAACAGTTGTATCAGGTGCTTCTGTACTACTAACTCATTAGCACCAAGTTGCA
GGTTCTGAAACAGTTGTATCAGGTGCTTCTGTACTACTAACTCATTAGCACCAAGTTGCA

AAAGTTTAAAAATGATGTTGGTTTGGTTAGTTGAAGGTTTAAATGACTACTATCCAGCCTTAT
AAAGTTTAAAAATGATGTTGGTTTGGTTAGTTGAAGGTTTAAATGACTACTATCCATGCTTAT
AAAGTTTAAAAATGATGTTGGTTTGGTTAGTTGAAGGTTTAAATGACTACTATCCATGCTTAT
AAAGTTTAAAAATGATGTTGGTTTGGTTAGTTGAAGGTTTAAATGACTACTATCCATGCTTAT
AAAGTTTAAAAATGATGTTGGTTTGGTTAGTTGAAGGTTTAAATGACTACTATCCATGCTTAT

[illegible]

Velger AYP1020 som consensus, aksjonsnummer: NZ_CP007601

1.1.5 Staphylococcus schleiferi

CLUSTAL O(1.2.1) multiple sequence alignment

Snudd complete= |913000289:1981730-1982737 Staphylococcus schleiferi strain 1360-13, complete genome

snuddcomplete	ATGGCAGTAAAGTAGCAATTAACGGATTGGTAGAATAGGTCGTTTAGCATTTAGAAGA
gi 372326153 gb JN609236.1	-----
DQ321696snudd	-----ATGGTTTTGGTAGAATTGGTCGTTTAGCATTTAGAAGA
gi 20799603 gb AF495485.1	-----ATGGTTTTGGTAGAATTGGTCGTTTAGCATTTAGAAGA

snuddcomplete	ATTCAAGATGTAGAAAACATTGAGGTAGTAGCTGTAAACGATTTAACAGACGACGATATG
gi 372326153 gb JN609236.1	-----CATTGAGGTAGTAGCTGTAAACGATTTAACAGACGACGATATG
DQ321696snudd	ATTCAAGATGTAGAAAACATTGAGGTAGTAGCTGTAAACGATTTAACAGATGACGATATG
gi 20799603 gb AF495485.1	ATTCAAGATGTAGAAAACATTGAGGTAGTAGCTGTAAACGATTTAACAGATGACGATATG

snuddcomplete	CTTGACACATTTATTGAAATATGACACAATGCAAGGTGCTTTTACTGGAAGAAGTAGAAGTA
gi 372326153 gb JN609236.1	CTTGACATTTATTGAAATATGACACAATGCAAGGTGCTTTTACTGGAAGAAGTAGAAGTA
DQ321696snudd	CTTGACATTTATTGAAATATGACACAATGCAAGGAGCTTTTACTGGAAGAAGTGGAAGTA
gi 20799603 gb AF495485.1	CTTGACATTTATTGAAATATGACACAATGCAAGGAGCTTTTACTGGAAGAAGTGGAAGTA

snuddcomplete	ATTGATGGTGGTTCCGTGGTGAATGGTAAAGAAGTAAATCATTCCTGGAACCAGAACCT
gi 372326153 gb JN609236.1	ATTGATGGTGGTTCCCGTGGTGAATGGTAAAGAAGTAAATCATTCCTGGAACCAGAACCT
DQ321696snudd	ATTGATGGTGGTTCCGTGGTGAATGGTAAAGAAGTAAATCATTCCTGGAACCAGAACCT
gi 20799603 gb AF495485.1	ATTGATGGTGGTTCCGTGGTGAATGGTAAAGAAGTAAATCATTCCTGGAACCAGAACCT

snuddcomplete	GCTAAATTACCTGGGGTGACCTTGGTGTAGACGTAGTATTAGAAATGTAAGTGGTTCTTTC
gi 372326153 gb JN609236.1	GCTAAATTACCTGGGGTGACCTTGGTGTAGACGTAGTATTAGAAATGTAAGTGGTTCTTTC
DQ321696snudd	GCTAAATTACCTGGGGTGACCTTGGTGTAGACGTAGTATTAGAAATGTAAGTGGTTCTTTC
gi 20799603 gb AF495485.1	GCTAAATTACCTGGGGTGACCTTGGTGTGGACGTAGTATTAGAAATGTAAGTGGTTCTTTC

snuddcomplete	ACAGATAAGAAAAAGCTGAAGCACACATTCAAGCAGGCGCTAAAAAGTATTAACTCTCA
gi 372326153 gb JN609236.1	ACAGATAAGAAAAAGCTGAAGCACACATTCAAGCAGGCGCTAAAAAGTATTAACTCTCA
DQ321696snudd	ACAGATAAGAAAAAGCTGAAGCACACATTCAAGCAGGCGCTAAAAAGTATTAACTCTCA
gi 20799603 gb AF495485.1	ACAGATAAGAAAAAGCTGAAGCACACATTCAAGCAGGCGCTAAAAAGTATTAACTCTCA

snuddcomplete	GCACCAGCTAAAGGTGATCTTAAACAATCGTATATAACGTTAACCCGAAACATTAGAC
gi 372326153 gb JN609236.1	GCACCAGCTAAAGGTGATCTTAAACAATCGTATATAACGTTAACCCGAAACATTAGAC
DQ321696snudd	GCACCGCTAAAGGTGATCTTAAACAATCGTATATAACTTAACCCAGCAGATTAGAT
gi 20799603 gb AF495485.1	GCACCGCTAAAGGTGATCTTAAACAATCGTATATAACTTAACCCAGCAGATTAGAT

snuddcomplete	gi 372326153 gb JN609236.1 DQ321696snudd gi 20799603 gb AF495485.1	GGTTCTGAACAGTTGTTTTCAGGTGCATCATGTACAACAACTCATTAGCACCTGTTGCA GGTTCTGAACAGTTGTTTTCAGGTGCATCATGTACAACAACTCATTAGCACCTGTTGCA GGTTCTGAACAGTTGTTTTCAGGTGCATCATGTACAACAACTCATTAGCACCTGTTGCA GGTTCTGAACAGTTGTTTTCAGGTGCATCATGTACAACAACTCATTAGCACCTGTTGCA *****
snuddcomplete	gi 372326153 gb JN609236.1 DQ321696snudd gi 20799603 gb AF495485.1	AAAACTTTACATGACGAATTCGGTATTGTTGAAGGTTTAATGACTACAAATTCACGCATAT AAAACTTTACAGACGAATTCGGTATTGTTGAAGGTTTAATGACTACAAATTCACGCATAT AAAACTTTACAGACGAATTCGGTATTGTTGAAGGTTTAATGACTACAAATTCACGCATAT AAAACTTTACAGACGAATTCGGTATTGTTGAAGGTTTAATGACTACAAATTCACGCATAT *****
snuddcomplete	gi 372326153 gb JN609236.1 DQ321696snudd gi 20799603 gb AF495485.1	ACTGGTGACCAAAATACACAAGACGCACCTCACAGAAAAGGTGACAAAGCTGTCACCGT ACTGGTGACCAAAATACACAAGACGCACCTCACAGAAAAGGTGACAAAGCTGTCACCGT ACTGGTGACCAAAATACACAAGATGCACCTCACAGAAAAGGTGACAAAGCTGTCGCGT ACTGGTGACCAAAATACACAAGATGCACCTCACAGAAAAGGTGACAAAGCTGTCGCGT *****
snuddcomplete	gi 372326153 gb JN609236.1 DQ321696snudd gi 20799603 gb AF495485.1	GCTGCTGCTGAAAAATATCATCCTTAACCTTACAGGTGCAGCGAAAGCAATCGGTTAGTT GCTGCTGCTGAAAAATATCATCCTTAACCTTACAGGTGCAGCGAAAGCAATCGGTTAGTT GCTGCTGCTGAAAAATATCATCCTTAACCTTACAGGTGCAGCGAAAGCAATCGGTTAGTT GCTGCTGCTGAAAAATATCATCCTTAACCTTACAGGTGCAGCGAAAGCAATCGGTTAGTT *****
snuddcomplete	gi 372326153 gb JN609236.1 DQ321696snudd gi 20799603 gb AF495485.1	ATCCAGAAATCGCTGGTAAATTAGATGGTGGTGCACAACGTTGCCAGTTGCAACTGGT ATCCAGAAATCGCTGGTAAATTAGATGGTGGTGCACAACGTTGCCAGTTGCAACTGGT ATCCAGAAATGCGCGTAAATTAGACGGTGGTGCACAACGTTGCCAGTTGCAACTGGT ATCCAGAAATGCGCGTAAATTAGACGGTGGTGCACAACGTTGCCAGTTGCAACTGGT *****
snuddcomplete	gi 372326153 gb JN609236.1 DQ321696snudd gi 20799603 gb AF495485.1	TCATTAAACAGAAATTAACAGTTGTTTGTAGATAAAGAAGTAAACAGTTGAAGAAGTAAACAAA TCATTAAACAGAAATTAACAGTTGTTTGTAGATAAAGAAGTAAACAGTTGAAGAAGTAAACAAA TCATTAAACAGAAATTAACAGTTGTTTGTAGATAAAGAAGTAAACAGTTGAAGAAGTAAACAAA *****
snuddcomplete	gi 372326153 gb JN609236.1 DQ321696snudd gi 20799603 gb AF495485.1	GTAATGAAGCAGCAACTAACGAATCATTCGGTTACACTGAAGACGAAATCGTTTCTTCA GTAATGAAGCAGCAACTAACGAATCATTCGGTTACACTGAAGACGAAATCGTTTCTTCA GTAATGAAGCAGCAACTAACGAATCATTCGGTTACACTGAAGACGAAATCGTTTCTTCA GTAATGAAGCAGCAACTAACGAATCATTCGGTTACACTGAAGACGAAATCGTTTCTTCA ***
snuddcomplete	gi 372326153 gb JN609236.1 DQ321696snudd gi 20799603 gb AF495485.1	GACGTTGTAGGTATGACTTACGGTGCAATTATTCGATGCAACTCAAACCTCGTGTAAATGACT GACGTTGTAGGTATGACTTACGGTGCAATTATTCGATGCAACTCAAACCTCGTGTAAATGACT GACGTTGTAGGTATGACTTACGGTGCAATTATTCGATGCAACTCAAACCTCGTGTAAATGACT *****

Bruker gi|913000289:1981730-1982737 Staphylococcus schleiferi strain 1360-13, complete genome.

1.1.6 Staphylococcus hominis

DQ321688.1/28-895		CATTGAGAAATTCAAGCGTAGAAGGTATTGAAGTAGTTGCAGTAAACGACTTAACAG
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917		CATTGAGAAATCAAGCGTAGAAGGTATTGAAGTAGTTGCAGTAAACGACTTAACAG
HM352973.1/5-872		CATTGAGAAATTTCAAAAGCTAGAAGGTATTGAAGTAGTTGCAGTAAACGACTTAACAG
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868		CATTGAGAAATTTCAAGCGTAGAAGGTATTGAAGTAGTTGCAGTAAACGACTTAACAG

DQ321688.1/28-895		ACGACGAAATGTTAGCTCATTATTAAAAATGACACTATGCAAGGTGCGCTTTAACGGAG
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917		ACGACGAAATGTTAGCTCATTATTAAAAATGACACTATGCAAGGTGCGCTTTAACGGAG
HM352973.1/5-872		ACGACGAAATGTTAGCTCATTATTAAAAATGACACTATGCAAGGTGCGCTTTAACGGAG
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868		ACGACGAAATGTTAGCTCATTATTAAAAATGACACTATGCAAGGTGCGCTTTAACGGAG

DQ321688.1/28-895		ACGTAGAAAGTAGTTGAAGGTGGTTCCGTGTAATGGTAAAGAAAGTTAAATCTTTTGAAG
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917		ACGTAGAAAGTAGTTGAAGGTGGTTCCGTGTAATGGTAAAGAAAGTTAAATCTTTTGAAG
HM352973.1/5-872		ACGTAGAAAGTAGTTGAAGGTGGTTCCGTGTAATGGTAAAGAAAGTTAAATCTTTTGAAG
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868		ACGTAGAAAGTAGTTGAAGGTGGTTCCGTGTAATGGTAAAGAAAGTTAAATCTTTTGAAG

DQ321688.1/28-895		AACCAGATGCAAGTAAATTACCATGGGGCGATTAGATATCGACGTAGTATTAGAATGTA
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917		AACCAGATGCAAGTAAATTACCATGGGGCGATTAGATATCGACGTAGTATTAGAATGTA
HM352973.1/5-872		AACCAGATGCAAGTAAATTACCATGGGGCGATTAGATATCGACGTAGTATTAGAATGTA
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868		AACCAGATGCAAGTAAATTACCATGGGGCGATTAGATATCGACGTAGTATTAGAATGTA

DQ321688.1/28-895		CTGGTTTCTATACAGAAAAAGAAAAAGCTGAAGCACACATTAAATGCAGGAGCTAAAAAG
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917		CTGGTTTCTATACAGAAAAAGAAAAAGCTGAAGCACACATTAAATGCAGGAGCTAAAAAG
HM352973.1/5-872		CTGGTTTCTATACAGAAAAAGAAAAAGCTGAAGCACACATTAAATGCAGGAGCTAAAAAG
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868		CTGGTTTCTATACAGAAAAAGAAAAAGCTGAAGCACACATTAAATGCAGGAGCTAAAAAG

DQ321688.1/28-895		TATTAATTTCTGCTCCAGCCAAAGGTGATGTTAAAACTATCGTATTTAACACAAACCACA
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917		TATTAATTTCTGCTCCAGCCAAAGGTGATGTTAAAACTATCGTATTTAACACAAACCACA
HM352973.1/5-872		TATTAATTTCTGCTCCAGCTAAAGGTGATGTTAAAACTATCGTATTTAACACAAACCACA
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868		TATTAATTTCTGCTCCAGCTAAAGGTGATGTTAAAACTATCGTATTTAACACAAACCACA

DQ321688.1/28-895		AAGACTTAGATGGATCTGAACACAGTAGTATCAGGTGCTTCTATGTACTACAACTCATTGG
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917		AAGACTTAGATGGATCTGAACACAGTAGTATCAGGTGCTTCTATGTACTACAACTCATTGG
HM352973.1/5-872		AAGATTTAGACGGATCTGAACACAGTAGTATCAGGTGCTTCTATGTACTACAACTCATTAG
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868		AAGATTTAGACGGATCTGAACACAGTAGTATCAGGTGCTTCTATGTACTACAACTCATTAG

DQ321688.1/28-895				CACCAGTTGCTAAAGTTTTAAATGACGAATTTGGTATTGGTATTGGTGAAGGTTTTAATGACAACTA
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917				CACCAGTTGCTAAAGTTTTAAATGACGAATTTGGTATTGGTGAAGGTTTTAATGACAACTA
HM352973.1/5-872				CACCAGTTGCTAAAGTTTTAAATGACGAATTTGGTATTGGTGAAGGTTTTAATGACAACTA
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868				*****
DQ321688.1/28-895				TCCATGCTTACACTGGTGACCAATGACTCAAGATGGTCCACACAGAAAAAGGTGACAAAC
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917				TCCATGCTTACACTGGTGACCAATGACTCAAGATGGTCCACACAGAAAAAGGTGACAAAC
HM352973.1/5-872				TTACGCTTTACACTGGCGACCAAAATGACTCAAGATGGTCCACACAAAAAAGGTGACAAAC
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868				TTACGCTTTACACTGGCGACCAAAATGACTCAAGATGGTCCACACAAAAAAGGTGACAAAC
				* ** *****
DQ321688.1/28-895				GTCGTGCAGTGCAGCAGCACAAAACATCGTACCTAACTCAACAGGTGCAGCTAAAGCTA
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917				GTCGTGCAGTGCAGCAGCACAAAACATCGTACCTAACTCAACAGGTGCAGCTAAAGCTA
HM352973.1/5-872				GTCGTGCAGTGCAGCAGCACAAAACATCGTACCTAACTCAACAGGTGCAGCTAAAGCTA
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868				GTCGTGCAGTGCAGCAGCACAAAACATCGTACCTAACTCAACAGGTGCAGCTAAAGCTA

DQ321688.1/28-895				TCGGTAAAGTAATTCCTGAAATCGATGGTAAATTAGATTGGTGGAGCACAAACGTGTACCAG
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917				TCGGTAAAGTAATTCCTGAAATCGATGGTAAATTAGATTGGTGGAGCACAAACGTGTACCAG
HM352973.1/5-872				TCGGTAAAGTAATTCCTGAAATCGATGGTAAATTAGATTGGTGGAGCACAAACGTGTACCAG
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868				TCGGTAAAGTAATTCCTGAAATCGATGGTAAATTAGATTGGTGGAGCACAAACGTGTACCAG

DQ321688.1/28-895				TAGTACTGGTTTCATTAACTGAAGTAACAGTTGTATTAGAAAAAGAAAGTAACAGTTGAAG
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917				TAGTACTGGTTTCATTAACTGAAGTAACAGTTGTATTAGAAAAAGAAAGTAACAGTTGAAG
HM352973.1/5-872				TAGTACTGGTTTCATTAACTGAAGTAACAGTTGTATTAGAAAAAGAAAGTAACAGTTGAAG
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868				TAGTACTGGTTTCATTAACTGAAGTAACAGTTGTATTAGAAAAAGAAAGTAACAGTTGAAG

DQ321688.1/28-895				ATGTTAACAAAGCAATGAAAAATGCTGCTGACGAATCATTCGGTTACACTGAAGATGAAA
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917				ATGTTAACAAAGCAATGAAAAATGCTGCTGACGAATCATTCGGTTACACTGAAGATGAAA
HM352973.1/5-872				ATGTTAACAAAGCAATGAAAAATGCTGCTGACGAATCATTCGGTTACACTGAAGATGAAA
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868				ATGTTAACAAAGCAATGAAAAATGCTGCTGACGAATCATTCGGTTACACTGAAGATGAAA

DQ321688.1/28-895				TCGTATCATCAGATATTGTTGGTATGAACTTTGGTTTCATTATTCGATGCAACTCAAACCTC
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917				TCGTATCATCAGATATTGTTGGTATGAACTTTGGTTTCATTATTCGATGCAACTCAAACCTC
HM352973.1/5-872				TCGTATCATCAGATATTGTTGGTATGAACTTTGGTTTCATTATTCGATGCAACTCAAACCTC
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868				TCGTATCATCAGATATTGTTGGTATGAACTTTGGTTTCATTATTCGATGCAACTCAAACCTC

DQ321688.1/28-895				GTGTCATCTCAGTTGGCGACAAACAATT
gb ACLP01000003.1 :34271-35278/50-917				GTGTCATCTCAGTTGGCGACAAACAATT
HM352973.1/5-872				GTGTCATCTCAGTTGGCGACAAACAATT
gi 641689277 emb LK023496.1 /1-868				GTGTCATCTCAGTTGGCGACAAACAATT

1.1.7 Staphylococcus haemolyticus

De to sekvensene som til slutt ble tatt med er helt like.

EU659920.1 gi 641689283 emb LK023499.1	-----ATTGAAGTAGTTGCAGTAAACGACTTAAACAGACG TTAGAAGAATTCAAGACGTAGAAGGTATTGAAGTAGTTGCAGTAAACGACTTAAACAGACG *****
EU659920.1 gi 641689283 emb LK023499.1	ACGAAATGTTAGCTCATTTATTAAAAATGACACTATGCAAGGTCGTTTACAGGAGAAG ACGAAATGTTAGCTCATTTATTAAAAATGACACTATGCAAGGTCGTTTACAGGAGAAG *****
EU659920.1 gi 641689283 emb LK023499.1	TTGAAGTTGTTGATGGTGTTTCCGCGTAAATGGTAAAGAAAGTTAAATCATACGAAGAAC TTGAAGTTGTTGATGGTGTTTCCGCGTAAATGGTAAAGAAAGTTAAATCATACGAAGAAC *****
EU659920.1 gi 641689283 emb LK023499.1	CAGATGCAAGCAAAATTACCTTGGGGCGATTAGATATCGACGTAGTATTAGAATGTACTG CAGATGCAAGCAAAATTACCTTGGGGCGATTAGATATCGACGTAGTATTAGAATGTACTG *****
EU659920.1 gi 641689283 emb LK023499.1	GTTTCTATACAGATAAAGAAAAAGCAGAAGCACACATCAATGCAGGTGCTAAAAAAGTAT GTTTCTATACAGATAAAGAAAAAGCAGAAGCACACATCAATGCAGGTGCTAAAAAAGTAT *****
EU659920.1 gi 641689283 emb LK023499.1	TAATCTCTGCACCAGCTCAAGGTGATGTAAAAACAATCGTATTCAACACTAACCCACAATG TAATCTCTGCACCAGCTAAAGGTGATGTAAAAACAATCGTATTCAACACTAACCCACAATG *****
EU659920.1 gi 641689283 emb LK023499.1	ACTTAGATGGTTCAGAAACAGTTGTTTCAGGTGCATCATGTACTACTAACTCATTAGCAC ACTTAGATGGTTCAGAAACAGTTGTTTCAGGTGCATCATGTACTACTAACTCATTAGCAC *****
EU659920.1 gi 641689283 emb LK023499.1	CAGTTGCTAAAGTATTAAAGTGATGAATTTGGTTTAGTTGAAGGTTTAAATGACAACATTTTC CAGTTGCTAAAGTATTAAAGTGATGAATTTGGTTTAGTTGAAGGTTTAAATGACAACATTTTC *****
EU659920.1 gi 641689283 emb LK023499.1	ACGCATACACTGGTGACCAAAATGACTCAAGACGGTCCACATAAAAAAGGTGACAAACGTC ACGCATACACTGGTGACCAAAATGACTCAAGACGGTCCACATAAAAAAGGTGACAAACGTC *****
EU659920.1 gi 641689283 emb LK023499.1	GTGCACGTGCAGCAGCTCAAAACATCGTACCTAACTCAACAGGTGCTGCAAAAGCAATCG GTGCACGTGCAGCAGCTCAAAACATCGTACCTAACTCAACAGGTGCTGCAAAAGCAATCG *****
EU659920.1 gi 641689283 emb LK023499.1	GTAAAGTTATTCTCGAAATCGATGGTAAATTAGACGGTGGTCTCAACGTGTACCAGTTG GTAAAGTTATTCTCGAAATCGATGGTAAATTAGACGGTGGTCTCAACGTGTACCAGTTG *****

EU659920.1	CTACAGGTTCACTTAAGTGACAGTTGTATTAGAAAAAGACGTTACTGTTGAAGACG
gi 641689283 emb LK023499.1	CTACAGGTTCACTTAAGTGACAGTTGTATTAGAAAAAGACGTTACTGTTGAAGACG

EU659920.1	TTAACAAAGCAATGAAAAACGCTTCAACGAATCATTTGGTTACACTGAAGACGAAATCG
gi 641689283 emb LK023499.1	TTAACAAAGCAATGAAAAACGCTTCAACGAATCATTTGGTTACACTGAAGACGAAATCG

EU659920.1	TTTCTTCTGACGTAGTTGGCATGACATTACGGTTTCATTATTCGATGCTACTCAAACTC---
gi 641689283 emb LK023499.1	TTTCTTCTGACGTAGTTGGCATGACATTACGGTTTCATTATTCGATGCTACTCAAACTCGTG

1.2 VEDLEGG 2 – PRIMERE OG PROBE FOR GAP

Alignment av stafylokokker (konsensussekvenser) med avmerking av primerpar og TaqMan-probe.

CLUSTAL O(1.2.1) multiple sequence alignment
S. schleiferi: 913000289:1981730-1982737 Staphylococcus schleiferi strain 1360-13, complete genome
S. hominis: ACLP01000003.1|:34271-35278/50-917
S. aureus: NTCT 8325 88193823:777185-778195
S. epidermidis: JQ728491
S. capitis: AYP1020, nummer: NZ_CP007601

SCHLEIFERIsnuddcomplete/78-890./2-812	-ATTGAGGTAGTAGCTGTAACGAGTTTAAACAGACGAGGATATGCTTGCACATTTATTGAA	59
LUGDISgi 85062713 gb DQ321693.1 /57-870	-ATCGAGGTAGTAGCAGTAAACGACTTAACAGATGATGATATGTTAGCGCATTTATTAAA	59
HOMINISgb ACLP01000003.1 :34271-35278/79-889	ATTGAAGTAGTTGC-AGTAAACGACTTAACAGACGACGAAATGTTAGCTCATTTATTAAA	59
HAEMOLYTICUSgi 641689283 emb LK023499.1 /27-837	ATTGAAGTAGTTGC-AGTAAACGACTTAACAGACGACGAAATGTTAGCTCATTTATTAAA	59
AUREUS/79-892	CTTGAAGTTGTA-GCAGTAAACGACTTAACAGATGACGACATGTTAGCGCATTTATTAAA	59
EPIDERMIDISgi 388330698 gb JQ728491.1 /50-863	CTTGAAGTAGTT-GCAGTTAAGGACTTAACAGATGACGATATGTTAGCTCATTTATTAAA	59
CAPITIS/12-825	CTTGAAGTAGTA-GCAGTTAAGGACTTAACAGATGACGAAATGTTAGCTCATTTATTAAA	59
	* ** ** ***** ** ** ** **	
SCHLEIFERIsnuddcomplete/78-890./2-812	ATATGACACAATGCAAGGTCGTTTACTGAAGAAGTGAAGTAAATTGATGGTGGTTCCG	119
LUGDISgi 85062713 gb DQ321693.1 /57-870	ATATGACACTATGCAAGTCGCTTCACTAGCGAAGTTGAAGTTGTTGATGGTGGTTCCG	119
HOMINISgb ACLP01000003.1 :34271-35278/79-889	ATATGACACTATGCAAGTCGCTTCAACGGAGAAGTGAAGTAGTTGAAGGTGGTTCCG	119
HAEMOLYTICUSgi 641689283 emb LK023499.1 /27-837	ATATGACACTATGCAAGTCGTTTCAACAGGAGAGTGAAGTTGTTGATGGTGGTTCCG	119
AUREUS/79-892	ATATGACACTATGCAAGTCGTTTCAACAGGTTGAAGTAGTTGATGGTGGTTCCG	119
EPIDERMIDISgi 388330698 gb JQ728491.1 /50-863	ATACGACTATGCAAGTCGTTTCACTGGAAGTTGAAGTTATCGATGGTGGATCCG	119
CAPITIS/12-825	ATACGACACTATGCAAGTCGTTCACTGGAGAAGTTGAAGTTATCGATGGTGGATCCG	119
	*** ** ** ***** ** * ** ** ** * ** ***** **	

SCHLEIFERIsnuddcomplete/78-890./2-812	479
LUGDISgi 85062713 gb DQ321693.1 /57-870	479
HOMINISgb ACLP01000003.1 :34271-35278/79-889	479
HAEMOLYTIcUSgi 641689283 emb LK023499.1 /27-837	479
AUREUS/79-892	479
EPIDERMIDISgi 388330698 gb JQ728491.1 /50-863	479
CAPITIS/12-825	479
**** * ** ***** ** ** ** ** ** ** ** **** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** * **** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** *	
SCHLEIFERIsnuddcomplete/78-890./2-812	539
LUGDISgi 85062713 gb DQ321693.1 /57-870	539
HOMINISgb ACLP01000003.1 :34271-35278/79-889	539
HAEMOLYTIcUSgi 641689283 emb LK023499.1 /27-837	539
AUREUS/79-892	539
EPIDERMIDISgi 388330698 gb JQ728491.1 /50-863	539
CAPITIS/12-825	539
**** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** * **** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** * **** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** *	
SCHLEIFERIsnuddcomplete/78-890./2-812	599
LUGDISgi 85062713 gb DQ321693.1 /57-870	599
HOMINISgb ACLP01000003.1 :34271-35278/79-889	599
HAEMOLYTIcUSgi 641689283 emb LK023499.1 /27-837	599
AUREUS/79-892	599
EPIDERMIDISgi 388330698 gb JQ728491.1 /50-863	599
CAPITIS/12-825	599
**** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** * **** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** * **** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** *	
SCHLEIFERIsnuddcomplete/78-890./2-812	659
LUGDISgi 85062713 gb DQ321693.1 /57-870	659
HOMINISgb ACLP01000003.1 :34271-35278/79-889	659
HAEMOLYTIcUSgi 641689283 emb LK023499.1 /27-837	659
AUREUS/79-892	659
EPIDERMIDISgi 388330698 gb JQ728491.1 /50-863	659
CAPITIS/12-825	659
**** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** * **** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** * **** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** *	
SCHLEIFERIsnuddcomplete/78-890./2-812	716
LUGDISgi 85062713 gb DQ321693.1 /57-870	719
HOMINISgb ACLP01000003.1 :34271-35278/79-889	716
HAEMOLYTIcUSgi 641689283 emb LK023499.1 /27-837	716
AUREUS/79-892	719
EPIDERMIDISgi 388330698 gb JQ728491.1 /50-863	719
CAPITIS/12-825	719
**** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** * **** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** * **** * ** ***** ** ** ** * ** * ** * ** * ** *	

gi 116710879 gb DQ991024.1 /1-421 EF670448snudd/30-450	AGCTATTTTCAGCAGCAGATGAAGAAATCGGAGCTACATTTCTGAAGCAATGGATAAAGT AGCTATTTTCAGCAGCAGATGAAGAAATCGGTCGCTACATTTCTGAAGCAATGGATAAAGT AGCTATTTTCAGCAGCAGATGAAGAAATCGGTCGCTACATTTCTGAAGCAATGGATAAAGT AGCTATTTTCAGCAGCAGATGAAGAAATCGGTCGCTACATTTCTGAAGCAATGGATAAAGT AGCTATTTTCAGCAGCAGATGAAGAAATCGGTCGCTACATTTCTGAAGCAATGGATAAAGT AGCTATTTTCAGCAGCAGATGAAGAAATCGGTCGCTACATTTCTGAAGCAATGGATAAAGT AGCTATTTTCAGCAGCAGATGAAGAAATCGGTCGCTACATTTCTGAAGCAATGGATAAAGT *****
gi 116710877 gb DQ991023.1 /1-421 gi 148277749 gb EF173658.1 /52-472 gi 199581304 gb EU659874.1 /46-466	AGCTATTTTCAGCAGCAGATGAAGAAATCGGTCGCTACATTTCTGAAGCAATGGATAAAGT *****
gi 116710879 gb DQ991024.1 /1-421 EF670448snudd/30-450	AGGTAAACGATGGCGTTATCACAATTTGAAGAATCAAATGGATTTAATACAGAAATTAGAAGT AGGTAAACGATGGCGTTATCACAATTTGAAGAATCAAATGGGTTTAAACAGAAATTAGAAGT AGGTAAACGATGGCGTTATCACAATTTGAAGAATCAAATGGGTTTAAACAGAAATTAGAAGT AGGTAAACGATGGCGTTATCACAATTTGAAGAATCAAATGGGTTTAAACAGAAATTAGAAGT AGGTAAACGATGGCGTTATCACAATTTGAAGAATCAAATGGGTTTAAACAGAAATTAGAAGT AGGTAAACGATGGCGTTATCACAATTTGAAGAATCAAATGGGTTTAAACAGAAATTAGAAGT AGGTAAACGATGGCGTTATCACAATTTGAAGAATCAAATGGGTTTAAACAGAAATTAGAAGT *****
gi 116710877 gb DQ991023.1 /1-421 gi 148277749 gb EF173658.1 /52-472 gi 199581304 gb EU659874.1 /46-466	AGGTAAACGATGGCGTTATCACAATTTGAAGAATCAAATGGGTTTAAACAGAAATTAGAAGT *****
gi 116710879 gb DQ991024.1 /1-421 EF670448snudd/30-450	AGTTGAAGGAATGCAATTTGATCGCGGTTATCAATCACCATATATGGTAACTGACTCAGA AGTTGAAGGAATGCAATTTGATCGCGGTTATCAATCACCATATATGGTAACTGACTCAGA AGTTGAAGGAATGCAATTTGATCGCGGTTATCAATCACCATATATGGTAACTGACTCAGA AGTTGAAGGAATGCAATTTGATCGCGGTTATCAATCACCATATATGGTAACTGACTCAGA AGTTGAAGGAATGCAATTTGATCGCGGTTATCAATCACCATATATGGTAACTGACTCAGA AGTTGAAGGAATGCAATTTGATCGCGGTTATCAATCACCATATATGGTAACTGACTCAGA AGTTGAAGGAATGCAATTTGATCGCGGTTATCAATCACCATATATGGTAACTGACTCAGA AGTTGAAGGAATGCAATTTGATCGCGGTTATCAATCACCATATATGGTAACTGACTCAGA *****
gi 116710877 gb DQ991023.1 /1-421 gi 148277749 gb EF173658.1 /52-472 gi 199581304 gb EU659874.1 /46-466	AGTTGAAGGAATGCAATTTGATCGCGGTTATCAATCACCATATATGGTAACTGACTCAGA *****
gi 116710879 gb DQ991024.1 /1-421 EF670448snudd/30-450	TAAATGATAGCTGAATTAGAACGTCCATATATATTAGTAACGGATAAGAAAAATTTTCATC TAAATGATAGCTGAATTAGAACGTCCATATATATTAGTAACGGATAAGAAAAATTTTCATC TAAATGATAGCTGAATTAGAACGTCCATATATATTAGTAACGGATAAGAAAAATTTTCATC TAAATGATAGCTGAATTAGAACGTCCATATATATTAGTAACGGATAAGAAAAATTTTCATC TAAATGATAGCTGAATTAGAACGTCCATATATATTAGTAACGGATAAGAAAAATTTTCATC TAAATGATAGCTGAATTAGAACGTCCATATATATTAGTAACGGATAAGAAAAATTTTCATC TAAATGATAGCTGAATTAGAACGTCCATATATATTAGTAACGGATAAGAAAAATTTTCATC TAAATGATAGCTGAATTAGAACGTCCATATATATTAGTAACGGATAAGAAAAATTTTCATC TAAATGATAGCTGAATTAGAACGTCCATATATATTAGTAACGGATAAGAAAAATTTTCATC *****
gi 116710877 gb DQ991023.1 /1-421 gi 148277749 gb EF173658.1 /52-472 gi 199581304 gb EU659874.1 /46-466	TAAATGATAGCTGAATTAGAACGTCCATATATATTAGTAACGGATAAGAAAAATTTTCATC *****
gi 116710879 gb DQ991024.1 /1-421 EF670448snudd/30-450	ATTCCAAGATATCTTCCATTATTAGAACAAGTTGTGCAGTCTAGTCGACCTATTTTAAT ATTCCAAGATATCTTCCATTATTAGAACAAGTTGTGCAGTCTAGTCGACCTATTTTAAT ATTCCAAGATATCTTCCATTATTAGAACAAGTTGTGCAGTCTAGTCGACCTATTTTAAT ATTCCAAGATATCTTCCATTATTAGAACAAGTTGTGCAGTCTAGTCGACCTATTTTAAT ATTCCAAGATATCTTCCATTATTAGAACAAGTTGTGCAGTCTAGTCGACCTATTTTAAT ATTCCAAGATATCTTCCATTATTAGAACAAGTTGTGCAGTCTAGTCGACCTATTTTAAT ATTCCAAGATATCTTCCATTATTAGAACAAGTTGTGCAGTCTAGTCGACCTATTTTAAT ATTCCAAGATATCTTCCATTATTAGAACAAGTTGTGCAGTCTAGTCGACCTATTTTAAT ATTCCAAGATATCTTCCATTATTAGAACAAGTTGTGCAGTCTAGTCGACCTATTTTAAT *****
gi 116710877 gb DQ991023.1 /1-421 gi 148277749 gb EF173658.1 /52-472 gi 199581304 gb EU659874.1 /46-466	ATTCCAAGATATCTTCCATTATTAGAACAAGTTGTGCAGTCTAGTCGACCTATTTTAAT *****

gi|116710879|gb|DQ991024.1|/1-421 T
EF670448snudd/30-450 T
gi|4103901|gb|AF029245.1|/52-472 T
gi|535340|gb|U13618.1|SEU13618/765-1185 T
EF670446snudd/48-468 T
gi|116710877|gb|DQ991023.1|/1-421 T
gi|148277749|gb|EF173658.1|/52-472 T
gi|199581304|gb|EU659874.1|/46-466 T
*

1.3.2 Staphylococcus hominis.

gi|199581316|gb|EU659880.1|/48-493
reverseEF670447/1-446
gi|4205750|gb|AF053572.1|/54-499
revers.VCU122.418618723:66933-68552/323-768
GTGGTGCAATCCAGTTGGTTTACGTGAAGGCATTGATAAAGCAGTCAGAGTAGCAGTTG
GTGGTGCAATCCAGTTGGTTTACGTGAAGGCATTGATAAAGCAGTCAGAGTAGCAGTTG
GTGGTGCAATCCAGTTGGTTTACGTGAAGGCATTGATAAAGCAGTCAGAGTAGCAGTTG

AAGCATTACATGATATTTCTCAAAAGTTGAAAAATAAAAAATGAAATCGCACAAAGTAGGTG
AAGCATTACATGACATTTCTCAAAAGTTGAAAAATAAAAAATGAAATCGCACAAAGTAGGTG
AAGCATTACATGACATTTCTCAAAAGTTGAAAAATAAAAAATGAAATCGCACAAAGTAGGTG
AAGCATTACATGACATTTCTCAAAAGTTGAAAAATAAAAAATGAAATCGCACAAAGTAGGTG

CAATTTCTGCTGCTGATGAAGAAATTGGTAAATATATTTCTGAAGCAATGGACAAAGTAG
CAATTTCTGCTGCTGATGAAGAAATTGGTAAATATATTTCTGAAGCAATGGTAAAGTAG
CAATTTCTGCTGCTGATGAAGAAATTGGTAAATATATTTCTGAAGCAATGGTAAAGTAG
CAATTTCTGCTGCTGATGAAGAAATTGGTAAATATATTTCTGAAGCAATGGTAAAGTAG

GTAATGACGGTGTTATTACAATTGAAGAATCTAAATGGACTTGATACGGAACCTAGAAAGTTG
GTAATGACGGTGTTATTACAATTGAAGAATCTAAATGGACTTGATACGGAATTAGAAAGTTG
GTAATGACGGTGTTATTACAATTGAAGAATCTAAATGGACTTGATACGGAATTAGAAAGTTG
GTAATGACGGTGTTATTACAATTGAAGAATCTAAATGGACTTGATACGGAATTAGAAAGTTG

TAGAAGGTATGCAATTTGATAGAGGTTATCAATCTCCATATATGGTAACAGATTCCTGATA
TAGAAGGTATGCAATTTGATAGAGGTTATCAATCTCCATATATGGTAACAGATTCCTGATA
TAGAAGGTATGCAATTTGATAGAGGTTATCAATCTCCATATATGGTAACAGATTCCTGATA
TAGAAGGTATGCAATTTGATAGAGGTTATCAATCTCCATATATGGTAACAGATTCCTGATA

AAATGATTGCGGAATTAGAAAGCCATATATTTAGTTACAGATAAGAAAAATTTTCATCAT
AAATGATTGCGGAATTAGAAAGCCATATATTTAGTTACAGATAAGAAAAATTTTCATCAT
AAATGATTGCGGAATTAGAAAGCCATATATTTAGTTACAGATAAGAAAAATTTTCATCAT
AAATGATTGCGGAATTAGAAAGCCATATATTTAGTTACAGATAAGAAAAATTTTCATCAT

gi|199581316|gb|EU659880.1||/48-493

reversEF67047/1-446

gi|4205750|gb|AF053572.1||/54-499

revers.VCU122.418618723:66933-68552/323-768

TCCAAGATATACTACCTTTATTAGAACAAAGTTGTTCAATCAAGTCGACCAATCTTTAATTG
TCCAAGATATATTACCTTTATTAGAACAAAGTTGTTCAATCAAGCCGACCAATCTTTAATCG
TCCAAGATATATTACCTTTATTAGAACAAAGTTGTTCAATCAAGCCGACCAATCTTTAATCG
TCCAAGATATATTACCTTTATTAGAACAAAGTTGTTCAATCAAGCCGACCAATCTTTAATCG
***** * ***** *

gi|199581316|gb|EU659880.1||/48-493

reversEF67047/1-446

gi|4205750|gb|AF053572.1||/54-499

revers.VCU122.418618723:66933-68552/323-768

TGGCAGATGAAGTCGAAGGTGATGCA
TGGCAGATGAAGTTGAAGGTGATGCA
TGGCAGATGAAGTTGAAGGTGATGCA
TGGCAGATGAAGTTGAAGGTGATGCA

1.3.3 Staphylococcus haemolyticus

revers815843407:18922-205411HT3/305-823

gi|4100055|gb|U92809.1|SHU92809/36-554

gi|199581312|gb|EU659878.1||/1-519

gi|68445725:1010554-1012173/305-823

GATTGAAGAACGTAACAAGTGGTGCTAACCCAGTAGGATTACGTGAGGGTATTGATAAAG
GATTGAAGAACGTAACAAGTGGTGCTAACCCAGTAGGATTACGTGAGGGTATTGATAAAG
GATTGAAGAACGTAACAAGTGGTGCTAACCCAGTAGGATTACGTGAGGGTATTGATAAAG
GATTGAAGAACGTAACAAGTGGTGCTAACCCAGTAGGATTACGTGAGGGTATTGATAAAG
***** * ***** *

revers815843407:18922-205411HT3/305-823

gi|4100055|gb|U92809.1|SHU92809/36-554

gi|199581312|gb|EU659878.1||/1-519

gi|68445725:1010554-1012173/305-823

CAGTAAGAGTAGCTGTACAAGCTCTACAGCATATTCTCAAAAAGTTGAAAAATAAAAATG
CAGTAAGAGTAGCTGTACAAGCTCTACAGCATATTCTCAAAAAGTTGAAAAATAAAAATG
CAGTAAGAGTAGCTGTACAAGCTCTACAGCATATTCTCAAAAAGTTGAAAAATAAAAATG
CAGTAAGAGTAGCTGTACAAGCTCTACAGCATATTCTCAAAAAGTTGAAAAATAAAAATG
***** * ***** *

revers815843407:18922-205411HT3/305-823

gi|4100055|gb|U92809.1|SHU92809/36-554

gi|199581312|gb|EU659878.1||/1-519

gi|68445725:1010554-1012173/305-823

AAATCGCACAAGTAGGTGCAATTTCTGCAGCAGATGAAGAAATTTGGTAAATACATTCTCG
AAATCGCACAAGTAGGTGCAATTTCTGCAGCAGATGAAGAAATTTGGTAAATACATTCTCG
AAATCGCACAAGTAGGTGCAATTTCTGCAGCAGATGAAGAAATTTGGTAAATACATTCTCG
AAATCGCACAAGTAGGTGCAATTTCTGCAGCAGATGAAGAAATTTGGTAAATACATTCTCG
***** * ***** *

revers815843407:18922-205411HT3/305-823

gi|4100055|gb|U92809.1|SHU92809/36-554

gi|199581312|gb|EU659878.1||/1-519

gi|68445725:1010554-1012173/305-823

AAGCAATGGATAAAGTTGGTAATGATGGTGTATTACCATTGAAGAAATCAAAATGGACTAG
AAGCAATGGATAAAGTTGGTAATGATGGTGTATTACCATTGAAGAAATCAAAATGGACTAG
AAGCAATGGATAAAGTTGGTAATGATGGTGTATTACCATTGAAGAAATCAAAATGGACTAG
AAGCAATGGATAAAGTTGGTAATGATGGTGTATTACCATTGAAGAAATCAAAATGGACTAG
***** * ***** *

revers815843407:18922-205411HT3/305-823

gi|4100055|gb|U92809.1|SHU92809/36-554

gi|199581312|gb|EU659878.1||/1-519

gi|68445725:1010554-1012173/305-823

ATACAGAAATTAGAAGTTGTTGAAGGTATGCAATTTGATAGAGGGTATCAATCACCATACA
ATACAGAAATTAGAAGTTGTTGAAGGTATGCAATTTGATAGAGGGTATCAATCACCATACA
ATACAGAAATTAGAAGTTGTTGAAGGTATGCAATTTGATAGAGGGTATCAATCACCATACA
ATACAGAAATTAGAAGTTGTTGAAGGTATGCAATTTGATAGAGGGTATCAATCACCATACA
***** * ***** *

revers815843407:18922-205411HT3/305-823		TGTTACAGATTCCAGATAAAATGATTGCTGAGTTAGAAAGACCATAATATTTAGTAACAG
gi 4100055 gb U92809.1 SHU92809/36-554		TGGTTACAGATTCCAGATAAAATGATTGCTGAGTTAGAAAGACCATAATTTTAGTAACAG
gi 199581312 gb EU659878.1 /1-519		TGGTTACAGATTCCAGATAAAATGATTGCTGAGTTAGAAAGACCATAATTTTAGTAACAG
gi 68445725:1010554-1012173/305-823		*****
revers815843407:18922-205411HT3/305-823		ATAAAAAATCTCTTCATCCAGATATCTTACCTTTATTAGAACAAAGTTGTTCAATCTA
gi 4100055 gb U92809.1 SHU92809/36-554		ATAAAAAATCTCTTCATCCAGATATCTTACCTTTATTAGAACAAAGTTGTTCAATCTA
gi 199581312 gb EU659878.1 /1-519		ATAAAAAATCTCTTCATCCAGATATCTTACCTTTATTAGAACAAAGTTGTTCAATCTA
gi 68445725:1010554-1012173/305-823		*****
revers815843407:18922-205411HT3/305-823		GTGTCCTCAATCTTAATTGTAGCAGACGAAAGTTGAAGGAGACGCTTTAACAAAATATCGTAT
gi 4100055 gb U92809.1 SHU92809/36-554		GTGTCCTCAATCTTAATTGTAGCAGACGAAAGTTGAAGGAGACGCTTTAACAAAATATCGTAT
gi 199581312 gb EU659878.1 /1-519		GTGTCCTCAATCTTAATTGTAGCAGACGAAAGTTGAAGGAGACGCTTTAACAAAATATCGTAT
gi 68445725:1010554-1012173/305-823		*****
revers815843407:18922-205411HT3/305-823		TAAACCGTATGCGTGAACATTTACTGCAGTTGCAAGTAA
gi 4100055 gb U92809.1 SHU92809/36-554		TAAACCGTATGCGTGAACATTTACTGCAGTTGCAAGTAA
gi 199581312 gb EU659878.1 /1-519		TAAACCGTATGCGTGAACATTTACTGCAGTTGCAAGTAA
gi 68445725:1010554-1012173/305-823		*****
1.3.4 Staphylococcus capitis		
gi 4205780 gb AF053587.1		TGCAACAGTTTTAGTCTCAATCAATGATTCGAAGAGGCCTTAAGAACGTAAACAAAGTGGTGC
gi 199581296 gb EU659870.1		-----AGTTTTAGCGCAATCAATGATTCGAAGAGGCTTAAAAACGTAAACAAAGTGCGCG
gi 4558701 gb AF036322.1		TGCAACAGTTTTAGCGCAATCAATGATTCGAAGAGGCTTAAAAACGTAAACAAAGTGCGCG

gi 4205780 gb AF053587.1		GAACCCAGTTGGTTTGAGACAAGGTATTGATAAAGCCGTCAAAGTAGCTGTAGAAAGCATT
gi 199581296 gb EU659870.1		GAATCCAGTTGGTTTAAGACAAGGTATTGATAAAGCCGTTAAATAGCTGTAGAAGCTTT
gi 4558701 gb AF036322.1		GAATCCAGTTGGTTTAAGACAAGGTATTGATAAAGCCGTTAAATAGCTGTAGAAGCTTT
		*** *****
gi 4205780 gb AF053587.1		ACATGACATTTCTCAAAAAGTTGAAAACAAAAATGAAATTGCACAAGTAGGTGCTATTTTC
gi 199581296 gb EU659870.1		ACATGATATCTCTCAAAAAGTTGAAAAATAAAAATGAAATTGCGCAAGTAGGTGCTATTTTC
gi 4558701 gb AF036322.1		ACATGATATCTCTCAAAAAGTTGAAAAATAAAAATGAAATTGCGCAAGTAGGTGCTATTTTC

gi 4205780 gb AF053587.1		AGCTGCTGATGAGGAAATCGGTCAATACATTTCTGAGCGGATGGATAAAGTTGGTAAACGA
gi 199581296 gb EU659870.1		AGCTGCTGACGAAGAAATGGCCAATACATCTCTGAAGCAATGGATAAAGTCGGTAATGA
gi 4558701 gb AF036322.1		AGCTGCTGACGAAGAAATGGCCAATACATCTCTGAAGCAATGGATAAAGTCGGTAATGA

gi 4205780 gb AF053587.1		CGGGTCATTACTATTGAAGAAATCAAAATGGTTTCAACACTGAACTTGAAGTCGTCGAAGG
gi 199581296 gb EU659870.1		TGGGTTATTACTATTGAAGAAATCAACGGTTTCAATACAGAACTTGAAGTCGTTGAAGG
gi 4558701 gb AF036322.1		TGGGTTATTACTATTGAAGAAATCAACGGTTTCAATACAGAACTTGAAGTCGTTGAAGG

gi 4205780 gb AF053587.1	TATGCAATT	CGATCGTGGTTATCAATCTCCATATATGGTAACTGATTCAGATAAAAATGAT
gi 199581296 gb EU659870.1	TATGCAGTT	TGATCGTGGTTATCAATCACCTTATATGGTAACTGATTCAGATAAAAATGAT
gi 4558701 gb AF036322.1	TATGCAGTT	TGATCGTGGTTATCAATCACCTTATATGGTAACTGATTCAGATAAAAATGAT
	*****	*****
gi 4205780 gb AF053587.1	TGCCGAAC	TGGAACGTCCATATATCTTGTACAGATAAAAAAATCTCTTCATCCAAAGA
gi 199581296 gb EU659870.1	TGCTGAAC	TGGAACGCCATATATCTCGTTACAGATAAGAAAAATTCATCATTCCAAGA
gi 4558701 gb AF036322.1	TGCTGAAC	TGGAACGCCATATATCTCGTTACAGATAAGAAAAATTCATCATTCCAAGA
	***	*****
gi 4205780 gb AF053587.1	TATTTACCT	TATTAGAACAAAGTCGTTCAATCTAGTCGACCAATTTTAAATTGTGGCTGA
gi 199581296 gb EU659870.1	TATTTACCT	TATTAGAACAAAGTAGTTCAATCTAGTCGACCAATTTTAAATTGTGGCTGA
gi 4558701 gb AF036322.1	TATTTACCT	TATTAGAACAAAGTAGTTCAATCTAGTCGACCAATTTTAAATTGTGGCTGA
	***	*****
gi 4205780 gb AF053587.1	TGAAGTAGA	AGGTGACGCTTTAACTAAATTTGTTTAAACCGTATGCGTGGGTACATTTAC
gi 199581296 gb EU659870.1	TGAGGTAGA	AGGCGACGCTCTAACTAAATTTGTTTAAACCGTATGCGTGGGTACATTTAC
gi 4558701 gb AF036322.1	TGAGGTAGA	AGGCGACGCTCTAACTAAATTTGTTTAAACCGTATGCGTGGGTACATTTAC
	***	*****
gi 4205780 gb AF053587.1	TGCTGTTG	CTGTGTAA
gi 199581296 gb EU659870.1	AGCTGTTG	CTGTGTAA
gi 4558701 gb AF036322.1	AGCTGTTG	CTGTGTAA -
	*****	*

1.3.5 Staphylococcus aureus

reversUSA300	TGCAACAGTATTAGCTCAAGCAATGATTCAGAAGGCTTGAAAAATGTTACAAGTGGTGC
gi 4558745 gb AF060189.1 /1-554	TGCAACAGTATTAGCTCAAGCAATGATTCAGAAGGCTTGAAAAATGTTACAAGTGGTGC
gi MRS A252 /270-823	TGCAACAGTATTAGCTCAAGCAATGATTCAGAAGGCTTGAAAAATGTTACAAGTGGTGC
gi 4558749 gb AF060191.1 /1-554	TGCAACAGTATTAGCTCAAGCAATGATTCAGAAGGCTTGAAAAATGTTACAAGTGGTGC

reversUSA300	GAACCCAGTTGTTTACGACAAGGTATCGACAAAGCAGTTAAAGTTGCTGTTGAAGCGTT
gi 4558745 gb AF060189.1 /1-554	GAACCCAGTTGTTTACGACAAGGTATCGACAAAGCAGTTAAAGTTGCTGTTGAAGCGTT
gi MRS A252 /270-823	AAACCCAGTTGTTTACGACAAGGTATCGACAAAGCAGTTAAAGTTGCTGTTGAAGCGTT
gi 4558749 gb AF060191.1 /1-554	GAACCCAGTTGTTTACGACAAGGTATCGACAAAGCAGTTAAAGTTGCTGTTGAAGCGTT

reversUSA300	ACATGAAAATCTCAAAAAGTTGAAAATGAAAATGCGCAAGTAGGTGCGATTTC
gi 4558745 gb AF060189.1 /1-554	ACATGAAAATCTCAAAAAGTTGAAAATGAAAATGCGCAAGTAGGTGCGATTTC
gi MRS A252 /270-823	ACATGAAAATCTCAAAAAGTTGAAAATGAAAATGCGCAAGTAGGTGCGATTTC
gi 4558749 gb AF060191.1 /1-554	ACATGAAAATCTCAAAAAGTTGAAAATGAAAATGCGCAAGTAGGTGCGATTTC

reversUSA300		AGCAGCAGATGAAGAAATTGGACGTTATATTTCTGAAGCTATGGAAAAAGTAGGTAACGA
gi 4558745 gb AF060189.1 /1-554		AGCAGCAGATGAAGAAATTGGACGTTATATTTCTGAAGCTATGGAAAAAGTAGGTAACGA
gi RSA252/270-823		AGCAGCAGATGAAGAAATTGGACGCTATATTTTCAGAAAGCTATGGAAAAAGTAGGTAACGA
gi 4558749 gb AF060191.1 /1-554		AGCAGCAGATGAAGAAATTGGACGCTATATTTTCAGAAAGCTATGGAAAAAGTAGGTAACGA

reversUSA300		TGGTGTCAATTACAATTGAAGAAATCAAAATGGACTAAACACTGAACTAGAAGTGGTTGAAGG
gi 4558745 gb AF060189.1 /1-554		TGGTGTCAATTACAATTGAAGAAATCAAAATGGACTAAACACTGAACTAGAAGTGGTTGAAGG
gi RSA252/270-823		TGGTGTCAATTACAATTGAAGAAATCAAAATGGCTTGAACACTGAAACTTGAAGTGGTTGAAGG
gi 4558749 gb AF060191.1 /1-554		TGGTGTCAATTACAATTGAAGAAATCAAAATGGCTTGAACACTGAAACTTGAAGTGGTTGAAGG

reversUSA300		TATGCAATTTGATCGTGGTTATCAATCACCGTATATGGTTACTGATTCAGATAAAATGGT
gi 4558745 gb AF060189.1 /1-554		TATGCAATTTGATCGTGGTTATCAATCACCGTATATGGTTACTGATTCAGATAAAATGGT
gi RSA252/270-823		TATGCAATTTGATCGTGGTTATCAATCACCGTATATGGTTACTGATTCAGATAAAATGGT
gi 4558749 gb AF060191.1 /1-554		TATGCAATTTGATCGTGGTTATCAATCACCGTATATGGTTACTGATTCAGATAAAATGGT

reversUSA300		TGCTGAATTAGAAGGCCCATACATTTTAGTAACAGATAAGAAAAATCTCGTCTTTTCCAAGA
gi 4558745 gb AF060189.1 /1-554		TGCTGAATTAGAAGGCCCATACATTTTAGTAACAGATAAGAAAAATCTCGTCTTTTCCAAGA
gi RSA252/270-823		TGCTGAATTAGAAGGCCCATATATTTTAGTAACAGATAAGAAAAATCTCTCTTTTCCAAGA
gi 4558749 gb AF060191.1 /1-554		TGCTGAATTAGAAGGCCCATATATTTTAGTAACAGATAAGAAAAATCTCTCTTTTCCAAGA

reversUSA300		TATCTTACCTTTATTAGAACAAGTGGTTCAATCTAATCGTCCAATCTTAATTGTAGCTGA
gi 4558745 gb AF060189.1 /1-554		TATCTTACCTTTATTAGAACAAGTGGTTCAATCTAATCGTCCAATCTTAATTGTAGCTGA
gi RSA252/270-823		TATCTTACCTTTATTAGAACAAGTGGTTCAATCTAATCGTCCAATCTTAATTGTAGCTGA
gi 4558749 gb AF060191.1 /1-554		TATCTTACCTTTATTAGAACAAGTGGTTCAATCTAATCGTCCAATCTTAATTGTAGCTGA

reversUSA300		TGAAGTTGAAGGCGATGCATTACAAATATCGTGTAAACCGTATGCGTGGCACATTTAC
gi 4558745 gb AF060189.1 /1-554		TGAAGTTGAAGGCGATGCATTACAAATATCGTGTAAACCGTATGCGTGGCACATTTAC
gi RSA252/270-823		TGAAGTTGAAGGCGATGCATTACAAATATCGTGTAAACCGTATGCGTGGCACATTTAC
gi 4558749 gb AF060191.1 /1-554		TGAAGTTGAAGGCGATGCATTACAAATATCGTGTAAACCGTATGCGTGGTGCATTTTAC

reversUSA300		AGCTGTTGCAGTAA
gi 4558745 gb AF060189.1 /1-554		AGCTGTTGCAGTAA
gi RSA252/270-823		AGCTGTTGCAGTAA
gi 4558749 gb AF060191.1 /1-554		AGCCGTTCTGTAA
		*** ** * *

1.3.6 Staphylococcus schleiferi

gi 4104215 gb AF033622.1 /7-553	TGTTTACGACAAGCTATGATTTCAAGAAGACTTAAAAATGTAACAAGTGGCGCAAAACCC
gi 199581334 gb EU659889.1 /1-547	TGTTTACGACAAGCTATGATTTCAAGAAGACTTAAAAATGTAACAAGTGGCGCAAAACCC
gi 4205776 gb AF053585.1 /7-553	TGTTTACGACAAGCTATGATTTCAAGAAGACTTAAAAATGTAACAAGTGGCGCAAAATCC
gi strain1360-13/276-822	TGTTTACGACAAGCTATGATTTCAAGAAGACTTAAAAATGTAACAAGTGGCGCAAAACCC *** *****
gi 4104215 gb AF033622.1 /7-553	AGTAGGTATCCGTCAAGGTATTGATAAAGCGGTAGCTGAGCGATTGAAGCACATTCATAA
gi 199581334 gb EU659889.1 /1-547	AGTAGGTATCCGTCAAGGTATTGATAAAGCGGTAGCTGAGCGATTGAAGCACATTCATAA
gi 4205776 gb AF053585.1 /7-553	AGTAGGTATCCGTCAAGGTATTGATAAAGCGGTAGCTGAGCGATTGAAGCACATTCATAA
gi strain1360-13/276-822	AGTAGGTATCCGTCAAGGTATTGATAAAGCGGTAGCTGAGCGATTGAAGCACATTCATAA *****
gi 4104215 gb AF033622.1 /7-553	TATTTCTCAAAAAGTAGAAAAATAAAGAAGAAATCGCGCAAGTAGGTGCTATTTCTGCAGC
gi 199581334 gb EU659889.1 /1-547	TATTTCTCAAAAAGTAGAAAAATAAAGAAGAAATCGCGCAAGTAGGTGCTATTTCTGCAGC
gi 4205776 gb AF053585.1 /7-553	TATTTCTCAAAAAGTAGAAAAATAAAGAAGAAATCGCGCAAGTAGGTGCTATTTCTGCAGC
gi strain1360-13/276-822	TATTTCTCAAAAAGTAGAAAAATAAAGAAGAAATCGCGCAAGTAGGTGCTATTTCTGCAGC *****
gi 4104215 gb AF033622.1 /7-553	TGATGAAGAAGTAGGTGCTTATATTTCTGAAGCTATGGAAAAAGTAGGTAATGACGGTGT
gi 199581334 gb EU659889.1 /1-547	TGATGAAGAAGTAGGTGCTTATATTTCTGAAGCTATGGAAAAAGTAGGTAATGACGGTGT
gi 4205776 gb AF053585.1 /7-553	GGATGAAGAAGTAGGTGCTTATATTTCTGAAGCTATGGAAAAAGTAGGTAATGACGGTGT
gi strain1360-13/276-822	GGATGAAGAAGTAGGTGCTTATATTTCTGAAGCTATGGAAAAAGTAGGTAATGACGGTGT *****
gi 4104215 gb AF033622.1 /7-553	TATCTCTATTGAAGAATCAAGCGGTTTTAATACTGAATTAGATGTAGTGGAAAGGTATGCA
gi 199581334 gb EU659889.1 /1-547	TATCTCTATTGAAGAATCAAGCGGTTTTAATACTGAATTAGATGTAGTGGAAAGGTATGCA
gi 4205776 gb AF053585.1 /7-553	AATCTCTATTGAAGAATCAAGCGGTTTTAATACTGAATTAGATGTAGTGGAAAGGTATGCA
gi strain1360-13/276-822	AATCTCTATTGAAGAATCAAGCGGTTTTAATACTGAATTAGATGTAGTGGAAAGGTATGCA *****
gi 4104215 gb AF033622.1 /7-553	ATTCGATCGTGGATACCAATCTCCATATATGGTTACTGATTCGGATAAAATGACTGCTGA
gi 199581334 gb EU659889.1 /1-547	ATTCGATCGTGGATACCAATCTCCATATATGGTTACTGATTCGGATAAAATGACTGCTGA
gi 4205776 gb AF053585.1 /7-553	ATTCGATCGTGGATACCAATCTCCATACATGGTTACTGATTCAGATAAAATGACTGCAGA
gi strain1360-13/276-822	ATTCGATCGTGGATACCAATCTCCATACATGGTTACTGATTCAGATAAAATGACTGCAGA *****
gi 4104215 gb AF033622.1 /7-553	GTTAGAAAAACCTTATATTTAATCACGGATAAAAAATCTCATCTTTCCAAGATATCCT
gi 199581334 gb EU659889.1 /1-547	GTTAGAAAAACCTTATATTTAATCACGGATAAAAAATCTCATCTTTCCAAGATATCCT
gi 4205776 gb AF053585.1 /7-553	GTTAGAAAAACCTTATATTTAATCACGGATAAAAAATCTCATCTTTCCAAGATATCCT
gi strain1360-13/276-822	GTTAGAAAAACCTTATATTTAATCACGGATAAAAAATCTCATCTTTCCAAGATATCCT *****
gi 4104215 gb AF033622.1 /7-553	ACCTTTATTAGAGCAATCGTTCAATCTAATCGCCCAATTTTAATTGTTGCTGATGAAGT
gi 199581334 gb EU659889.1 /1-547	ACCTTTATTAGAGCAATCGTTCAATCTAATCGCCCAATTTTAATTGTTGCTGATGAAGT
gi 4205776 gb AF053585.1 /7-553	ACCTTTATTAGAGCAATCGTTCAATCTAATCGCCCAATTTTAATCGTTGCTGATGAAGT
gi strain1360-13/276-822	ACCTTTATTAGAGCAATCGTTCAATCTAATCGCCCAATTTTAATCGTTGCTGATGAAGT *****

gi 4104215 gb AF033622.1 /7-553	TGAAGGCACGCTTTAAACAACTTAGTATTGAACCGTATGCGTGGTACATTTACTGCCGT
gi 199581334 gb EU659889.1 /1-547	TGAAGGCACGCTTTAAACAACTTAGTATTGAACCGTATGCGTGGTACATTTACTGCCGT
gi 4205776 gb AF053585.1 /7-553	TGAAGGCACGCTTTAAACAACTTAGTATTGAACCGTATGCGTGGTACATTTACTGCCGT
gi strain1360-13/276-822	TGAAGGCACGCTTTAAACAACTTAGTATTGAACCGTATGCGTGGTACATTTACTGCCGT

gi 4104215 gb AF033622.1 /7-553	TGCAGTA
gi 199581334 gb EU659889.1 /1-547	TGCAGTA
gi 4205776 gb AF053585.1 /7-553	TGCAGTA
gi strain1360-13/276-822	TGCAGTA

1.3.7 Staphylococcus lugdunensis

gi N920143 270-823	TGCTACAGTGTAGCACAAAGCAATGATTCAAGAAGGACTTAAACAGTAACGAGTGGTGC
gi HKU09-01,/270-823	TGCTACAGTGTAGCACAAAGCAATGATTCAAGAAGGACTTAAACAGTAACGAGTGGTGC
gi U92810.1 SLU92810/1-554	TGCTACAGTGTAGCACAAAGCAATGATTCAAGAAGGACTTAAACAGTAACGAGTGGTGC
gi AF053570.1 /1-554	TGCTACAGTGTAGCACAAAGCAATGATTCAAGAAGGACTTAAACAGTAACGAGTGGTGC

gi N920143 270-823	AAATCCAGTTGGCTTACGTCAAGGTATTGATAAAGCAAGTTAAAGTAGCTATCGAAGCATT
gi HKU09-01,/270-823	AAATCCAGTTGGCTTACGTCAAGGTATTGATAAAGCAAGTTAAAGTAGCTATCGAAGCATT
gi U92810.1 SLU92810/1-554	AAATCCAGTTGGCTTACGTCAAGGTATTGATAAAGCAAGTTAAAGTAGCTATCGAAGCATT
gi AF053570.1 /1-554	AAATCCAGTTGGCTTACGTCAAGGTATTGATAAAGCAAGTTAAAGTAGCTATCGAAGCATT

gi N920143 270-823	ACATGATATATCACAAAAAGTTGAAAAATAAAATGAAATTCACAAAGTTGGGGCTATTTC
gi HKU09-01,/270-823	ACATGATATATCACAAAAAGTTGAAAAATAAAATGAAATTCACAAAGTTGGGGCTATTTC
gi U92810.1 SLU92810/1-554	ACATGATATATCACAAAAAGTTGAAAAATAAAATGAAATTCACAAAGTTGGGGCTATTTC
gi AF053570.1 /1-554	ACATGATATATCACAAAAAGTTGAAAAATAAAATGAAATTCACAAAGTTGGGGCTATTTC

gi N920143 270-823	TGCAGCAGATGAAGAGATTGGACAATATATTTCAGAAGCTATGGATAAAGTAGGTAATGA
gi HKU09-01,/270-823	TGCAGCAGATGAAGAGATTGGACAATATATTTCAGAAGCTATGGATAAAGTAGGTAATGA
gi U92810.1 SLU92810/1-554	TGCAGCAGATGAAGAGATTGGACAATATATTTCAGAAGCTATGGATAAAGTAGGTAATGA
gi AF053570.1 /1-554	TGCAGCAGATGAAGAGATTGGACAATATATTTCAGAAGCTATGGATAAAGTAGGTAATGA

gi N920143 270-823	TGGCGTAATAACTATTGAAGAACTAGTGGTTTCAATACTGAAC TTGAAGTTGTAGAAGG
gi HKU09-01,/270-823	TGGCGTAATAACTATTGAAGAACTAGTGGTTTCAATACTGAAC TTGAAGTTGTAGAAGG
gi U92810.1 SLU92810/1-554	TGGCGTAATAACTATTGAAGAACTAGTGGTTTCAATACTGAAC TTGAAGTTGTAGAAGG
gi AF053570.1 /1-554	TGGCGTAATAACTATTGAAGAACTAGTGGTTTCAATACTGAAC TTGAAGTTGTAGAAGG

gi N920143 270-823	TATGCAATTTGATAGAGGTTACCAATCACCATATATGGTTACGGATTCAGATAAAATGAC
gi HKU09-01,/270-823	TATGCAATTTGATAGAGGTTACCAATCACCATATATGGTTACGGATTCAGATAAAATGAC
gi U92810.1 SLU92810/1-554	TATGCAATTTGATAGAGGTTACCAATCACCATATATGGTTACGGATTCAGATAAAATGAC
gi AF053570.1 /1-554	TATGCAATTTGATAGAGGTTACCAATCACCATATATGGTTACGGATTCAGATAAAATGAC
gi N920143 270-823	TGCAGAATTAGAAGTCCATATATATTAGTTACAGATAAAAAAATATCTTCATTCCAAGA
gi HKU09-01,/270-823	TGCAGAATTAGAAGTCCATATATATTAGTTACAGATAAAAAAATATCTTCATTCCAAGA
gi U92810.1 SLU92810/1-554	TGCAGAATTAGAAGTCCATATATATTAGTTACAGATAAAAAAATATCTTCATTCCAAGA
gi AF053570.1 /1-554	TGCAGAATTAGAAGTCCATATATATTAGTTACAGATAAAAAAATATCTTCATTCCAAGA
gi N920143 270-823	TATTTTACCTTTACTAGAACAAAGTCGTTCAATCTAGTCGACCAATATTAATTGTTGCTGA
gi HKU09-01,/270-823	TATTTTACCTTTACTAGAACAAAGTCGTTCAATCTAGTCGACCAATATTAATTGTTGCTGA
gi U92810.1 SLU92810/1-554	TATTTTACCTTTACTAGAACAAAGTCGTTCAATCTAGTCGACCAATATTAATTGTTGCTGA
gi AF053570.1 /1-554	TATTTTACCTTTACTAGAACAAAGTCGTTCAATCTAGTCGACCAATATTAATTGTTGCTGA
gi N920143 270-823	TGAAGTAGAAGGTGATGCATTAACTAAATATCGTTCTAAACCGCATGCGTGGAACATTAC
gi HKU09-01,/270-823	TGAAGTAGAAGGTGATGCATTAACTAAATATCGTTCTAAACCGCATGCGTGGAACATTAC
gi U92810.1 SLU92810/1-554	TGAAGTAGAAGGTGATGCATTAACTAAATATCGTTCTAAACCGCATGCGTGGAACATTAC
gi AF053570.1 /1-554	TGAAGTAGAAGGTGATGCATTAACTAAATATCGTTCTAAACCGCATGCGTGGAACATTAC
gi N920143 270-823	TGCAGTTGCTGTTA
gi HKU09-01,/270-823	TGCAGTTGCTGTTA
gi U92810.1 SLU92810/1-554	TGCAGTTGCTGTTA
gi AF053570.1 /1-554	TGCAGTTGCTGTTA
	***** *

1.4 VEDLEGG 4 – PRIMERE OG PROBE FOR HSP60

Alignment av stafylokokker og primerer for *hsp60*. CLUSTAL O(1.2.1) multiple sequence alignment

S. aureus: giMRSA252/270-823, reversUSA300
S. Lugdunensis: N920143/270-823
S. hominis: VCU122.418618723:66933-68552/323-768

EPIDERMID15gi|199581304|gb|EU659874.1|/48-466
SCHLEIFER1gi|199581334|gb|EU659889.1|/48-466
AUREUSALLE1|54-472
AUREUSALLE2gi|323-741
CAP115gi|199581296|gb|EU659870.1|/48-466
LUMD15gi|385782956:1083427-1085049|323-741
HUNG15reverselengenom|323-741
HAEMOLYTICusgi|41009551|gb|U92809.1|SHU92809/54-472

EPIDERMID1Sgi|199581304|gb|EU659874.1|/48-466
SCHLEIFER1Sgi|199581334|gb|EU659889.1|/48-466
AUREUSALLE1|54-472
AUREUSALLE2gi|323-741
CAP1T1Sgi|199581296|gb|EU659870.1|/48-466
LUGO1Sgi|385782956:1083427-1085049|323-741
HOMIN1Sreverselgenom|323-741
HAEMOLYTICusgi|41009551|gb|U92809.1|SHU92809/54-472

EPIDERMIDISgi |199581304|gb|EU659874.1|/48-466
SCHLEIFERFgi |199581334|gb|EU659889.1|/48-466
AUREUSALLEL1|54-472
AUREUSALLEL2gi |323-741
CAPITISgi |199581296|gb|EU659870.1|/48-466
LUNGISgi |385782956:1083427-1085049|323-741
HOMINISreverselgenom|323-741
HAEMOLYTICUSgi |41009551|gb|U92809.1|SHU92809/54-472

EPIDERMIDISgi |199581304|gb|EU659874.1|/48-466
SCHLEIFERTgi |199581334|gb|EU659889.1|/48-466
AUREUSALLE1|54-472
AUREUSALLE2gi |323-741
CAPITISgi |199581296|gb|EU659870.1|/48-466
LUGD1gi |385782956:1083427-1085049|323-741
HOMINISreverselgenom|323-741
HAEMOLYTICUSgi |41009551|gb|U92809.1|SHU92809/54-472

GTGGTGC AAA TCT GTAGGC TTAAGACAAGGTATTGACAAAGCAGTGC AAGTGGCTATAG
 60
 GTGGCGCAAA CCGATAGGTATTCGTCAAGGTATTGATAAAGCGGTAGCTGTAGCGATTG
 60
 GTGGTGGCAACCCAGTTGGTTTACGACAAGGTATCGACAAAGCAGTTAAAGTTGCTGTTG
 60
 GTGGTGC AAACCCAGTTGGTTTACGACAAGGTATCGACAAAGCAGTTAAAGTTGCTGTG
 60
 GTGGCGCAATCCAGTTGGTTTAAAGACAAGGTATTGATAAAGCCGTTAAAAATAGCTGTAG
 60
 GTGGTGC AAA TCCAGTTGGCTTACGTCAAGGTATTGATAAAGCAGTTAAAGTAGCTATCG
 60
 GTGGTGC AAA TCCAGTTGGTTTACGTGAAGGCAATTGATAAAGCAGTCAAGGTAGCAGTTG
 60
 GTGGTGTCTAA CCGCAGTAGGA TTAAGTGAAGGGTATTGATAAAGCAGTAAAGTAGCTGTAC
 60

120 AAGCGCTTCATGAGATTTCCTCAAAAGTTGAAAAATAAGACGAGATACGCCAAGTTGGAG
120 AAGCACTTCATAATATTTCTCAAAAGTGAATAATAAAGAGAAATCGCGCAAGTAGGTG
120 AAGCGTTACATGAAATTCCTCAAAAGTTGAAAAATAAAATGAAATTCGCGCAAGTAGGTG
120 AAGCGTTACATGAAATTCCTCAAAAGTTGAAAAATAAAATGAAATTCGCGCAAGTAGGTG
120 AAGCTTTACATGATATCTCTCAAAAGTTGAAAAATAAAATGAAATTCGCGCAAGTAGGTG
120 AAGCATTACATGATATACACAAAGTTGAAAAATAAAATGAAATTCGCAAGTTGGGG
120 AAGCATTACATGACATTCTCTCAAAAGTTGAAAAATAAAATGAAATTCGCAAGTAGGTG
120 AAGCTCTACACGATATTTCTCAAAAGTTGAAAAATAAAATGAAATTCGCAAGTAGGTG
120 **** ** *

CTATTTTCAGCAGCAGATGAAGAAATCGGTCGCTACATTTCTGAAGCAATGGATAAAGTAG
1800
CTATTTTCGCAGCTGATGAAGAAGTAGCGTGGTATATTTCTGAAGCTATGGAATAAAGTAG
1800
CGATTTTCAGCAGCAGATGAAGAAATGGACGCTATATTTCTGAAGCTATGGAATAAAGTAG
1800
CGATTTTCAGCAGCAGATGAAGAAATGGACGCTATATTTCTGAAGCTATGGAATAAAGTAG
1800
CTATTTTCAGCTGCTGACGAAGAAATGGCCAAATACATCTCTGAAGCAATGGATAAAGTCG
1800
CTATTTTCGACAGCAGATGAAGAGATGGACAATAATATTTCTGAAGCTATGGATAAAGTAG
1800
CAATTTTCGCTGCTGATGAAGAAATGGTAAATAATATTTCTGAAGCAATGGATAAAGTAG
1800
CAATTTTCGACAGCAGATGAAGAAATGGTAAATAATATTTCTGAAGCAATGGATAAAGTTG
1800

2400 GTAACGATGGCGTTATCACTATTGAAGAATCAAAIGGGTTTAAATACAGAAATTAGAAGTAG
2401 GTAAAGACGGTGTATCTCTATTGAAGAATCAAGCGGTTTAAATACTGAAATTAGATGTAG
2402 GTAACGATGGTGTCAATCACTATTGAAGAATCAAAATGGAATCAACACTGAAGTAGG
2403 GTAACGATGGTGTCAATCACTATTGAAGAATCAAAATGGAATCAACACTGAAGTAGG
2404 GTAAATGA TGGGGTTATTACTATTGAAGAATCAACGGTTTCAATACAGAAGTTGAAGTCG
2405 GTAAATGA TGGCGTAACTAATTGAAGAATC TAGTGGTTTCAATCACTGAACCTTGAAGTTG
2406 GTAAAGACGGTGTATTACAAATTGAAGAATCTAAATGGACTTGTATACGGAATTAGAAGTTG
2407 GTAAATGA TGGTGTATTATACCAATTGAAGAATCAAAATGGAATAGATACAGAATTAGAAGTTG
2408 *****

EPIDERMIDISgi|199581304|gb|EU659874.1||/48-466
SCHLEIFERIGi|199581334|gb|EU659889.1||/48-466
AUREUSALLEL1/54-472
AUREUSALLEL2gi/323-741
CAPITISgi|199581296|gb|EU659870.1||/48-466
LUGDISgi|385782956:1083427-1085049/323-741
HOMINISrevershelgenom/323-741
HAEMOLYTICUSgi|4100055|gb|U92809.1|SHU92809/54-472

EPIDERMIDISgi|199581304|gb|EU659874.1||/48-466
SCHLEIFERIGi|199581334|gb|EU659889.1||/48-466
AUREUSALLEL1/54-472
AUREUSALLEL2gi/323-741
CAPITISgi|199581296|gb|EU659870.1||/48-466
LUGDISgi|385782956:1083427-1085049/323-741
HOMINISrevershelgenom/323-741
HAEMOLYTICUSgi|4100055|gb|U92809.1|SHU92809/54-472

EPIDERMIDISgi|199581304|gb|EU659874.1||/48-466
SCHLEIFERIGi|199581334|gb|EU659889.1||/48-466
AUREUSALLEL1/54-472
AUREUSALLEL2gi/323-741
CAPITISgi|199581296|gb|EU659870.1||/48-466
LUGDISgi|385782956:1083427-1085049/323-741
HOMINISrevershelgenom/323-741
HAEMOLYTICUSgi|4100055|gb|U92809.1|SHU92809/54-472

1.5 VEDLEGG 5 – ALIGNMENT AV ALLE STAFYLOKOKKER FOR RPOB

Alignment av *rpoB* I clustal omega

1.5.1 Staphylococcus epidermidis.

27466918:301678-305229 Staphylococcus epidermidis ATCC 12228

gi 543200617 gb KF113500.1 /30-598	TCAATTCAATGGAACAAGCTAACCCATTAGCAGAGTTAACGCACAAACGTCGTTTATCTGC
gb CP000029.1 :185929-189480/1401-1969	TCAATTCAATGGAACAAGCTAACCCGTTAGCAGAGTTAACGCACAAACGTCGTTTATCTGC
gi 27466918:301678-305229/1401-1969	TCAATTCAATGGAACAAGCTAACCCGTTAGCAGAGTTAACGCACAAACGTCGTTTATCTGC
gi 543200621 gb KF113502.1 /30-598	TCAATTCAATGGAACAAGCTAACCCGTTAGCAGAGTTAACGCACAAACGTCGTTTATCTGC
gi 138248515 gb EF173659.1 /119-687	TCAATTATGGAACAAGCTAACCCGTTAGCAGAGTTAACGCACAAACGTCGTTTATCTGC
reversJN190403/1-569	TCAATTCAATGGAACAAGCTAACCCGTTAGCAGAGTTAACGCACAAACGTCGTTTATCTGC

TTGAAGAATGCAATTTGATCGCGTTATCAATCACCATATATGGTAACTGACTCAGATA
TGAAGGTATGCAATTCGATCGTGATACCAATCTCCATATATGGTTACTGATTCGGATA
TTGAAGGTATGCAATTTGATCGTGTTATCAATCACCGTATATGGTTACTGATTCAGATA
TTGAAGGTATGCAATTTGATCGTGGTTATCAATCACCGTATATGGTTACTGATTCAGATA
TTGAAGGTATGCAATTTGATCGTGTTATCAATCACCCTATATGGTAACTGATTCAGATA
TGAAGGTATGCAATTTGATAGAGTTACCAATCACCATATATGGTTACGGATTCAGATA
TGAAGGTATGCAATTTGATAGAGTTATCAATCTCCATATATGGTAACAGATTCGTGATA
TTGAAGGTATGCAATTTGATAGAGGTATCAATCACCATACATGGTTACAGATTCAGATA
* **** * **** * * * * * **** * * * * * **** * * * * *

AAATGATAGCTGAATTAGAACGTCATATATATTAGTAACGGATAAGAAAAATTTTCATCAT
AAATGACTGCTGAGTTAGAAAAACCTTATATTTTAATCAGGATAAAAAAATCTCATCTT
AAATGGTTGCTGAATTAGAACGCCATACATTTAGTAACAGATAAGAAAAATCTCGCTTT
AAATGGTTGCTGAATTAGAACGCCATATATTTAGTAACAGATAAAAAAATCTCTCTT
AAATGATTGCTGAACTTGAACGCCATATATCTCGTTACAGATAAGAAAAATTTTCATCAT
AAATGACTGCAGAATTAGAACGTCCTATATATATTAGTTACAGATAAAAAAATATCTTCAT
AAATGATTGCGGAATTAGAAAGACCATATATTTAGTTACAGATAAGAAAAATTTTCATCAT
AAATGATTGCTGAGTTAGAAAGACCATATATTTAGTAACAGATAAAAAAATCTCTTCAT
***** ** * * **** * * * * * **** * * * * *

TCCAAGATATCTTCCATTATTAGAACAAAGTTGTGAGGCTAGTCGACCAATTTTAATT
TCCAAGATATCTTACTTTATTAGAGCAAAATCGTTCAATCTAATCGCCCAATTTTAATT
TCCAAGATATCTTACCCTTTATTAGAACAAAGTGGTCAATCTAATCGTCCAATCTTAATT
TCCAAGATATCTTACTTTATTAGAACAAAGTTCATCTAATCGTCCAATCTTAATT
TCCAAGATATTTACCCTTTATTAGAACAAAGTAGTTCAATCTAGTCGACCAATTTAATT
TCCAAGATATTTACCCTTTACTAGAACAAAGTCGTTCAATCTAGTCGACCAATTTAATT
TCCAAGATATATTACCCTTTATTAGAACAAAGTTGTTCAATCAAGCCGACCAATCTTAATC
TCCAAGATATCTTACCCTTTATTAGAACAAAGTTGTTCAATCTAGTCGTCCAATCTTAATT
***** * * * * **** * * * * * **** * * * * *

gi 543200617 gb KF113500.1 /30-598	GGATTACATGGACGTATACCAAAACAAGTTGTTTTCAGCAGCAACAGCATGTATTCCATT
gb CP000029.1 :185929-189480/1401-1969	GGATTACATGGACGTATACCAAAACAAGTTGTTTTCAGCAGCAACAGCATGTATTCCATT
gi 27466918 : 301678 - 305229/1401-1969	GGATTACATGGACGTATACCAAAACAAGTTGTTTTCAGCAGCAACAGCATGTATTCCATT
gi 543200621 gb KF113502.1 /30-598	GGATTACATGGACGTATACCAAAACAAGTTGTTTTCAGCAGCAACAGCATGTATTCCATT
gi 138248515 gb EF173659.1 /119-687	GGATTACATGGACGTATACCAAAACAAGTTGTTTTCAGCAGCAACAGCATGTATTCCATT
revers JN190403/1-569	*****
gi 543200617 gb KF113500.1 /30-598	CTTAGAAAAAGACGACTTAACCGTGCCTTAATGGGAGCAAAACATGCAACGTCAAGCGGT
gb CP000029.1 :185929-189480/1401-1969	CTTAGAAAAAGACGACTTAACCGTGCCTTAATGGGAGCAAAACATGCAACGTCAAGCGGT
gi 27466918 : 301678 - 305229/1401-1969	CTTAGAAAAAGACGACTTAACCGTGCCTTAATGGGAGCAAAACATGCAACGTCAAGCGGT
gi 543200621 gb KF113502.1 /30-598	CTTAGAAAAAGACGACTTAACCGTGCCTTAATGGGAGCAAAACATGCAACGTCAAGCGGT
gi 138248515 gb EF173659.1 /119-687	CTTAGAAAAAGACGACTTAACCGTGCCTTAATGGGAGCAAAACATGCAACGTCAAGCGGT
revers JN190403/1-569	*****
gi 543200617 gb KF113500.1 /30-598	GCCTTTAATGAATCCGGAAGCTCCATTG
gb CP000029.1 :185929-189480/1401-1969	GCCTTTAATGAATCCGGAAGCTCCATTG
gi 27466918 : 301678 - 305229/1401-1969	GCCTTTAATGAATCCGGAAGCTCCATTG
gi 543200621 gb KF113502.1 /30-598	GCCTTTAATGAATCCGGAAGCTCCATTG
gi 138248515 gb EF173659.1 /119-687	GCCTTTAATGAATCCGGAAGCTCCATTG
revers JN190403/1-569	*****

1.5.2 Staphylococcus aureus

88193823:522160-525711 Staphylococcus aureus subsp. aureus NCTC 8325 chromosome, complete genome	
49240382:590831-594382 Staphylococcus aureus subsp. aureus strain MRSA252, complete genome	
gi 371927098 gb JN593085.1 /1-669	ATCACACTCAACAATTAAATTAATTCGACCTGTTATTGCATCTATTAAAGAATTCCTTT
gi 371927096 gb JN593084.1 /1-669	ATCACACTCAACAATTAAATTAATTCGACCTGTTATTGCATCTATTAAAGAATTCCTTT
gi 49240382 : 590831 - 594382/1324-1992	ATCACACTCAACAATTAAATTAATTCGACCTGTTATTGCATCTATTAAAGAATTCCTTT
gi 88193823 : 522160 - 525711/1324-1992	ATCACACTCAACAATTAAATTAATTCGACCTGTTATTGCATCTATTAAAGAATTCCTTT

gi 371927098 gb JN593085.1 /1-669	GGTAGCTCTCAATTATCACAATTCATGGACCAAGCAAAACCCATTAGCTGAGTTAACGAAT
gi 371927096 gb JN593084.1 /1-669	GGTAGCTCTCAATTATCACAATTCATGGACCAAGCAAAACCCATTAGCTGAGTTAACGAAT
gi 49240382 : 590831 - 594382/1324-1992	GGTAGCTCTCAATTATCACAATTCATGGACCAAGCAAAACCCATTAGCTGAGTTAACGAAT
gi 88193823 : 522160 - 525711/1324-1992	GGTAGCTCTCAATTATCACAATTCATGGACCAAGCAAAACCCATTAGCTGAGTTAACGAAT

gi 371927098 gb JN593085.1 /1-669	AAACGTGCTCTATCAGCATTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCTCAAAATGGAA
gi 371927096 gb JN593084.1 /1-669	AAACGTGCTCTATCAGCATTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCTCAAAATGGAA
gi 49240382 : 590831 - 594382/1324-1992	AAACGTGCTCTATCAGCATTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCTCAAAATGGAA
gi 88193823 : 522160 - 525711/1324-1992	AAACGTGCTCTATCAGCATTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCTCAAAATGGAA

gi 371927098 gb JN593085.1 /1-669	GTACGTGACGTTCACTACTCTCACTATGCGCGCATGTGTCCAATTGAAACACCTGAGGGA
gi 371927096 gb JN593084.1 /1-669	GTACGTGACGTTCACTACTCTCACTATGCGCGCATGTGTCCAATTGAAACACCTGAGGGA
gi 49240382 : 590831 - 594382 / 1324 - 1992	GTGCGTGACGTTCACTACTCTCACTATGCGCGCATGTGTCCAATTGAAACGCTGAGGGA
gi 88193823 : 522160 - 525711 / 1324 - 1992	GTAGTGACGTTCACTACTCTCACTATGCGCGCATGTGTCCAATTGAAACACCTGAGGGA
** *****	
gi 371927098 gb JN593085.1 /1-669	CCAAACATTGGATTGATGAACCTCATTATCAAGTTATGCAGTGTAATGAATTCGGCTTT
gi 371927096 gb JN593084.1 /1-669	CCAAACATTGGATTGATGAACCTCATTATCAAGTTATGCAGTGTAATGAATTCGGCTTT
gi 49240382 : 590831 - 594382 / 1324 - 1992	CCAAACATTGGATTGATGAACCTCATTATCAAGTTATGCAGTGTAATGAATTCGGCTTT
gi 88193823 : 522160 - 525711 / 1324 - 1992	CCAAACATTGGATTGATGAACCTCATTATCAAGTTATGCAGTGTAATGAATTCGGCTTT

gi 371927098 gb JN593085.1 /1-669	ATTGAAACACCATATCGTAAAGTTGATTTAGATACACATGCTATCACTGATCAAAATTGAC
gi 371927096 gb JN593084.1 /1-669	ATTGAAACACCATATCGTAAAGTTGATTTAGATACACATGCTATCACTGATCAAAATTGAC
gi 49240382 : 590831 - 594382 / 1324 - 1992	ATTGAAACACCATATCGTAAAGTTGATTTAGATACACATGCTATCACTGATCAAAATTGAC
gi 88193823 : 522160 - 525711 / 1324 - 1992	ATTGAAACACCATATCGTAAAGTTGATTTAGATACACATGCTATCACTGATCAAAATTGAC

gi 371927098 gb JN593085.1 /1-669	TATTTAACAGCTGACGAAGAAGATAGCTATGTTGTAGCACAAAGCAAACTCTAGATTAGAT
gi 371927096 gb JN593084.1 /1-669	TATTTAACAGCTGACGAAGAAGATAGCTATGTTGTAGCACAAAGCAAACTCTAGATTAGAT
gi 49240382 : 590831 - 594382 / 1324 - 1992	TATTTAACAGCTGACGAAGAAGATAGCTATGTTGTAGCACAAAGCAAACTCTAGATTAGAT
gi 88193823 : 522160 - 525711 / 1324 - 1992	TATTTAACAGCTGACGAAGAAGATAGCTATGTTGTAGCACAAAGCAAACTCTAGATTAGAT

gi 371927098 gb JN593085.1 /1-669	GAAAAATGGTCGTTTCATGGATGATGAAGTTGTATGTCGTTCCGTTGGTTAACAAATACAGTT
gi 371927096 gb JN593084.1 /1-669	GAAAAATGGTCGTTTCATGGATGATGAAGTTGTATGTCGTTCCGTTGGTTAACAAATACAGTT
gi 49240382 : 590831 - 594382 / 1324 - 1992	GAAAAATGGTCGTTTCATGGATGATGAAGTTGTATGTCGTTCCGTTGGTTAACAAATACAGTT
gi 88193823 : 522160 - 525711 / 1324 - 1992	GAAAAATGGTCGTTTCATGGATGATGAAGTTGTATGTCGTTCCGTTGGTTAACAAATACAGTT

gi 371927098 gb JN593085.1 /1-669	ATGGCTAAAGAAAAAATGGATTATATGGATGTATCGCCGAAGCAAGTTGTTTCAGCAGCG
gi 371927096 gb JN593084.1 /1-669	ATGGCTAAAGAAAAAATGGATTATATGGATGTATCGCCGAAGCAAGTTGTTTCAGCAGCG
gi 49240382 : 590831 - 594382 / 1324 - 1992	ATGGCTAAAGAAAAAATGGATTATATGGATGTATCGCCGAAGCAAGTTGTTTCAGCAGCG
gi 88193823 : 522160 - 525711 / 1324 - 1992	ATGGCTAAAGAAAAAATGGATTATATGGATGTATCGCCGAAGCAAGTTGTTTCAGCAGCG

gi 371927098 gb JN593085.1 /1-669	ACAGCATGTATTCATTCTTAGAAAAATGATGACTCAAAACCGTGCAATTGATGGGTGCGAAC
gi 371927096 gb JN593084.1 /1-669	ACAGCATGTATTCATTCTTAGAAAAATGATGACTCAAAACCGTGCAATTGATGGGTGCGAAC
gi 49240382 : 590831 - 594382 / 1324 - 1992	ACAGCATGTATTCATTCTTAGAAAAATGATGACTCAAAACCGTGCAATTGATGGGTGCGAAC
gi 88193823 : 522160 - 525711 / 1324 - 1992	ACAGCATGTATTCATTCTTAGAAAAATGATGACTCAAAACCGTGCAATTGATGGGTGCGAAC

gi 371927098 gb JN593085.1 /1-669	ATGCAACGTCAGCAGTGCCCTTTGATGAATCCAGAAGCACCATTTGTTGGTACAGGTATG
gi 371927096 gb JN593084.1 /1-669	ATGCAACGTCAGCAGTGCCCTTTGATGAATCCAGAAGCACCATTTGTTGGTACAGGTATG
gi 49240382 : 590831 - 594382 / 1324 - 1992	ATGCAACGTCAGCAGTGCCCTTTGATGAATCCAGAAGCACCATTTGTTGGTACAGGTATG
gi 88193823 : 522160 - 525711 / 1324 - 1992	ATGCAACGTCAGCAGTGCCCTTTGATGAATCCAGAAGCACCATTTGTTGGTACAGGTATG

gi | 371927098 | gb | JN593085.1 | /1-669
gi | 371927096 | gb | JN593084.1 | /1-669
gi | 49240382 | gb | 590831-594382 | /1324-1992
gi | 88193823 | gb | 522160-525711 | /1324-1992

GAACACGTT
GAACACGTT
GAACACGTT
GAACACGTT

1.5.3 Staphylococcus capitis.

gi | 88193823 | gb | 522160-525711 | /1444-1928
gi | 74099855 | gb | DQ120729.1 | /1-485
gi | 138248525 | gb | EF173664.1 | /162-646

AAACGTGCTCTATCAGCATTAGGACCTGGTGGTTTAAACAGTGAACGTGAACGTGCTCAAAATGGAA
AAACGTGCTCTATCAGCATTAGGGCTGGTGGTTTAACTCGTGAACGTGCTCAAAATGGAA
AAACGTGCTCTATCAGCATTAGGACCTGGTGGTTTAACTCGTGAACGTGCTCAAAATGGAA

gi | 88193823 | gb | 522160-525711 | /1444-1928
gi | 74099855 | gb | DQ120729.1 | /1-485
gi | 138248525 | gb | EF173664.1 | /162-646

GTAGTGACGTTCACTACTCTCACTATGCGCGTATGTCCAATTGAACACCTGAGGGA
GTAGTGACGTTCACTACTCACTATGCGTATGTCCAATTGAACACCTGAGGGT
GTAGTGACGTTCACTACTCACTATGCGTATGTCCAATTGAACACCTGAGGGT

gi | 88193823 | gb | 522160-525711 | /1444-1928
gi | 74099855 | gb | DQ120729.1 | /1-485
gi | 138248525 | gb | EF173664.1 | /162-646

CCAAACATTGGATTGAATTAATCAATTAATCAAGTTATGCACGTGTAATGAATTCGGCTTT
CCAAATATGGTTAAATTAATCAATTAATCAAGTTATGCGGAGTAAATGAATTTGGTTTC
CCAAATATGGTTAAATTAATCAATTAATCAAGTTATGCGGAGTAAATGAATTTGGTTTC

gi | 88193823 | gb | 522160-525711 | /1444-1928
gi | 74099855 | gb | DQ120729.1 | /1-485
gi | 138248525 | gb | EF173664.1 | /162-646

ATTGAAACACCATATCGTAAAGTTGATTTAGATACACATGCTATCACTGATCAAAATTGAC
ATCGAGACCCGTATCGTAAAGTTGATTTAGATACGAACCTGTTACAGATCAAAATCGAT
ATCGAGACCCGTATCGTAAAGTTGATTTAGATACGAACCTGTTACAGATCAAAATCGAT

gi | 88193823 | gb | 522160-525711 | /1444-1928
gi | 74099855 | gb | DQ120729.1 | /1-485
gi | 138248525 | gb | EF173664.1 | /162-646

TATTTAACAGCTGACGAAGAAGATAGCTATGTTGTAGCAAGCAAACTCTAAATTAGAT
TACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGCTAGTGTGCTGCTCCCAAGCCAACCTACAGTTTAGAC
TACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGCTATGATGTGCTCCCAAGCCAACCTACAGTTTAGAC

gi | 88193823 | gb | 522160-525711 | /1444-1928
gi | 74099855 | gb | DQ120729.1 | /1-485
gi | 138248525 | gb | EF173664.1 | /162-646

GAAAAATGGTCGTTTCATGGATGATGAAGTTGTATGTCGTTCCGTGGTAAACAATACAGTT
GAAAAATGGTCGTTTCATGGATGATGAAGTTGTATGTCGTTCCGTGGTAAACAATACAGTT
GAAAAATGGTCGTTTCATGGATGATGAAGTTGTATGTCGTTCCGTGGTAAACAATACAGTT

gi | 88193823 | gb | 522160-525711 | /1444-1928
gi | 74099855 | gb | DQ120729.1 | /1-485
gi | 138248525 | gb | EF173664.1 | /162-646

ATGCTTAAAGAAAAAATGGATTATATGGATGTATCGCCGAAGCAAGTTGTTTTCAGCAGCG
ATGGCGAAGAAAAAATGGATTACATGGAGGTATCACTAAACAAGTTGTATCAGCAGCT
ATGGCAAGAAAAAATGGATTACATGGAGGTATCACTAAACAAGTTGTATCAGCAGCT

gi | 88193823 | gb | 522160-525711 | /1444-1928
gi | 74099855 | gb | DQ120729.1 | /1-485
gi | 138248525 | gb | EF173664.1 | /162-646

ACAGCATGTATTCATTCTTAGAAAAATGATGACTCAAAACCGTGCATTGATGGTGCGAAC
ACAGCATGTATTCATTCTTAGAAAAATGATGACTCAAAACCGTGCATTGATGGTGCGAAC
ACAGCATGTATTCATTCTTAGAAAAATGATGACTCAAAACCGTGCATTGATGGTGCGAAC

gi|88193823:522160-525711/1444-1928 ATGCA
gi|74099855|gb|DQ120729.1|/1-485 ATGCA
gi|138248525|gb|EF173664.1|/162-646 ATGCA

1.5.4 Staphylococcus lugdunensis

reversAEQA01000010.1|:32742-36296 Staphylococcus lugdunensis M23590
revers339893212:2393359-2396913 Staphylococcus lugdunensis N920143 complete genome

gi|193247964|emb|FM177467.1|/1-636 TCTATCACACCACAACTAATTAAATTATAGACCAGTTATTGCATCAATTAAGAATTC
gi|17225229|gb|AF325870.1|/1216-1851 TCTATCACACCACAACTAATTAAATTATAGACCAGTTATTGCATCAATTAAGAATTC
reversAEQA01000010.1|:32742-36296/1321-1956 TCTATCACACCACAACTAATTAAATTATAGACCAGTTATTGCATCAATTAAGAATTC
revers339893212:2393359-2396913/1321-1956 TCTATCACACCACAACTAATTAAATTATAGACCAGTTATTGCATCAATTAAGAATTC

gi|193247964|emb|FM177467.1|/1-636 TTTGGTAGTTCTCAATTATCACAATTCATGGACCAAGCTAACCATTAGCAGAATTAACA
gi|17225229|gb|AF325870.1|/1216-1851 TTTGGTAGTTCTCAATTATCACAATTCATGGACCAAGCTAACCATTAGCAGAATTAACA
reversAEQA01000010.1|:32742-36296/1321-1956 TTTGGTAGTTCTCAATTATCACAATTCATGGACCAAGCTAACCATTAGCAGAATTAACA
revers339893212:2393359-2396913/1321-1956 TTTGGTAGTTCTCAATTATCACAATTCATGGACCAAGCTAACCATTAGCAGAATTAACA

gi|193247964|emb|FM177467.1|/1-636 CACAAACGTCGTTTATCTGCGTTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCACAAATG
gi|17225229|gb|AF325870.1|/1216-1851 CACAAACGTCGTTTATCTGCGTTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCACAAATG
reversAEQA01000010.1|:32742-36296/1321-1956 CACAAACGTCGTTTATCTGCGTTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCACAAATG
revers339893212:2393359-2396913/1321-1956 CACAAACGTCGTTTATCTGCGTTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCACAAATG

gi|193247964|emb|FM177467.1|/1-636 GAAGTTCGTGACGTGCATTATCTCACTATGCCCGTATGTCCGATTGAAACACCAGAG
gi|17225229|gb|AF325870.1|/1216-1851 GAAGTTCGTGACGTGCATTATCTCACTATGCCCGTATGTCCGATTGAAACACCAGAG
reversAEQA01000010.1|:32742-36296/1321-1956 GAAGTTCGTGACGTGCATTATCTCACTATGCCCGTATGTCCGATTGAAACACCAGAG
revers339893212:2393359-2396913/1321-1956 GAAGTTCGTGACGTGCATTATCTCACTATGCCCGTATGTCCGATTGAAACACCAGAG

gi|193247964|emb|FM177467.1|/1-636 GGTCCAAACATTGGTTGATTAACCTATTCTAGTTATGCGCGTGTCAACGAGTTTGGC
gi|17225229|gb|AF325870.1|/1216-1851 GGTCCAAACATTGGTTGATTAACCTATTCTAGTTATGCGCGTGTCAACGAGTTTGGC
reversAEQA01000010.1|:32742-36296/1321-1956 GGTCCAAACATTGGTTGATTAACCTATTCTAGTTATGCGCGTGTCAACGAGTTTGGC
revers339893212:2393359-2396913/1321-1956 GGTCCAAACATTGGTTGATTAACCTATTCTAGTTATGCGCGTGTCAACGAGTTTGGC

gi|193247964|emb|FM177467.1|/1-636 TTTATTGAAAGCCTTATCGTAAAGTAGATATTGATACAAATGCCATTACAGATCAAAAT
gi|17225229|gb|AF325870.1|/1216-1851 TTTATTGAAAGCCTTATCGTAAAGTAGATATTGATACAAATGCCATTACAGATCAAAAT
reversAEQA01000010.1|:32742-36296/1321-1956 TTTATTGAAAGCCTTATCGTAAAGTAGATATTGATACAAATGCCATTACAGATCAAAAT
revers339893212:2393359-2396913/1321-1956 TTTATTGAAAGCCTTATCGTAAAGTAGATATTGATACAAATGCCATTACAGATCAAAAT

gb AHL001000047.1 25264-28815/1444-1928	CCAAACATTGGTTTAAATTAACATCATTACTAGTTATGCACGTGTAATGAATTTGGTTTT
gb ACLP01000013.1 25156-28707/1444-1928	CCAAACATTGGTTTAAATTAACATCATTACTAGTTATGCACGTGTAATGAATTTGGTTTT
gi 74099873 gb DQ120738.1 /1-485	CCAAACATTGGTTTAAATTAACATCATTACTAGTTATGCACGTGTAATGAATTTGGTTTT
gi 543200651 gb KF113517.1 /73-557	CCAAACATTGGTTTAAATTAACATCATTACTAGTTATGCACGTGTAATGAATTTGGTTTT

gb AHL001000047.1 25264-28815/1444-1928	ATCGAAACACCATATCGTAAAGTAGATTGATACCAATTCAAATTACTGATCAAAATTGAT
gb ACLP01000013.1 25156-28707/1444-1928	ATCGAAACACCATATCGTAAAGTAGATTGATACCAATTCGATTACTGATCAAAATTGAT
gi 74099873 gb DQ120738.1 /1-485	ATCGAAACACCATATCGTAAAGTAGATTGATACCAATTCGATTACTGATCAAAATTGAT
gi 543200651 gb KF113517.1 /73-557	ATCGAAACACCATATCGTAAAGTAGATTGATACCAATTCGATTACTGATCAAAATTGAT

gb AHL001000047.1 25264-28815/1444-1928	TATTTAACTGCTGATGAAGAAGTAGCTATGTAGTTGCACAAGCCAAATTCCTGTTTAGAT
gb ACLP01000013.1 25156-28707/1444-1928	TATTTAACTGCTGATGAAGAAGTAGCTATGTAGTTGCACAAGCCAAATTCCTGTTTAGAT
gi 74099873 gb DQ120738.1 /1-485	TATTTAACTGCTGATGAAGAAGTAGCTATGTAGTTGCACAAGCCAAATTCCTGTTTAGAT
gi 543200651 gb KF113517.1 /73-557	TATTTAACTGCTGATGAAGAAGTAGCTATGTAGTTGCACAAGCCAAATTCCTGTTTAGAT

gb AHL001000047.1 25264-28815/1444-1928	GAAATGGTTCGTTTCCTAGATGATGAAGTGGTATGTCGTTTCGTTGTTAACAACACTGTT
gb ACLP01000013.1 25156-28707/1444-1928	GAAATGGTTCGTTTCCTAGATGATGAAGTGGTATGTCGTTTCGTTGTTAACAACACTGTT
gi 74099873 gb DQ120738.1 /1-485	GAAATGGTTCGTTTCCTAGATGATGAAGTGGTATGTCGTTTCGTTGTTAACAACACTGTT
gi 543200651 gb KF113517.1 /73-557	GAAATGGTTCGTTTCCTAGATGATGAAGTGGTATGTCGTTTCGTTGTTAACAACACTGTT

gb AHL001000047.1 25264-28815/1444-1928	ATGGCAAAAGAAAAATGGACTACATGGATGTATCTCCTAAACAAGTAGTATCAGCAGCG
gb ACLP01000013.1 25156-28707/1444-1928	ATGGCAAAAGAAAAATGGACTACATGGATGTATCTCCTAAACAAGTAGTATCAGCAGCG
gi 74099873 gb DQ120738.1 /1-485	ATGGCAAAAGAAAAATGGACTACATGGATGTATCTCCTAAACAAGTAGTATCAGCAGCG
gi 543200651 gb KF113517.1 /73-557	ATGGCAAAAGAAAAATGGACTACATGGATGTATCTCCTAAACAAGTAGTATCAGCAGCG

gb AHL001000047.1 25264-28815/1444-1928	ACAGCTTGATTCCATTCCTTGAAAAACGATGACTCTAACCCTGCGTTAATGGGTGCGAAC
gb ACLP01000013.1 25156-28707/1444-1928	ACAGCTTGATTCCATTCCTTGAAAAACGATGACTCTAACCCTGCGTTAATGGGTGCGAAC
gi 74099873 gb DQ120738.1 /1-485	ACAGCTTGATTCCATTCCTTGAAAAACGATGACTCTAACCCTGCGTTAATGGGTGCGAAC
gi 543200651 gb KF113517.1 /73-557	ACAGCTTGATTCCATTCCTTGAAAAACGATGACTCTAACCCTGCGTTAATGGGTGCGAAC

gb AHL001000047.1 25264-28815/1444-1928	ATGCA
gb ACLP01000013.1 25156-28707/1444-1928	ATGCA
gi 74099873 gb DQ120738.1 /1-485	ATGCA
gi 543200651 gb KF113517.1 /73-557	ATGCA

1.5.6 Staphylococcus haemolyticus.

68445725:2465778-2469329 Staphylococcus haemolyticus JSC1435 DNA, complete genome

gi 17225287 gb AF325899.1 /43-549	TTCAAGTGTTCATCAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAAAGCAGCGTT
gi 543200643 gb KF113513.1 /231-737	TTCTGTGTTTCATCAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAAAGCAGCGTT
gi 17225265 gb AF325888.1 /1-507	TTCTGTGTTTCATCAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAAAGCAGCGTT
gi 68445725:2465778-2469329/1594-2100	TTCTGTGTTTCATCAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAAAGCAGCGTT ***** AGAGTCATCGTTTTCAAGGAATGGGATACATGCTGCGCAGCTGATACTACTTGTTTAGG AGAGTCATCATTTTCAAGGAAAGGAATACATGCTGCGCAGCTGAAACTACTTGTTTAGG AGAGTCATCATTTTCAAGGAAAGGAATACATGCTGCGCAGCTGAAACTACTTGTTTAGG ***** AGATACGTCATGTAAGTCCATTTTCTCTTTGGCCATAACTGTGTTATTACACGGAACG AGATAGTCATGTAAGTCCATTTTCTCTTTAGCCATAACTGTGTTATTACACGGAACG AGATACGTCATGTAAGTCCATTTTCTCTTTAGCCATAACTGTGTTATTACACGGAACG AGATAGTCATGTAAGTCCATTTTCTCTTTAGCCATAACTGTGTTATTACACGGAACG ***** ACATACGACTTCATCATCTAAGAAACGGCCATTTTCATCTAAGCGAGAGTTCGCTTGGGC ACATAGGACTTCATCATCTAAGAAACGACCATTTTCATCTAAGCGAGAGTTCGCTTGGGC ACATAGGACTTCATCATCTAAGAAACGACCATTTTCATCTAAGCGAGAGTTCGCTTGGGC ACATAGGACTTCATCATCTAAGAAACGACCATTTTCATCTAAGCGAGAGTTCGCTTGGGC ***** TACTACATAGCTGCTCTTTCATCAGCTGTTAAGTAGTCGATTGATCTGTAATAGAGTT AACTACATAGCTATCTTTCATCAGCAGTTAAGTAGTCGATTGATCTGTAATAGAGTT AACTACATAGCTATCTTTCATCAGCAGTTAAGTAGTCGATTGATCTGTAATAGAGTT AACTACATAGCTATCTTTCATCAGCAGTTAAGTAGTCGATTGATCTGTAATAGAGTT ***** AGTGCTAAGTCTACTTTACGATATGGTTTCAATGAAACCAAAATTCATTACACCGTGC AGTGCTAAGTCTACTTTACGATATGGTTTCAATGAAACCAAAATTCATTACACCGTGC AGTGCTAAGTCTACTTTACGATATGGTTTCAATGAAACCAAAATTCATTACACCGTGC ***** ATAACTTGAAAGTGAGTTGATCAAAACCAATGTTGGTCCCTCTGGTGCTCGATAGGACA ATAACTTGATAATGAGTTAAACCAACCAATGTTGGTCCCTCTGGAGTCTCGATCGGACA ATAACTTGATAATGAGTTAAATCAAAACCAATGTTGGTCCCTCTGGAGTCTCGATCGGACA ATAACTTGATAATGAGTTAAATCAAAACCAATGTTGGTCCCTCTGGAGTCTCGATCGGACA ***** CATAGTCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGACTTCCTATTTGAGCAGCTTCACGTGT CATAGTCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGACTTCCTATTTGAGCAGCTTCACGTGT CATAGCACCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGACTTCCTATTTGAGCAGCTTCACGTGT CATAGCACCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGACTTCCTATTTGAGCAGCTTCACGTGT *****
gi 17225287 gb AF325899.1 /43-549	AGATACGTCATGTAAGTCCATTTTCTCTTTGGCCATAACTGTGTTATTACACGGAACG
gi 543200643 gb KF113513.1 /231-737	AGATAGTCATGTAAGTCCATTTTCTCTTTAGCCATAACTGTGTTATTACACGGAACG
gi 17225265 gb AF325888.1 /1-507	AGATACGTCATGTAAGTCCATTTTCTCTTTAGCCATAACTGTGTTATTACACGGAACG
gi 68445725:2465778-2469329/1594-2100	AGATAGTCATGTAAGTCCATTTTCTCTTTAGCCATAACTGTGTTATTACACGGAACG ***** ACATACGACTTCATCATCTAAGAAACGGCCATTTTCATCTAAGCGAGAGTTCGCTTGGGC ACATAGGACTTCATCATCTAAGAAACGACCATTTTCATCTAAGCGAGAGTTCGCTTGGGC ACATAGGACTTCATCATCTAAGAAACGACCATTTTCATCTAAGCGAGAGTTCGCTTGGGC ***** TACTACATAGCTGCTCTTTCATCAGCTGTTAAGTAGTCGATTGATCTGTAATAGAGTT AACTACATAGCTATCTTTCATCAGCAGTTAAGTAGTCGATTGATCTGTAATAGAGTT AACTACATAGCTATCTTTCATCAGCAGTTAAGTAGTCGATTGATCTGTAATAGAGTT AACTACATAGCTATCTTTCATCAGCAGTTAAGTAGTCGATTGATCTGTAATAGAGTT ***** AGTGCTAAGTCTACTTTACGATATGGTTTCAATGAAACCAAAATTCATTACACCGTGC AGTGCTAAGTCTACTTTACGATATGGTTTCAATGAAACCAAAATTCATTACACCGTGC AGTGCTAAGTCTACTTTACGATATGGTTTCAATGAAACCAAAATTCATTACACCGTGC ***** ATAACTTGAAAGTGAGTTGATCAAAACCAATGTTGGTCCCTCTGGTGCTCGATAGGACA ATAACTTGATAATGAGTTAAACCAACCAATGTTGGTCCCTCTGGAGTCTCGATCGGACA ATAACTTGATAATGAGTTAAATCAAAACCAATGTTGGTCCCTCTGGAGTCTCGATCGGACA ATAACTTGATAATGAGTTAAATCAAAACCAATGTTGGTCCCTCTGGAGTCTCGATCGGACA ***** CATAGTCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGACTTCCTATTTGAGCAGCTTCACGTGT CATAGTCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGACTTCCTATTTGAGCAGCTTCACGTGT CATAGCACCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGACTTCCTATTTGAGCAGCTTCACGTGT CATAGCACCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGACTTCCTATTTGAGCAGCTTCACGTGT *****

gi | 17225287 | gb | AF325899.1 | /43-549
gi | 543200643 | gb | KF113513.1 | /231-737
gi | 17225265 | gb | AF325888.1 | /1-507
gi | 68445725 : 2465778 - 2469329 / 1594 - 2100

TAAACCAACAGGTCCTAGGCAGATAG
TAAACCAACAGGTCCTAATGCATAAAG
TAAACCAACAGGTCCTAATGCAGAAAG
TAAACCAACAGGTCCTAATGCAGAAAG
***** * * *

1.5.7 Staphylococcus schleiferi

revrersAF325886/3-487

gi | 74099891 | gb | DQ120747.1 | /1-485
gi | 138248529 | gb | EF173666.1 | /162-646

AAACGTGCTTTATCAGCTTTAGGGCTGTGGTTTAAACAGTGAACGTGAACAGTGCACAAATGGAA
AAACGTGCTTTATCAGCTTTAGGACCTGTGGTTTAAACAGTGAACGTGAACAGTGCACAAATGGAA
AAACGTGCTTTATCAGCTTTAGGACCTGTGGTTTAAACAGTGAACGTGAACAGTGCACAAATGGAA
***** * * *

revrersAF325886/3-487

gi | 74099891 | gb | DQ120747.1 | /1-485
gi | 138248529 | gb | EF173666.1 | /162-646

GTTGCGTACGTACACTATTCTCACTATGGCCGTATGTCCAATCGAGACACAGAGGGT
GTTGCGTGACGTACACTATTCTCACTATGGTCGATGTGCCAATTGAGACACAGAGGGT
GTTGCGTGACGTACACTATTCTCACTATGGTCGATGTGCCAATTGAGACACAGAGGGT
***** * * *

revrersAF325886/3-487

gi | 74099891 | gb | DQ120747.1 | /1-485
gi | 138248529 | gb | EF173666.1 | /162-646

CCAACACATTGGTTTGATCAACTCACTTCAAGTTATGCACGTGTGAATGAATTTGGTTTC
CCAACACATTGGTTTGATCAACTCACTTCAAGTTATGCACGTGTGAATGAATTTGGATTTC
CCAACACATTGGTTTGATCAACTCACTTCAAGTTATGCACGTGTGAATGAATTTGGATTTC
***** * * *

revrersAF325886/3-487

gi | 74099891 | gb | DQ120747.1 | /1-485
gi | 138248529 | gb | EF173666.1 | /162-646

ATTGAAACTCCATACAGAAAAGTAGACCTTGAACAAACACAATTTACAGACCGTATTGAT
ATTGAAACACCATACAGAAAAGTAGACCTTGAACAAACACAATTTACAGACCGTATTGAT
ATTGAAACACCATACAGAAAAGTAGACCTTGAACAAACACAATTTACAGACCGTATTGAT
***** * * *

revrersAF325886/3-487

gi | 74099891 | gb | DQ120747.1 | /1-485
gi | 138248529 | gb | EF173666.1 | /162-646

TACCTTACTGCTGATGAAGACACAGTTATGTTGTTGCCAAGCGAACTCAAGACTTGAT
TACCTTACTGCGGATGAAGACACAGTTATGTTGTTGCCAAGCGAACTCAAGACTTGAT
TACCTTACTGCGGATGAAGACACAGTTATGTTGTTGCCAAGCGAACTCAAGACTTGAT
***** * * *

revrersAF325886/3-487

gi | 74099891 | gb | DQ120747.1 | /1-485
gi | 138248529 | gb | EF173666.1 | /162-646

GAAAAACGGACGTTTATCGATGACGAAATCGTTTGTGCTTCCGTGGTAACAACAACAACCT
GAAAAACGGACGCTTATCGATGACGAAATCGTTTGTGCTTCCGTGGTAACAACAACAACCT
GAAAAACGGACGCTTATCGATGACGAAATCGTTTGTGCTTCCGTGGTAACAACAACAACCT
***** * * *

revrersAF325886/3-487

gi | 74099891 | gb | DQ120747.1 | /1-485
gi | 138248529 | gb | EF173666.1 | /162-646

ATGGCTAAAGAAAAAATGGACTACATGGACGTATCGCCTAAACAAGTTGTTTCAGCTGCG
ATGGCTAAAGAAAAAATGGACTACATGGACGTATCGCCTAAACAAGTTGTTTCAGCTGCG
ATGGCTAAAGAAAAAATGGACTACATGGACGTATCGCCTAAACAAGTTGTTTCAGCTGCG
***** * * *

revrersAF325886/3-487

gi | 74099891 | gb | DQ120747.1 | /1-485
gi | 138248529 | gb | EF173666.1 | /162-646

ACAGCATGTATTCCGTTTTAGAAAAACGATGACTCTAACCGTGCAATTGATGGGTGCGAAC
ACAGCATGTATTCCGTTCTTAGAAAAACGATGACTCTAACCGTGCAATTGATGGGTGCGAAC
ACAGCATGTATTCCGTTCTTAGAAAAACGATGACTCTAACCGTGCAATTGATGGGTGCGAAC
***** * * *

revversAF325886/3--487

gi|74099891|gb|DQ120747.1|/1-485

ATGCA

gi|138248529|gb|EF173666.1|/162-646

ATGCA

1.6 VEDLEGG 6 - PRIMERE OG PROBE FOR RPOB

Alignment av stafylokokker *rpoB* med primere og TaqMan-probe

- S. epidermidis*: 27466918:301678-305229 Staphylococcus epidermidis ATCC 12228
- S. aureus*: 88193823:522160-525711 Staphylococcus aureus subsp. aureus NCTC 8325 chromosome, complete genome
- S. lugdunensis*: revers339893212:2393359-2396913 Staphylococcus lugdunensis N920143 complete genome
- S. hominis*: AHL01000047.1|:25264-28815 Staphylococcus hominis VCU122 contig00014
- S. haemolyticus*: 68445725:2465778-2469329 Staphylococcus haemolyticus JCS1435 DNA, complete genome

CLUSTAL O(1.2.1) multiple sequence alignment

EPIDERMIDIS1gi 138248515 gb EF173659.1 /171-646	TTATCTGCTCTAGGGCCTGGTGGATTAAACACGTGAACGTGCTCAAATGGAAGTCGTGAC	60
EPIDERMIDIS2gi 27466918:301678-305229/1453-1928	TTATCTGCTCTAGGGCCTGGTGGATTAAACACGTGAACGTGCTCAAATGGAAGTCGTGAC	60
SCHLEIFER1gi 74099891 gb DQ120747.1 /10-485	TTATCAGCTTTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCACAAATGGAAGTTCGTGAC	60
AUREUSgi 88193823:522160-525711/1453-1928	CTATCAGCATTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCTCAAATGGAAGTACGTGAC	60
HAEMOLYTICUSreversgi 68445725:2465778-2469329/1594-2069	CTTTCTGCATTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCTCAAATGGAAGTACGTGAC	60
CAPITISgi 74099855 gb DQ120729.1 /10-485	CTATCAGCATTAGGGCCTGGTGGTTTAACCTCGTGAACGTGCTCAAATGGAAGTACGTGAC	60
LUGDISrevers>gi 339893212:2393359-2396913/1453-1928	TTATCTGCGTTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCACAAATGGAAGTTCGTGAC	60
HOMINISgb AHL01000047.1 :25264-28815/1453-1928	CTTTCTGCTTTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCACAAATGGAAGTTCGTGAC	60
	* ** ** **** ***** ***** ***** ***** ***** *****	
EPIDERMIDIS1gi 138248515 gb EF173659.1 /171-646	GTTCACTACTCTCACTATGGCGGTATGTGTCCAATTGAAACACCTGAGGGTCCTAATATT	120
EPIDERMIDIS2gi 27466918:301678-305229/1453-1928	GTTCACTACTCTCACTATGGCGGTATGTGTCCAATTGAAACACCTGAGGGTCCTAATATT	120
SCHLEIFER1gi 74099891 gb DQ120747.1 /10-485	GTACACTATTCTCACTATGGTCGATGTGTCCAATTGAGACACGAGGGTCCAAACATT	120
AUREUSgi 88193823:522160-525711/1453-1928	GTTCACTACTCTCACTATGGCCGTATGTGTCCAATTGAAACACCTGAGGGACCAAAACATT	120
HAEMOLYTICUSreversgi 68445725:2465778-2469329/1594-2069	GTTCACTACTCTCACTATGGTCGATGTGTCCGATCGAGACTCCAGAGGGACCAAAACATT	120
CAPITISgi 74099855 gb DQ120729.1 /10-485	GTTCACTACTCACACTATGGTCGATGTGTCCAATTGAAACACGAGGGTCCAAATATT	120
LUGDISrevers>gi 339893212:2393359-2396913/1453-1928	GTGCATTATTCTCACTATGGCCGTATGTGTCCGATTGAAACACGAGGGTCCAAACATT	120
HOMINISgb AHL01000047.1 :25264-28815/1453-1928	GTACACTATTCTCACTATGGTCGATGTGTCCAATTGAAACACGAGGGACCAAAACATT	120
	** ** ** ** ***** ** ***** ** ** ** ** ***** ** ** ** *	

EPIDERMIDIS1gi 138248515 gb EF173659.1 /171-646	GGTTTAACTCACTTGTCAAGTTATGCTAGATTGAAATTTGGTTTATTGAAACG	180
EPIDERMIDIS2gi 27466918:301678-305229/1453-1928	GGTTTAACTCACTTGTCAAGTTATGCTAGATTGAAATTTGGTTTATTGAAACG	180
SCHLEIFER1gi 74099891 gb DQ120747.1 /10-485	GGTTGATCAACTCATTCAAGTTATGCACGTGTGAATGAATTTGGATTATTGAAACA	180
AUREUSgi 88193823:522160-525711/1453-1928	GGATTGATTAACCTCATTATCAAGTTATGCACGTGTAAATGAATTCGGCTTTATTGAAACA	180
HAEMOLYTICUSreversgi 68445725:2465778-2469329/1594-2069	GGTTTGATTAACCTCATTATCAAGTTATGCACGTGTGAATGAATTTGGTTTCATTGAAACA	180
CAPITISgi 74099855 gb DQ120729.1 /10-485	GGTTTAACTCACTTATCAAGTTATGCGCGAGTAAATGAATTTGGTTTCATCGAGACA	180
LUGDISrevers>gi 339893212:2393359-2396913/1453-1928	GGTTTGATTAACCTCATTATCAAGTTATGCGCGGTCAACGAGTTTGGCTTTATTGAAACG	180
HOMINISgb AHLD01000047.1 :25264-28815/1453-1928	GGTTTAACTCACTTATCTAGTTATGCACGTGTAAATGAATTTGGTTTATTGCGAAACA	180
	** ** ** ***** * ** ***** * ** ** ** **	
EPIDERMIDIS1gi 138248515 gb EF173659.1 /171-646	CCATATCGTAAAGTGGATTTAGATACAACTCAATCACTGATCAATAGATTATTTGACA	240
EPIDERMIDIS2gi 27466918:301678-305229/1453-1928	CCATATCGTAAAGTGGATTTAGATACAACTCAATCACTGATCAATAGATTATTTGACA	240
SCHLEIFER1gi 74099891 gb DQ120747.1 /10-485	CCATACAGAAAGTAGACCTTGAAACAAACACAAATTACAGACCGTATTGATTACCTTACT	240
AUREUSgi 88193823:522160-525711/1453-1928	CCATATCGTAAAGTTGATTAGATACACATGCTATCACTGATCAATGACTATTTAACA	240
HAEMOLYTICUSreversgi 68445725:2465778-2469329/1594-2069	CCATATCGTAAAGTAGACTTAGACACTAACTCTATTACAGATCAATCGACTACTTAACT	240
CAPITISgi 74099855 gb DQ120729.1 /10-485	CCGTATCGTAAAGTTGATTTAGATACGAACTCTATTACAGATCAATCGATTACTTAACT	240
LUGDISrevers>gi 339893212:2393359-2396913/1453-1928	CCCTATCGTAAAGTAGATATTGATACAAATGCAATCACAGATCAATGACTACTTAACT	240
HOMINISgb AHLD01000047.1 :25264-28815/1453-1928	CCATATCGTAAAGTAGATTGATACCAATTCAATTACTGATCAATGATTATTTAACT	240
	** ** * ***** ** * ** ** * ** ** * ** ** * ** *	
EPIDERMIDIS1gi 138248515 gb EF173659.1 /171-646	GCTGATGAAGAGGATAGCTACGTTGTTGCACAGGC TAATTC TAGACTTGATGAAATGGT	300
EPIDERMIDIS2gi 27466918:301678-305229/1453-1928	GCTGATGAAGAGGATAGTTACGTTGTTGCACAGGC TAATTC TAGACTTGATGAAATGGT	300
SCHLEIFER1gi 74099891 gb DQ120747.1 /10-485	GCGGATGAAGAGGACAGTTATGTTGTTGCGCAAGCGAACTCAAGACTTGATGAAACGGA	300
AUREUSgi 88193823:522160-525711/1453-1928	GCTGAGGAAGAGATAGCTATGTTGTAGCACAGCAACTCTAATTAGATGAAAAATGGT	300
HAEMOLYTICUSreversgi 68445725:2465778-2469329/1594-2069	GCTGATGAAGAGGATAGCTATGTTGTTGCCAAGCGAACTCTCGCTTAGATGAAAAATGGT	300
CAPITISgi 74099855 gb DQ120729.1 /10-485	GCTGATGAAGAGGATAGCTACGTAGTTGCCAAGCGCAACTCACGTTTAGACGAAAAATGGT	300
LUGDISrevers>gi 339893212:2393359-2396913/1453-1928	GCTGATGAAGAGGACAGTTATGTCGTTGCACAGCGAACTCTCGCTTAGATGAAAAATGGT	300
HOMINISgb AHLD01000047.1 :25264-28815/1453-1928	GCTGATGAAGAGGATAGCTATGTTGTCACAGCAATTCCTCGTTTAGATGAAAAATGGT	300
	** ** ***** ** ** ** **	
EPIDERMIDIS1gi 138248515 gb EF173659.1 /171-646	CGTTTCTTAGATGAAGTTGTTGTCGTTCCGTGGTAAATAACACTGTTATGGCTAAA	360
EPIDERMIDIS2gi 27466918:301678-305229/1453-1928	CGTTTCTTAGATGAAGTTGTTGTCGTTCCGTGGTAAATAACACTGTTATGGCTAAA	360
SCHLEIFER1gi 74099891 gb DQ120747.1 /10-485	CGCTTTATCGATGACGAAATCGTTGTCGTTTCGTGGTAAACAACAACACTATGGCTAAA	360
AUREUSgi 88193823:522160-525711/1453-1928	CGTTTCTAGATGAAGTTGTTGTCGTTTCGTGGTAAACAATACAGTTATGGCTAAA	360
HAEMOLYTICUSreversgi 68445725:2465778-2469329/1594-2069	CGTTTCTTAGATGAAGTTGTCGTTTCGTGGTAAATAACACTGTTATGGCTAAA	360
CAPITISgi 74099855 gb DQ120729.1 /10-485	CGTTTCTTAGATGACGAGTTGTTGTCGTTCCGTGGTAAATAACACTGTTATGGCGAAA	360
LUGDISrevers>gi 339893212:2393359-2396913/1453-1928	CGTTTCTTAGATGAAGTAGTATGCCGTTCCGCGGTAAATAACTGTTATGGCTAAA	360
HOMINISgb AHLD01000047.1 :25264-28815/1453-1928	CGTTTCTTAGATGAAGTGGTATGTCGTTCCGTGGTAAACAACACTGTTATGGCAAAA	360
	** ** * ***** ** * ** ** * ** ** * ** ** * ** *	

[illegible]

1.7 VEDLEGG 7 - ALIGNMENT AV ALLE STAFYLOKOKKER FOR SODA

Alignment av sodA i Clustal Omega

1.7.1 Staphylococcus epidermidis.

CP000029.1|1158272-1158871 Staphylococcus epidermidis RP62A, complete genomerevers. 896456876:49354-49953 Staphylococcus epidermidis strain 801 SEPI 279 149622 6290847, whole genome shotgun sequence

[illegible]

gi 18378720 gb AF462457.1 /181-609	GACAAAGCTGCAGCTGTTTGGTTGAGTTGGGCTTGGTTAGTTGTTAATATGGTCAA
gi 1896456876 : 49354 - 49953 / 52 - 480	GATAAAGCTGCAGCAGCTTTGGTTCAGGATGGGCTTGGTTAGTTGTA AACCAATGGACAA
RP62Arevers / 52 - 480	GATAAAGCTGCAGCAGCTTTGGTTCAGGATGGGCTTGGTTAGTTGTA AACCAATGGACAA
gi 15825380 gb AF410177.1 /306-734	GATAAAGCTGCAGCAGCTTTGGTTCAGGATGGGCTTGGTTAGTTGTA AACCAATGGACAA
gi 18077071 emb AJ343947.1 /1-429	GATAAAGCTGCAGCAGCTTTGGTTCAGGATGGGCTTGGTTAGTTGTA AACCAATGGACAA
gi 18077069 emb AJ343946.1 /1-429	GATAAAGCTGCAGCAGCTTTGGTTCAGGATGGGCTTGGTTAGTTGTA AACCAATGGACAA
gi 198404327 gb EU652774.1 /4-432	GATAAAGCTGCAGCAGCTTTGGTTCAGGATGGGCTTGGTTAGTTGTA AACCAATGGACAA
gi 18076995 emb AJ343906.1 /1-429	GATAAAGCTGCAGCAGCTTTGGTTCAGGATGGGCTTGGTTAGTTGTA AACCAATGGACAA
gi 18077073 emb AJ343948.1 /1-429	** ***** ** ***** ***** ***** ***** ***** ***** ***** ***** *****
gi 18378720 gb AF462457.1 /181-609	TTAGAAATCGTTACAACTCCAAACCAAGATAAACCCATTAACTGAAGGTA AACACCTATC
gi 1896456876 : 49354 - 49953 / 52 - 480	TTAGAAATGTTTACAAACCAACCAATCAAGATAATCCAATTACTGAAGGTA AACACCAAT
RP62Arevers / 52 - 480	TTAGAAATGTTTACAAACCAACCAATCAAGATAATCCAATTACTGAAGGTA AACACCAAT
gi 15825380 gb AF410177.1 /306-734	TTAGAAATGTTTACAAACCAACCAATCAAGATAATCCAATTACTGAAGGTA AACACCAAT
gi 18077071 emb AJ343947.1 /1-429	TTAGAAATGTTTACAAACCAACCAATCAAGATAATCCAATTACTGAAGGTA AACACCAAT
gi 18077069 emb AJ343946.1 /1-429	TTAGAAATGTTTACAAACCAACCAATCAAGATAATCCAATTACTGAAGGTA AACACCAAT
gi 198404327 gb EU652774.1 /4-432	TTAGAAATGTTTACAAACCAACCAATCAAGATAATCCAATTACTGAAGGTA AACACCAAT
gi 18076995 emb AJ343906.1 /1-429	TTAGAAATGTTTACAAACCAACCAATCAAGATAATCCAATTACTGAAGGTA AACACCAAT
gi 18077073 emb AJ343948.1 /1-429	TTAGAAATGTTTACAAACCAACCAATCAAGATAATCCAATTACTGAAGGTA AACACCAAT
	***** ***** ***** ***** ***** ***** ***** ***** ***** *****
gi 18378720 gb AF462457.1 /181-609	CTAGGCTTA
gi 1896456876 : 49354 - 49953 / 52 - 480	TTAGGTTTA
RP62Arevers / 52 - 480	TTAGGTTTA
gi 15825380 gb AF410177.1 /306-734	TTAGGTTTA
gi 18077071 emb AJ343947.1 /1-429	TTAGGTTTA
gi 18077069 emb AJ343946.1 /1-429	TTAGGTTTA
gi 198404327 gb EU652774.1 /4-432	TTAGGTTTA
gi 18076995 emb AJ343906.1 /1-429	TTAGGTTTA
gi 18077073 emb AJ343948.1 /1-429	TTAGGTTTA
	**** *

1.7.2 Staphylococcus hominis

Fjerner ACLP01000030.1 | :176657-177259 Staphylococcus hominis SK119, siden den er så ulik.
484267108:172788-173390 Staphylococcus hominis subsp. hominis ZBW5 Contig_118, whole genome shotgun sequence

gi 18077005 emb AJ343911.1	-----CATATCGAC
gi 18077007 emb AJ343912.1	-----CATATCGAC
gi 484267108 : 172788 - 173390	ATGGCTTTGAATTACCAAAATTTACCATATGCAGCAGATGCATTAGAACCATATCGAC *****
gi 18077005 emb AJ343911.1	AAAGAAACAATGGAAATTCATCATGACAACATCATAACTTATGTTACAAAAATTAAC
gi 18077007 emb AJ343912.1	AAAGAAACAATGGAAATTCATCATGACAACATCATAACTTATGTTACAAAAATTAAT
gi 484267108 : 172788 - 173390	AAAGAAACAATGGAAATTCATCATGACAACATCATAACTTATGTTACAAAAATTAAT *****

gi 18077005 emb AJ343911.1	TCTGCAGTTGAAGGTACTGATTTAGAACTCTAAATCAATTGAAGAAATTTGTTGCAAAATTTA
gi 18077007 emb AJ343912.1	TCTGCAGTTGAAGGTACTGATTTAGAACTCTAAATCAATTGAAGAAATTTGTTGCAAAATTTA
gi 484267108 : 172788 - 173390	TCTGCAGTTGAAGGTACTGATTTAGAACTCTAAATCAATTGAAGAAATTTGTTGCAAAATTTA *****
gi 18077005 emb AJ343911.1	GATAGTGTATCTGAAATAATTCAAACAGCAGTACGTAATAATGGTGGAGGTCATTTAAAT
gi 18077007 emb AJ343912.1	GATAGTGTACCTGAAATATTCAAACAGCAGTACGTAATAATGGTGGAGGTCATTTAAAT
gi 484267108 : 172788 - 173390	GATAGTGTACCTGAAATAATTCAAACAGCAGTACGTAATAATGGTGGAGGTCATTTAAAT *****
gi 18077005 emb AJ343911.1	CACCTATTATCTGGGAATTTAACTCCTAAATCTGAAGAAAAAGGTACTGTAGTTGAT
gi 18077007 emb AJ343912.1	CACCTATTATCTGGGAATTTAACTCCTAAATCTGAAGAAAAAGGTACTGTAGTTGAT
gi 484267108 : 172788 - 173390	CACCTATTATCTGGGAATTTAACTCCTAAATCTGAAGAAAAAGGTACTGTAGTTGAT *****
gi 18077005 emb AJ343911.1	AAAAATTAAGAACAAATGGGGTTCTTTAGATGAGTTTAAAAAAGAAATTCGCTGATAAAGCT
gi 18077007 emb AJ343912.1	AAAAATTAAGAACAAATGGGGTTCTTTAGATGAGTTTAAAAAAGAAATTCGCTGATAAAGCT
gi 484267108 : 172788 - 173390	AAAAATTAAGAACAAATGGGGTTCTTTAGATGAGTTTAAAAAAGAAATTCGCTGATAAAGCT *****
gi 18077005 emb AJ343911.1	GCAGCACGTTTGGTTTCAGGTTGGGCTTGGTTAGTAGTAAATAAATGGAAAAATTTAGAAAT
gi 18077007 emb AJ343912.1	GCAGCACGTTTGGTTTCAGGTTGGGCTTGGTTAGTAGTAAATAAATGGAAAAATTTAGAAAT
gi 484267108 : 172788 - 173390	GCAGCACGTTTGGTTTCAGGTTGGGCTTGGTTAGTAGTAAATAAATGGAAAAATTTAGAAAT *****
gi 18077005 emb AJ343911.1	GTTACTACTCCAAATCAAGATAACCCCTATTACTGAAGGAAAAAACCCTCAATTTTAGGCTTA
gi 18077007 emb AJ343912.1	GTTACTACTCCAAATCAAGATAACCCCTATTACTGAAGGAAAAAACCCTCAATTTTAGGCTTA
gi 484267108 : 172788 - 173390	GTTACTACTCCAAATCAAGATAACCCCTATTACTGAAGGAAAAAACCCTCAATTTTAGGCTTA *****
gi 18077005 emb AJ343911.1	-----
gi 18077007 emb AJ343912.1	-----
gi 484267108 : 172788 - 173390	GATGTTGGGAACATGCTTATTACCTTAAATATCAAAATAAACCGTCCTGATTATATCAGT -----
gi 18077005 emb AJ343911.1	-----
gi 18077007 emb AJ343912.1	-----
gi 484267108 : 172788 - 173390	GCTTCTTGGAAATGTTGTAATTTGGGAAAAAGTAGACGAGTTTATACAATGCTGCTACAAAA ---
gi 18077005 emb AJ343911.1	---
gi 18077007 emb AJ343912.1	---
gi 484267108 : 172788 - 173390	TAA

1.7.3 Staphylococcus haemolyticus

68445725:1397018-1397548 Staphylococcus haemolyticus JCSI435 DNA, complete genome
CP011116.1|:1317379-1317978 Staphylococcus haemolyticus strain Sh29/312/L2, complete genome

gi 68445725:1397018-1397548	-----
gi 198404329 gb EU652775.1	-----CCACACATTGAC
gi 18077003 emb AJ343910.1	-----CACATTGAC
gb CP011116.1 :1317379-1317978	ATGGCTTTTGAATTACCAAAATTACCATATGCAACAGATGCATTAGAACCACACATTGAC
gi 68445725:1397018-1397548	-----ATGGAATCCATCATGCAAAACACCACACACGATGTTACCAAATTAAT
gi 198404329 gb EU652775.1	AAACAACTATGGAATCCATCATGCAAAACACCACACACGATGTTACCAAATTAAT
gi 18077003 emb AJ343910.1	AAACAACTATGGAATCCATCATGCAAAACACCACACACGATGTTACCAAATTAAT
gb CP011116.1 :1317379-1317978	AAACAACTATGGAATCCATCATGCAAAACACCACACACGATGTTACCAAATTAAT *****
gi 68445725:1397018-1397548	TCTGCAGTTGAGGGAACAGATCTTGAATCTAAATCAATTGAAGAAATGTTGCTAATTTA
gi 198404329 gb EU652775.1	TCTGCAGTTGAGGGAACAGATCTTGAATCTAAATCAATTGAAGAAATGTTGCTAATTTA
gi 18077003 emb AJ343910.1	TCTGCAGTTGAGGGAACAGATCTTGAATCTAAATCAATTGAAGAAATGTTGCTAATTTA
gb CP011116.1 :1317379-1317978	TCTGCAGTTGAGGGAACAGATCTTGAATCTAAATCAATTGAAGAAATGTTGCTAATTTA *****
gi 68445725:1397018-1397548	GATAGTGACCTGAAGATATTCAACACAGCTGTTCGTAATAATGGTGGCGGACACTTAAAT
gi 198404329 gb EU652775.1	GATAGTGACCTGAAGATATTCAACACAGCTGTTCGTAATAATGGTGGCGGACACTTAAAT
gi 18077003 emb AJ343910.1	GATAGTGACCTGAAGATATTCAACACAGCTGTTCGTAATAATGGTGGCGGACACTTAAAT
gb CP011116.1 :1317379-1317978	GATAGTGACCTGAAGATATTCAACACAGCTGTTCGTAATAATGGTGGCGGACACTTAAAT *****
gi 68445725:1397018-1397548	CACTCATTATTCTGGGAATTATTAACTCCTTAATTCGAAGAAAAAGGTACTGTTGTTGAT
gi 198404329 gb EU652775.1	CACTCATTATTCTGGGAATTATTAACTCCTTAATTCGAAGAAAAAGGTACTGTTGTTGAT
gi 18077003 emb AJ343910.1	CACTCATTATTCTGGGAATTATTAACTCCTTAATTCGAAGAAAAAGGTACTGTTGTTGAT
gb CP011116.1 :1317379-1317978	CACTCATTATTCTGGGAATTATTAACTCCTTAATTCGAAGAAAAAGGTACTGTTGTTGAT *****
gi 68445725:1397018-1397548	AAAAATCAAGAACAATGGGGCTCTTTAGATGAATTCAAAAAGAATTCGCTGACAAAGCA
gi 198404329 gb EU652775.1	AAAAATCAAGAACAATGGGGCTCTTTAGATGAATTCAAAAAGAATTCGCTGACAAAGCA
gi 18077003 emb AJ343910.1	AAAAATCAAGAACAATGGGGCTCTTTAGATGAATTCAAAAAGAATTCGCTGACAAAGCA
gb CP011116.1 :1317379-1317978	AAAAATCAAGAACAATGGGGCTCTTTAGATGAATTCAAAAAGAATTCGCTGACAAAGCA *****
gi 68445725:1397018-1397548	GCAGCTCGTTTCGGTTCAGGTTGGGCATGGTTAGTAGTTAACAAATGGTCAGTTAGAAATT
gi 198404329 gb EU652775.1	GCAGCTCGTTTCGGTTCAGGTTGGGCATGGTTAGTAGTTAACAAATGGTCAGTTAGAAATT
gi 18077003 emb AJ343910.1	GCAGCTCGTTTCGGTTCAGGTTGGGCATGGTTAGTAGTTAACAAATGGTCAGTTAGAAATT
gb CP011116.1 :1317379-1317978	GCAGCTCGTTTCGGTTCAGGTTGGGCATGGTTAGTAGTTAACAAATGGTCAGTTAGAAATT *****

gi 68445725 1397018 - 1397548	GTTACTACACCTAACCAAGATAACCCATTAAACGGAAGGTAAACACACCTATCTTAGGTTTA
gi 198404329 gb EU652775.1	GTTACTACACCTAACCAAGATAACCCATTAAACGGAAGGTAAACACACCTATCTTAGGTTTA
gi 18077003 emb AJ343910.1	GTTACTACACCTAACCAAGATAACCCATTAAACGGAAGGTAAACACACCTATCTTAGGTTTA
gb CP011116.1 :1317379 - 1317978	GTTACTACACCTAACCAAGATAACCCATTAAACGGAAGGTAAACACACCTATCTTAGGTTTA *****
gi 68445725 1397018 - 1397548	GATGTTTGGGAACACGCATATTACCTTAAATATCAAAACAAACGTCAGATTATATTAGT
gi 198404329 gb EU652775.1	GA-----
gi 18077003 emb AJ343910.1	-----
gb CP011116.1 :1317379 - 1317978	GATGTTTGGGAACACGCATATTACCTTAAATATCAAAACAAACGTCAGATTATATTAGT

1.7.4 Staphylococcus capitis.

FJERNER 836648963:888112-888711 Staphylococcus capitis subsp. capitis strain AYP1020, complete genome fordi den er helt ulik.

gi 18077059 emb AJ343941.1	CACATTGATAAACAAACTATGGAATTCACCATGACAAACACCATAAACACATATGTAAC
gi 18076975 emb AJ343896.1	CACATTGATAAACAAACTATGGAATTCACCATGACAAACACCATAAACACATATGTAAC
gi 18077057 emb AJ343940.1	CACATTGATAAACAAACTATGGAATTCACCATGACAAACACCATAAACACATATGTAAC *****
gi 18077059 emb AJ343941.1	AAATTAAACTCAGCAGTTGAAGGAACAGATTTAGAAGCTAAATCAATCGAAGAAATTTGTT
gi 18076975 emb AJ343896.1	AAATTAAACTCAGCAGTTGAAGGAACAGATTTAGAAGCTAAATCAATCGAAGAAATTTGTT
gi 18077057 emb AJ343940.1	AAATTAAACTCAGCAGTTGAAGGAACAGATTTAGAAGCTAAATCAATCGAAGAAATTTGTT *****
gi 18077059 emb AJ343941.1	GCTAATTTAGATAGCGTACCTTCAGATATTCAAACTGCAGTACGTAATAATGGTGGCGGT
gi 18076975 emb AJ343896.1	GCTAATTTAGATAGCGTACCTTCAGATATTCAAACTGCAGTACGTAATAATGGTGGCGGT
gi 18077057 emb AJ343940.1	GCTAATTTAGATAGCGTACCTTCAGATATTCAAACTGCAGTACGTAATAATGGTGGCGGT *****
gi 18077059 emb AJ343941.1	CACTTAAACCACTCATTATTCTGGGAATTATTATCACCAAAATCTGAAGAAAAAGGTGAA
gi 18076975 emb AJ343896.1	CACTTAAACCACTCATTATTCTGGGAATTATTATCACCAAAATCTGAAGAAAAAGGTGAA
gi 18077057 emb AJ343940.1	CACTTAAACCACTCATTATTCTGGGAATTATTATCACCAAAATCTGAAGAAAAAGGTGAA *****
gi 18077059 emb AJ343941.1	GTAGTAGACAAAAATTAAGAACAAATGGGGTCTTTAGATGAATTCAAAAAGAAATTTGCA
gi 18076975 emb AJ343896.1	GTAGTAGACAAAAATTAAGAACAAATGGGGTCTTTAGATGAATTCAAAAAGAAATTTGCA
gi 18077057 emb AJ343940.1	GTAGTAGACAAAAATTAAGAACAAATGGGGTCTTTAGATGAATTCAAAAAGAAATTTGCA *****
gi 18077059 emb AJ343941.1	GATAAAGCTGCTGCACGCTTTGGATCTGGTTGGGCATGGTTAGTAGTAAATAACGGTCAA
gi 18076975 emb AJ343896.1	GATAAAGCTGCTGCACGCTTTGGATCTGGTTGGGCATGGTTAGTAGTAAATAACGGTCAA
gi 18077057 emb AJ343940.1	GATAAAGCTGCTGCACGCTTTGGATCTGGTTGGGCATGGTTAGTAGTAAATAACGGTCAA *****

gi 18077059 emb A343941.1	TTAGAAATCGTTACTCTCAAAACCAAGATAACCCATTAACTGAAGGTAAAACTCCAATC
gi 18076975 emb A343896.1	TTAGAAATCGTTACTCTCAAAACCAAGATAACCCATTAACTGAAGGTAAAACTCCAATC
gi 18077057 emb A343940.1	TTAGAAATCGTTACTCTCAAAACCAAGATAACCCATTAACTGAAGGTAAAACTCCAATC *****
gi 18077059 emb A343941.1	TTAGGTTTA
gi 18076975 emb A343896.1	TTAGGTTTA
gi 18077057 emb A343940.1	TTAGGTTTA *****

1.7.5 Staphylococcus lugdunensis

319430684:266230-266832 Staphylococcus lugdunensis M23590 genomic scaffold SCAFFOLD1, whole genome shotgun sequence

418635264:11711-12313 Staphylococcus lugdunensis VCU139 contig0016, whole genome shotgun sequence

gi 319430684 : 266230 - 266832	ATGGCTTTTGAATTACCAAAATTACCATATGAAGCAGATGCATTAGAACCCACATATTGAT
gi 18077081 emb A343952.1	-----CATATTGAT
gi 18077017 emb A343917.1	-----CATATTGAT
gi 418635264 : 11711 - 12313	ATGGCTTTTGAATTACCAAAATTACCATATGAAGCAGATGCATTAGAACCCACATATTGAT *****

gi 319430684 : 266230 - 266832	AAAGAAACAATGGAATCCATCATGATAAACCACTAATACGTCATGTGACTAAATTTAAAT
gi 18077081 emb A343952.1	AAAGAACCAATGGAATCCATCATGATAAACCATCATACGTCATGTGACTAAATTTAAAT
gi 18077017 emb A343917.1	AAAGAAACAATGGAATCCATCATGATAAACCATCATAACTGTCATGTGACTAAATTTAAAT
gi 418635264 : 11711 - 12313	AAAGAAACAATGGAATCCATCATGATAAACCATCATAACTGTCATGTGACTAAATTTAAAT *****
gi 319430684 : 266230 - 266832	TCTGCAGTTGAAGGTACAGACTTAGAGCTTAAATCTATTGAGGAAATTAATTCGTAATTTA
gi 18077081 emb A343952.1	TCTGCAGTTGAAGGTACAGACTTAGAGCTTAAATCTATTGAGGAAATTAATTCGCAATTTA
gi 18077017 emb A343917.1	TCTGCAGTTGAAGGTACAGACTTAGAGCTTAAATCTATTGAGGAAATTAATTCGCAATTTA
gi 418635264 : 11711 - 12313	TCTGCAGTTGAAGGTACAGACTTAGAGCTTAAATCTATTGAGGAAATTAATTCGCAATTTA *****

gi 319430684 : 266230 - 266832	GATAGCGTTCTGAAACAATCAAAACAGCTGTACGTAATAATGGTGGGACACTTAAAC
gi 18077081 emb A343952.1	GATAGCGTTCTGAAACAATCAAAACAGCTGTACGTAATAATGGTGGGACACTTAAAC
gi 18077017 emb A343917.1	GATAGCGTTCTGAAACAATCAAAACAGCTGTACGTAATAATGGTGGGACACTTAAAC
gi 418635264 : 11711 - 12313	GATAGCGTTCTGAAACAATCAAAACAGCTGTACGTAATAATGGTGGGACACTTAAAC *****

gi 319430684 : 266230 - 266832	CATTCACTATTCTGGGAATTTTAACTCTCTAATTTCTGAAGAAAAAGGTACTGTAGTTGAT
gi 18077081 emb A343952.1	CATTCACTATTCTGGGAATTTTAACTCTCTAATTTCTGAAGAAAAAGGTACTGTAGTTGAT
gi 18077017 emb A343917.1	CATTCACTATTCTGGGAATTTTAACTCTCTAATTTCTGAAGAAAAAGGTACTGTAGTTGAT
gi 418635264 : 11711 - 12313	CATTCACTATTCTGGGAATTTTAACTCTCTAATTTCTGAAGAAAAAGGTACTGTAGTTGAT *****

gi 319430684 : 266230 - 266832	AAAAATTAAGAAACAATGGGGTCTTTTAGATGAATTCGAAGAAAGAAATTCGCTGACAAAGCT
gi 18077081 emb A343952.1	AAAAATTAAGAAACAATGGGGTCTTTTAGATGAATTCGAAGAAAGAAATTCGCTGACAAAGCT
gi 18077017 emb A343917.1	AAAAATTAAGAAACAATGGGGTCTTTTAGATGAATTCGAAGAAAGAAATTCGCTGACAAAGCT
gi 418635264 : 11711 - 12313	AAAAATTAAGAAACAATGGGGTCTTTTAGATGAATTCGAAGAAAGAAATTCGCTGACAAAGCT *****

gi 319430684 : 266230 - 266832	GCAGGTGCTTTTGGTTTGGTTTGGGTCATGGTTAGTTGTAATAACGGTAAATTAGAAATT
gi 18077081 emb A3343952.1	GCAGGTGCTTTTGGTTTGGTTTGGGTCATGGTTAGTTGTTAAATAACGGTAAATTAGAAATT
gi 18077017 emb A3343917.1	GCAGGTGCTTTTGGTTTGGTTTGGGTCATGGTTAGTTGTTAAATAACGGTAAATTAGAAATT
gi 418635264 : 11711 - 12313	GCAGGTGCTTTTGGTTTGGGTCATGGTTAGTTGTAATAACGGTAAATTAGAAATT

gi 319430684 : 266230 - 266832	GTTACAACGCCTAACCAAGACAACCCATTAACTGAAGGAAAAACACCTATCTTATGTATA
gi 18077081 emb A3343952.1	GTTACAACGCCTAACCAAGACAACCCATTAACTGAAGGAAAAACACCTATCTTATGTATA
gi 18077017 emb A3343917.1	GTTACAACGCCTAACCAAGACAACCCATTAACTGAAGGAAAAACACCTATCTTATGTATA
gi 418635264 : 11711 - 12313	GTTACAACGCCTAACCAAGACAACCCATTAACTGAAGGAAAAACACCTATCTTATGTATA

1.7.6 Staphylococcus schleiferi

gi 18077037 emb A3343927.1	-CACATTGATAAAGAAACAATGGTGCTACATCATGACAAACATCATATACTACGTATGTAAC
gi 296045629 gb GU930729.1	ACACATTGACAAAGAAACAATGGTGCTACATCATGACAAACATCATATACTACGTATGTAAC
gi 18077087 emb A3343955.1	-CACATTGACAAAGAAACAATGGTGCTACATCATGACAAACATCATATACTACGTATGTAAC
gi 18077035 emb A3343926.1	-CACATTGACAAAGAAACAATGGTGCTACATCATGACAAACATCATATACTACGTATGTAAC

gi 18077037 emb A3343927.1	AAAGTTAAACGCAGCAGTTGAAGGTACAGATTTAGAAGATAAATCTATTGAAGATTTAAT
gi 296045629 gb GU930729.1	AAAGTTAAACGCAGCAGTTGAAGGTACAGATTTAGAAGATAAATCTATTGAAGATTTAAT
gi 18077087 emb A3343955.1	AAAGTTAAACGCAGCAGTTGAAGGTACAGATTTAGAAGATAAATCTATTGAAGATTTAAT
gi 18077035 emb A3343926.1	AAAGTTAAACGCAGCAGTTGAAGGTACAGATTTAGAAGATAAATCTATTGAAGATTTAAT

gi 18077037 emb A3343927.1	TGCTAAATTTAGATAGTGTACCTGAAGATAAACGTACTGCAGTTCGTAATAATGGTGGTGG
gi 296045629 gb GU930729.1	TGCTAAATTTAGACAGTGTACCTGAAGATAAACGTACTGCAGTTCGTAATAATGGTGGTGG
gi 18077087 emb A3343955.1	TGCTAAATTTAGACAGTGTACCTGAAGATAAACGTACTGCAGTTCGTAATAATGGTGGTGG
gi 18077035 emb A3343926.1	TGCTAAATTTAGACAGTGTCCCTGAAGATAAACGTACTGCAGTTCGTAATAATGGTGGTGG

gi 18077037 emb A3343927.1	ACACTTAAACCACTCATTTTCTGGCAAATTTATTCACCTAACTCAGAAGAAAAAGGTGA
gi 296045629 gb GU930729.1	ACACTTAAACCACTCATTTTCTGGCAAATTTATTCACCTAACTCAGAAGAAAAAGGTGA
gi 18077087 emb A3343955.1	ACACTTAAACCACTCATTTTCTGGCAAATTTATTCACCTAACTCAGAAGAAAAAGGTGA
gi 18077035 emb A3343926.1	ACACTTAAACCACTCATTTTCTGGCAAATTTATTCACCTAACTCAGAAGAAAAAGGTGA

gi 18077037 emb A3343927.1	AGTTGTAGATAAAATTAAGAACAATGGGGTCTTTAGATGCATTCAAAAAAGAATTTGC
gi 296045629 gb GU930729.1	AGTTGTAGATAAAATTAAGAACAATGGGGTCTTTAGATGCATTCAAAAAAGAATTTGC
gi 18077087 emb A3343955.1	AGTTGTAGATAAAATTAAGAACAATGGGGTCTTTAGATGCATTCAAAAAAGAATTTGC
gi 18077035 emb A3343926.1	AGTTGTAGATAAAATTAAGAACAATGGGGTCTTTAGATGCATTCAAAAAAGAATTTGC

gi 18077037 emb A3343927.1	TGAAAAAGCTGCAGGTCAATTTGGTTTCAGGTTCGGGCATGGTTAGTAGTGAATAATGGTCA
gi 296045629 gb GU930729.1	TGATAAAGCTGCAGGTCAATTTGGTTTCAGGTTCGGGCATGGTTAGTAGTGAATAATGGTCA
gi 18077087 emb A3343955.1	TGATAAAGCTGCAGGTCAATTTGGTTTCAGGTTCGGGCATGGTTAGTAGTGAATAATGGTCA
gi 18077035 emb A3343926.1	TGATAAAGCTGCAGGTCAATTTGGTTTCAGGTTCGGGCATGGTTAGTAGTGAATAATGGTCA

gi 18077037 emb A3343927.1	ATTAGAAATCGTAAGCACTCCTAACCAAGATAGTCCACTTAATGCGCAAACTCCAAT
gi 296045629 gb GU930729.1	ATTAGAAATCGTAAGCACTCCTAACCAAGATAGTCCACTTAATGCGCAAACTCCAAT
gi 18077087 emb A3343955.1	ATTAGAAATCGTAAGCACTCCTAACCAAGATAGTCCACTTAATGCGCAAACTCCAAT
gi 18077035 emb A3343926.1	ATTAGAAATCGTAAGCACTCCTAACCAAGATAGTCCACTTAATGCGCAAACTCCAAT

gi 18077037 emb A3343927.1	TTTAAACTTA
gi 296045629 gb GU930729.1	TTTAAACT--
gi 18077087 emb A3343955.1	TTTAAACTTA
gi 18077035 emb A3343926.1	TTTAAACTTA

1.7.7 Staphylococcus aureus.

Snudd: 88193823:1567139-1567738 mangan Staphylococcus aureus subsp. aureus NCTC 8325 chromosome, complete

snudd,	ATGGCTTTTGAATTACCAAAATTACCATACGCATTGTGATGCAATTAGAACCCACATTTTGAC
gi 198404325 gb EU652773.1	-----CCATATATAGAT
gi 40287249 gb AY485192.1	-----GCGTATGACGCGCTGGAGCCATATAGAT
gi 238836469 gb GQ141074.1	-----TATAGAT
	* * *
snudd,	AAAGAACTATGGAAATTCACCATGACAGACATCATAAACGATGTTACGAAATTTAAAT
gi 198404325 gb EU652773.1	CAAGAACAATGGAGTTTCATCACGACAAACATCACAAATACGTCGTGACGAAATTTAAAC
gi 40287249 gb AY485192.1	CAAGAACAATGGAGTTTCATCACGACAAACATCACAAATACGTCGTGACGAAATTTAAAC
gi 238836469 gb GQ141074.1	CAAGAACAATGGAGTTTCATCACGATAAACATCAATACCTTACGTCGTGACGAAATTTAAAC
	** *** ***** * * * * *
snudd,	GCTGCAGTAGAAGGTACAGATTTAGAATCTAAATCTATTGAAGAAATTTGTTGCTAATTTA
gi 198404325 gb EU652773.1	GCAACAGTTGAAGGAACAGAGTTAGAGCATCAATCACTAGCGGATATGTTGCTAACTTA
gi 40287249 gb AY485192.1	GCAACAGTTGAAGGAACAGAGTTAGAGCATCAATCACTAGCGGATATGTTGCTAACTTA
gi 238836469 gb GQ141074.1	GCAACAGTTGAAGGAACAGACTTAGAGCATCAATCACTAGCGGATATGATTGCTAACTTA
	** **** ***** * * * * *
snudd,	GACAGTGTACCAGCTAACAATCCAACCTGCTGTACGTAATAATGCGGTTGGACATTTAAAC
gi 198404325 gb EU652773.1	GACAAGGTACCGAAGCGATGAGGATGTCAGTCCGTAAATAATGCGGTTGGTCAATTTAAAC
gi 40287249 gb AY485192.1	GACAAGGTACCGAAGCGATGAGGATGTCAGTCCGTAAATAATGCGGTTGGTCAATTTAAAC
gi 238836469 gb GQ141074.1	GACAAGTACCGAAGAGATGAGGATGTCAGTCCGTAAATAATGCGGTTGGTCAATTTAAAC
	**** ***** * * * * *
snudd,	CATTCAATTATCTGGGAGTTACTTTCCACCAAACTCAGAAGAAAAGGTACTGTAGTAGAA
gi 198404325 gb EU652773.1	CATTCAATTATCTGGGAAATACTATCACCTAAATCTGAAGAAAAAGGTGGCGTAATAGAT
gi 40287249 gb AY485192.1	CATTCAATTATCTGGGAAATACTATCACCTAAATCTGAAGAAAAAGGTGGCGTAATAGAT
gi 238836469 gb GQ141074.1	CATTCAATTATCTGGGAAATACTTTCCACCTAAATCTGAAGAAAAAGGTGGCGTAATCGAT
	***** ***** * * * * *

snudd, gi 198404325 gb EU652773.1 gi 40287249 gb AY485192.1 gi 238836469 gb GQ141074.1	AAAAATAAGAACAAATGGGGTCTTTAGAAGAATTTAAAAAGAAATTTGCTGACAAAGCA GACATCAAAAGCGCAGTGGGGCATTTAGATGAATTTAAAAATGAATTTGCAAAATAAGCA GACATCAAAAGCGCAGTGGGCACCTTAGATGAATTTAAAAATGAATTTGCAAAATAAGCA GACATCAAAAGCGCAGTGGGGCACCTTAGATGAGTTTAAAACTGAAATTTGCAAAATAAGGCT * ** **** * ** **** * ** **** * ** **** * ** **** * ** **** * ** ****
	GCTGCACGCTTTGGTTCAGGTTGGGCTTGGTTAGTCGTAACAATGGCCAGTTAGAAATTT ACAACATTATTTGGATCAGGTTGGACTTGGTTAGTTGTTAATGATGGCAAAATTAGAAATTT ACAACATTATTTGGATCAGGTTGGACTTGGTTAGTTGTTAATGATGGCAAAATTAGAAATTT ACAACATTATTTGGATCAGGTTGGACATGGTTAGTAGTAACAATGGCAAAATTAGAAATC * ** **** * ** **** * ** **** * ** **** * ** **** * ** **** * ** ****
	GTGACTACACCAAAACAGATAATCCATTAACTGAGGTTAAACACACCTATTTTAGGTTTAA GTGACAAGGCCAAACAGATAATCCATTAAACAGAAGCAAAACACCAATCTTACTATTT GTGACAAGGCCAAACAAAGATAATCCATTAAACAGAAGCAAAA----- GTA----- **

1.8 VEDLEGG 8 – PRIMERE OG PROBE FOR SODA

soda alignment av stafylokokker med primere og TaqManprobe

S. epidermidis: EU652774.1 | /4-432
S. haemolyticus: EU652775
S. hominis: AJ343912

AUREUSgi 40287249 gb AY485192.1 /22-433 SCHLEIFERgi 18077087 emb AJ343955.1 /1-412 EPIDERMIDIS /4-415 CAPITISgi 18077059 emb AJ343941.1 /1-412 HAEMOLYTICUS /4-415 LUGDISgi 18077017 emb AJ343917.1 /1-412 HOMINIS /1-412	TATATAGATCAAGAACAATGGAGTTTCATCAGCACAACATCACAATACGTACGTGACG CACATTTGACAAAGAAACAATGGTGCTACATCATGACAAACATCATATACGTATGTAACA CACATCGACAAACAACATATGGAATTCATCATGACAAACATATAACACATATGTTACA CACATTTGATAAACAACATATGGAATTCACCATGACAAACACCACACATATGTAACCT CACATTTGACAAACAACATATGGAATTCATCATGACAAACACCACACCGTATGTTACC CATATTTGATAAAGAAACAATGGAATCCATCATGATAAACATCATAATACGTATGTGACT CATATCGACAAAGAAACAATGGAATTCATCATGACAAACATCATAACACTTATGTTACA * ** ** * ** **** * ** ** * ** **** * ** **** * ** **** * ** ****	60 60 60 60 60 60 60
AUREUSgi 40287249 gb AY485192.1 /22-433 SCHLEIFERgi 18077087 emb AJ343955.1 /1-412 EPIDERMIDIS /4-415 CAPITISgi 18077059 emb AJ343941.1 /1-412 HAEMOLYTICUS /4-415 LUGDISgi 18077017 emb AJ343917.1 /1-412 HOMINIS /1-412	AAATTAACCGCAACAGTTGAAGGAACAGAGTTAGAGCATCAATCAGCGGATATGATT AAGTTAAACCGCAGCTTGAAGGTACAGATTTAGAAAAATAATCTATTGAAGATTTAATT AAA TTAATTCAGCAGTTGAAGGGAACAGATTTAGAAGCTAAATCAATCGAAGAAATGTT AAATTAACCTCAGCAGTTGAAGGAACAGATTTAGAAGCTAAATCAATCGAAGAAATGTT AAATTAATTTCTGCAGTTGAGGGAACAGATCTTGAATCTAAATCAATTTGAAGAAATGTT AAATTAATTTCTGCAGTTGAAGGTACAGACTTAGAGTCTAAATCTATTGAGGAAATTT AAATTAATTTCTGCAGTTGAAGGTACTGATTTAGAATCTAAATCAATTTGAAGAAATGTT ** **** * ** **** * ** **** * ** **** * ** **** * ** **** * ** ****	120 120 120 120 120 120 120

AUREUSgi | 40287249 | gb | AY485192.1 | /22-433
SCHLEIFERgi | 18077087 | emb | AJ343955.1 | /1-412
EPIDERMIDIS / 4-415
CAPITISgi | 18077059 | emb | AJ343941.1 | /1-412
HAEMOLYTICUS / 4-415
LUGDISgi | 18077017 | emb | AJ343917.1 | /1-412
HOMINIS / 1-412

AUREUSgi | 40287249 | gb | AY485192.1 | /22-433
SCHLEIFERgi | 18077087 | emb | AJ343955.1 | /1-412
EPIDERMIDIS / 4-415
CAPITISgi | 18077059 | emb | AJ343941.1 | /1-412
HAEMOLYTICUS / 4-415
LUGDISgi | 18077017 | emb | AJ343917.1 | /1-412
HOMINIS / 1-412

AUREUSgi | 40287249 | gb | AY485192.1 | /22-433
SCHLEIFERgi | 18077087 | emb | AJ343955.1 | /1-412
EPIDERMIDIS / 4-415
CAPITISgi | 18077059 | emb | AJ343941.1 | /1-412
HAEMOLYTICUS / 4-415
LUGDISgi | 18077017 | emb | AJ343917.1 | /1-412
HOMINIS / 1-412

AUREUSgi | 40287249 | gb | AY485192.1 | /22-433
SCHLEIFERgi | 18077087 | emb | AJ343955.1 | /1-412
EPIDERMIDIS / 4-415
CAPITISgi | 18077059 | emb | AJ343941.1 | /1-412
HAEMOLYTICUS / 4-415
LUGDISgi | 18077017 | emb | AJ343917.1 | /1-412
HOMINIS / 1-412

AUREUSgi | 40287249 | gb | AY485192.1 | /22-433
SCHLEIFERgi | 18077087 | emb | AJ343955.1 | /1-412
EPIDERMIDIS / 4-415
CAPITISgi | 18077059 | emb | AJ343941.1 | /1-412
HAEMOLYTICUS / 4-415
LUGDISgi | 18077017 | emb | AJ343917.1 | /1-412
HOMINIS / 1-412

GCTAACCTTAGACAAGGTA¹⁸⁰CCGGGAAGCGATGAGGATGTCAGTCCGTAATAATGGCGGTGGT
GCTAAATTTAGACAGGTACCTGAAGATAAACGCTACTGCAAGTTCGTAATAATGGTGGGAA
GCTAAATTTAGATAGTGTGCCATCTAATATTCAAAACAGCTGTTTCGTAATAATGGCGGTGGT
GCTAAATTTAGATAGCGTACCTTCAGATATTCAAACGCTGAGTACGTAATAATGGTGGCGGT
GCTAAATTTAGATAGTGTACCTGAAGATATTCAAACAGCTGTTTCGTAATAATGGTGGCGGA
GCTAAATTTAGATAGCGGTCCCTGAAACATTTCAAACAGCTGTACGTAATAATGGTGGTGGGAA
GCCAAATTTAGATAGTGTACCTGAAAAATATTCAAACAGCGTACGTAATAATGGTGGAGGT
** ** *

CATTTTAAACCATTCAATATTCTGGGAATACTATCACCTAAATTTCTGAAGAAAAAGGTGGC
CACTTAAACCACCTATTTCTGGCAAAATATTTCACCTAACTCAGAAGAAAAAGGTGAA
CACCTTAAACCATTCAATTTCTGGGAACCTATTATCACCAAAATTCGAAAGAAAAAGGTGAA
CACTTAAACCACCTATTTCTGGGAATATTATCACCAAAATTCGAAAGAAAAAGGTGAA
CACTTAAACCTCACTATTTCTGGGAATTTTAACTCCTAAATTCGAAAGAAAAAGGTACT
CACTTAAACCTCACTATTTCTGGGAATTTTAACTCCTAAATTTCTGAAGAAAAAGGTACT
CATTTAAATCACTATTTCTGGGAATTTTAACTCCTAAATTTCTGAAGAAAAAGGTACT
** *

GTAATAGATGACATCAAAAGCGAGTGGGCGACTTTAGATGAATTTAAAAATGAATTTGCA
GTTGTAGATAAAATTAAGAACAATGGGGTCTTTAGATGCATTTCAAAAAGAAATTTGCT
GTAGTAGATAAAATTAAGAACAATGGGGTCTTTAGATGAATTTAAAAAGAAATTTGCA
GTAGTAGACAAAATTAAGAACAATGGGGTCTTTAGATGAATTTCAAAAAGAAATTTGCA
GTTGTTGATAAAATTAAGAACAATGGGGTCTTTAGATGAATTTCAAAAAGAAATTTGCT
GTAGTTGATAAAATTAAGAACAATGGGGTCTTTAGATGAATTTCAAGAAGAAATTTGCT
GTAATTTGATAAAATTAAGAACAATGGGGTCTTTAGATGAGTTTAAAAAGAAATTTGCT
** *

AATAAAGCAACAACATTAATTTGGATCAGGTGGCACTTGTTAGTTAGTTAAATGATGGCAAA
GATAAAGCTGCAGGTCAATTTGGTTCAGGTTGGGCA³⁶⁰TGGTTAGT³⁶⁰AGTGAATAATGGTCAA
GATAAAGCTGCAGCACGCTTTGGTTCAGGAT³⁶⁰GGGCT³⁶⁰TGGTTAGT³⁶⁰AAACAATGGACAA
GATAAAGCTGCTGCACGCTTTGGATCTGGTTGGGCA³⁶⁰TGGTTAGT³⁶⁰AGTAAATAACGGTCAA
GACAAAGCAGCAGCTCGTTTCGGTTCAGGTTGGGCA³⁶⁰TGGTTAGT³⁶⁰AGTAAACAATGGTCAG
GACAAAGCTGCAGGTGCTTTGGTTCAGGTTGGGCA³⁶⁰TGGTTAGT³⁶⁰AGTAAATAACGGTAAA
GATAAAGCTGCAGCACGCTTTGGTTCAGGTTGGGCTTGGTTAGT³⁶⁰AGTAAATAATGGAAAA
* *

TTAGAAATTTGTACAACGCCAAACCAAGATAATTCATTAAACAGAAGGCCAAAA 412
TTAGAAATCGTAACGACTCTTAACCAAGATAGTCCTACTTACTAATGGCCAAA 412
TTAGAAATTTGTACAACCAAAATCAAGATAATCCAAATTAATGAAGGAAAAA 412
TTAGAAATCGTTACTACTCCAACCAAGATAACCCATTAACTGAAGGTAAAA 412
TTAGAAATTTGTACTACACTAACCAAGATAACCCATTAACTGAAGGTAAAA 412
TTAGAAATTTGTACAACGCCCTTAACCAAGATAACCCATTAACTGAAGGAAAAA 412
TTAGAAATTTGTACTACTCTCAAAATCAAGATAACCCATTACTGAAGGAAAAA 412
***** ** *

1.9 VEDLEGG 9 – ALIGNMENT AV ALLE STAFYLOKKER FOR TUF

Alignment i Clustal Omega av *tuf*

1.9.1 Staphylococcus epidermidis

Alle sekvensene er helt like

gi 311990477	gb HM627887.1	/ 229 - 580	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 296142292	gb HM032775.1	/ 201 - 552	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 296142294	gb HM032776.1	/ 231 - 582	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 690375753	gb KM103747.1	/ 242 - 593	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 307830652	gb HM352922.1	/ 245 - 596	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 190335296	gb EU571075.1	/ 1 - 352	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 190335294	gb EU571074.1	/ 1 - 352	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 190335244	gb EU571049.1	/ 1 - 352	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 190335142	gb EU570998.1	/ 1 - 352	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 190335214	gb EU571034.1	/ 1 - 352	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 190335138	gb EU570996.1	/ 1 - 352	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 11612443	gb AF274740.1	/ 360 - 711	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 294960094	gb GU968757.1	/ 274 - 625	*****
gi 311990477	gb HM627887.1	/ 229 - 580	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCACGAAACTTCTAAACAACTGTTACTGGTGTAG
gi 296142292	gb HM032775.1	/ 201 - 552	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCACGAAACTTCTAAACAACTGTTACTGGTGTAG
gi 296142294	gb HM032776.1	/ 231 - 582	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCACGAAACTTCTAAACAACTGTTACTGGTGTAG
gi 690375753	gb KM103747.1	/ 242 - 593	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCACGAAACTTCTAAACAACTGTTACTGGTGTAG
gi 307830652	gb HM352922.1	/ 245 - 596	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCACGAAACTTCTAAACAACTGTTACTGGTGTAG
gi 190335296	gb EU571075.1	/ 1 - 352	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCACGAAACTTCTAAACAACTGTTACTGGTGTAG
gi 190335294	gb EU571074.1	/ 1 - 352	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCACGAAACTTCTAAACAACTGTTACTGGTGTAG
gi 190335244	gb EU571049.1	/ 1 - 352	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCACGAAACTTCTAAACAACTGTTACTGGTGTAG
gi 190335142	gb EU570998.1	/ 1 - 352	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCACGAAACTTCTAAACAACTGTTACTGGTGTAG
gi 190335214	gb EU571034.1	/ 1 - 352	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCACGAAACTTCTAAACAACTGTTACTGGTGTAG
gi 190335138	gb EU570996.1	/ 1 - 352	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCACGAAACTTCTAAACAACTGTTACTGGTGTAG
gi 11612443	gb AF274740.1	/ 360 - 711	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCACGAAACTTCTAAACAACTGTTACTGGTGTAG
gi 294960094	gb GU968757.1	/ 274 - 625	*****

gi 311990477	gb HM627887.1 /229-580	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTATTAC
gi 296142292	gb HM032775.1 /201-552	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTATTAC
gi 296142294	gb HM032776.1 /231-582	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTATTAC
gi 690375753	gb KM103747.1 /242-593	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTATTAC
gi 307830652	gb HM352922.1 /245-596	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTATTAC
gi 190335296	gb EU571075.1 /1-352	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTATTAC
gi 190335294	gb EU571074.1 /1-352	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTATTAC
gi 190335244	gb EU571049.1 /1-352	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTATTAC
gi 190335142	gb EU570998.1 /1-352	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTATTAC
gi 190335214	gb EU571034.1 /1-352	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTATTAC
gi 190335138	gb EU570996.1 /1-352	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTATTAC
gi 11612443	gb AF274740.1 /360-711	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTATTAC
gi 294960094	gb GU968757.1 /274-625	*****
gi 311990477	gb HM627887.1 /229-580	GTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCATTATTA
gi 296142292	gb HM032775.1 /201-552	GTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCATTATTA
gi 296142294	gb HM032776.1 /231-582	GTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCATTATTA
gi 690375753	gb KM103747.1 /242-593	GTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCATTATTA
gi 307830652	gb HM352922.1 /245-596	GTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCATTATTA
gi 190335296	gb EU571075.1 /1-352	GTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCATTATTA
gi 190335294	gb EU571074.1 /1-352	GTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCATTATTA
gi 190335244	gb EU571049.1 /1-352	GTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCATTATTA
gi 190335142	gb EU570998.1 /1-352	GTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCATTATTA
gi 190335214	gb EU571034.1 /1-352	GTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCATTATTA
gi 190335138	gb EU570996.1 /1-352	GTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCATTATTA
gi 11612443	gb AF274740.1 /360-711	GTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCATTATTA
gi 294960094	gb GU968757.1 /274-625	*****
gi 311990477	gb HM627887.1 /229-580	CACCACACACAAAATTCAAAGCTGAAGTATACGTATTATCTAAAGATGAAGGTGGACGTC
gi 296142292	gb HM032775.1 /201-552	CACCACACACAAAATTCAAAGCTGAAGTATACGTATTATCTAAAGATGAAGGTGGACGTC
gi 296142294	gb HM032776.1 /231-582	CACCACACACAAAATTCAAAGCTGAAGTATACGTATTATCTAAAGATGAAGGTGGACGTC
gi 690375753	gb KM103747.1 /242-593	CACCACACACAAAATTCAAAGCTGAAGTATACGTATTATCTAAAGATGAAGGTGGACGTC
gi 307830652	gb HM352922.1 /245-596	CACCACACACAAAATTCAAAGCTGAAGTATACGTATTATCTAAAGATGAAGGTGGACGTC
gi 190335296	gb EU571075.1 /1-352	CACCACACACAAAATTCAAAGCTGAAGTATACGTATTATCTAAAGATGAAGGTGGACGTC
gi 190335294	gb EU571074.1 /1-352	CACCACACACAAAATTCAAAGCTGAAGTATACGTATTATCTAAAGATGAAGGTGGACGTC
gi 190335244	gb EU571049.1 /1-352	CACCACACACAAAATTCAAAGCTGAAGTATACGTATTATCTAAAGATGAAGGTGGACGTC
gi 190335142	gb EU570998.1 /1-352	CACCACACACAAAATTCAAAGCTGAAGTATACGTATTATCTAAAGATGAAGGTGGACGTC
gi 190335214	gb EU571034.1 /1-352	CACCACACACAAAATTCAAAGCTGAAGTATACGTATTATCTAAAGATGAAGGTGGACGTC
gi 190335138	gb EU570996.1 /1-352	CACCACACACAAAATTCAAAGCTGAAGTATACGTATTATCTAAAGATGAAGGTGGACGTC
gi 11612443	gb AF274740.1 /360-711	CACCACACACAAAATTCAAAGCTGAAGTATACGTATTATCTAAAGATGAAGGTGGACGTC
gi 294960094	gb GU968757.1 /274-625	*****

gi 311990477 gb HM627887.1 /229-580	ACATCCATTCTTCACTAACTATGCCCAAAATCTATTTCGGTACTACTGA
gi 296142292 gb HM032775.1 /201-552	ACATCCATTCTTCACTAACTATGCCCAAAATCTATTTCGGTACTACTGA
gi 296142294 gb HM032776.1 /231-582	ACATCCATTCTTCACTAACTATGCCCAAAATCTATTTCGGTACTACTGA
gi 690375753 gb KM103747.1 /242-593	ACATCCATTCTTCACTAACTATGCCCAAAATCTATTTCGGTACTACTGA
gi 307830652 gb HM352922.1 /245-596	ACATCCATTCTTCACTAACTATGCCCAAAATCTATTTCGGTACTACTGA
gi 190335296 gb EU571075.1 /1-352	ACATCCATTCTTCACTAACTATGCCCAAAATCTATTTCGGTACTACTGA
gi 190335294 gb EU571074.1 /1-352	ACATCCATTCTTCACTAACTATGCCCAAAATCTATTTCGGTACTACTGA
gi 190335244 gb EU571049.1 /1-352	ACATCCATTCTTCACTAACTATGCCCAAAATCTATTTCGGTACTACTGA
gi 190335142 gb EU570998.1 /1-352	ACATCCATTCTTCACTAACTATGCCCAAAATCTATTTCGGTACTACTGA
gi 190335214 gb EU571034.1 /1-352	ACATCCATTCTTCACTAACTATGCCCAAAATCTATTTCGGTACTACTGA
gi 190335138 gb EU570996.1 /1-352	ACATCCATTCTTCACTAACTATGCCCAAAATCTATTTCGGTACTACTGA
gi 11612443 gb AF274740.1 /360-711	ACATCCATTCTTCACTAACTATGCCCAAAATCTATTTCGGTACTACTGA
gi 294960094 gb GU968757.1 /274-625	*****

1.9.2 Staphylococcus aureus.

AlLe sekvensene er like.

87159884:596725-597909 Staphylococcus aureus subsp. aureus USA300_FPR3757, complete genome

88193823:533330-534514 Staphylococcus aureus subsp. aureus NCTC 8325 chromosome, complete genome

gi 88193823 533330-534514/659-1029	CAATCACTGTCGTGGTACTGTTGCTACAGCCGCTGTTGAACGTGGTCAAATCAAAGTTG
gi 87159884 : 596725 - 597909/659-1029	CAATCACTGTCGTGGTACTGTTGCTACAGCCGCTGTTGAACGTGGTCAAATCAAAGTTG
gi 190335286 gb EU571070.1 /1-371	CAATCACTGTCGTGGTACTGTTGCTACAGCCGCTGTTGAACGTGGTCAAATCAAAGTTG
gi 190335284 gb EU571069.1 /1-371	*****

gi 88193823 : 533330 - 534514/659-1029	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTTTACATGACACATCTAAACAACTGTTACAGGTGTTG
gi 87159884 : 596725 - 597909/659-1029	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTTTACATGACACATCTAAACAACTGTTACAGGTGTTG
gi 190335286 gb EU571070.1 /1-371	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTTTACATGACACATCTAAACAACTGTTACAGGTGTTG
gi 190335284 gb EU571069.1 /1-371	*****

gi 88193823 : 533330 - 534514/659-1029	AAATGTTCCGTAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATTGGTGCATTATTAC
gi 87159884 : 596725 - 597909/659-1029	AAATGTTCCGTAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATTGGTGCATTATTAC
gi 190335286 gb EU571070.1 /1-371	AAATGTTCCGTAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATTGGTGCATTATTAC
gi 190335284 gb EU571069.1 /1-371	*****

gi 88193823 : 533330 - 534514/659-1029	GTGGTGTTCGTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGTTCAATTA
gi 87159884 : 596725 - 597909/659-1029	GTGGTGTTCGTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGTTCAATTA
gi 190335286 gb EU571070.1 /1-371	GTGGTGTTCGTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGTTCAATTA
gi 190335284 gb EU571069.1 /1-371	*****

gi 88193823 : 533330 - 534514 / 659 - 1029	CACCACATACTGAATTCAAAGCAGAAGTATACGTATTATCAAAAGACGAAGGTGGACGTC
gi 87159884 : 596725 - 597909 / 659 - 1029	CACCACATACTGAATTCAAAGCAGAAGTATACGTATTATCAAAAGACGAAGGTGGACGTC
gi 190335286 gb EU571070.1 / 1 - 371	CACCACATACTGAATTCAAAGCAGAAGTATACGTATTATCAAAAGACGAAGGTGGACGTC
gi 190335284 gb EU571069.1 / 1 - 371	CACCACATACTGAATTCAAAGCAGAAGTATACGTATTATCAAAAGACGAAGGTGGACGTC

gi 88193823 : 533330 - 534514 / 659 - 1029	ACACTCCATTCTCTCAAACCTATCGTCCAAATTCATTTCCGTAAGTAACTG
gi 87159884 : 596725 - 597909 / 659 - 1029	ACACTCCATTCTCTCAAACCTATCGTCCAAATTCATTTCCGTAAGTAACTG
gi 190335286 gb EU571070.1 / 1 - 371	ACACTCCATTCTCTCAAACCTATCGTCCAAATTCATTTCCGTAAGTAACTG
gi 190335284 gb EU571069.1 / 1 - 371	ACACTCCATTCTCTCAAACCTATCGTCCAAATTCATTTCCGTAAGTAACTG

gi 88193823 : 533330 - 534514 / 659 - 1029	GTGTTGTTTAC
gi 87159884 : 596725 - 597909 / 659 - 1029	GTGTTGTTTAC
gi 190335286 gb EU571070.1 / 1 - 371	GTGTTGTTTAC
gi 190335284 gb EU571069.1 / 1 - 371	GTGTTGTTTAC

1.9.3 Staphylococcus capitis

417907345:34859-36043 Staphylococcus capitis VCU116 contig00077, whole genome shotgun sequence

836648963:2358084-2359268 Staphylococcus capitis subsp. capitis strain AYP1020, complete genome

gi 417907345 : 34859 - 36043 / 659 - 1029	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 14586714 gb AF298798.1 / 357 - 727	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 836648963 : 2358084 - 2359268 / 659 - 1029	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi 190335288 gb EU571071.1 / 1 - 371	CAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG

gi 417907345 : 34859 - 36043 / 659 - 1029	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATCCAGAACTTCTAAACAACGTGTTACTGGTGTAG
gi 14586714 gb AF298798.1 / 357 - 727	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATCCAGAACTTCTAAACAACGTGTTACTGGTGTAG
gi 836648963 : 2358084 - 2359268 / 659 - 1029	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATCCAGAACTTCTAAACAACGTGTTACTGGTGTAG
gi 190335288 gb EU571071.1 / 1 - 371	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATCCAGAACTTCTAAACAACGTGTTACTGGTGTAG

gi 417907345 : 34859 - 36043 / 659 - 1029	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTCTTTATTAC
gi 14586714 gb AF298798.1 / 357 - 727	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTCTTTATTAC
gi 836648963 : 2358084 - 2359268 / 659 - 1029	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTCTTTATTAC
gi 190335288 gb EU571071.1 / 1 - 371	AAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTCTTTATTAC

gi 417907345 : 34859 - 36043 / 659 - 1029	GTGGTGTTCGTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAATCA
gi 14586714 gb AF298798.1 / 357 - 727	GTGGTGTTCGTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAATCA
gi 836648963 : 2358084 - 2359268 / 659 - 1029	GTGGTGTTCGTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAATCA
gi 190335288 gb EU571071.1 / 1 - 371	GTGGTGTTCGTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAATCA

gi 417907345:34859-36043/659-1029	CACCACACACTAAATTTCAAAGCGGAAGTTTACGTTTTATCTAAAGACGAAGGTGGACGTC
gi 14586714 gb AF298798.1 /357-727	CACCACACACTAAATTTCAAAGCGGAAGTTTACGTTTTATCTAAAGACGAAGGTGGACGTC
gi 836648963:2358084-2359268/659-1029	CACCACACACTAAATTTCAAAGCGGAAGTTTACGTTTTATCTAAAGACGAAGGTGGACGTC
gi 190335288 gb EU571071.1 /1-371	CACCACACACTAAATTTCAAAGCGGAAGTTTACGTTTTATCTAAAGACGAAGGTGGACGTC

gi 417907345:34859-36043/659-1029	ACATCCATTCTTCAGTAACACCGCCCACAATTTCTATTTCCGTACTACTGACGTAACCTG
gi 14586714 gb AF298798.1 /357-727	ACATCCATTCTTCAGTAACACCGCCCACAATTTCTATTTCCGTACTACTGACGTAACCTG
gi 836648963:2358084-2359268/659-1029	ACATCCATTCTTCAGTAACACCGCCCACAATTTCTATTTCCGTACTACTGACGTAACCTG
gi 190335288 gb EU571071.1 /1-371	ACATCCATTCTTCAGTAACACCGCCCACAATTTCTATTTCCGTACTACTGACGTAACCTG

gi 417907345:34859-36043/659-1029	GTGTTGTTAAC
gi 14586714 gb AF298798.1 /357-727	GTGTTGTTAAC
gi 836648963:2358084-2359268/659-1029	GTGTTGTTAAC
gi 190335288 gb EU571071.1 /1-371	GTGTTGTTAAC

1.9.4 Staphylococcus lugdunensis

289549371:2406893-2408077 Staphylococcus lugdunensis HKU09-01, complete genome

385782956:2384407-2385591 Staphylococcus lugdunensis N920143 complete genome

gi 307830660 gb HM352926.1 /1-612	GACATGGTTGACGATGAAGAATTATTAGAATTAGTAGAAATGGAAGTTCGTGATTATTATTA
gi 14586724 gb AF298803.1 /113-724	GACATGGTTGACGATGAAGAATTATTAGAATTAGTAGAAATGGAAGTTCGTGATTATTATTA
reversN920143/415-1026	GACATGGTTGACGATGAAGAATTATTAGAATTAGTAGAAATGGAAGTTCGTGATTATTATTA
reversHKU09-01/415-1026	GACATGGTTGACGATGAAGAATTATTAGAATTAGTAGAAATGGAAGTTCGTGATTATTATTA

gi 307830660 gb HM352926.1 /1-612	ACTGAATATGACTTCCCAGGTGACGATGTCCTGTAAATCGCTGGTTCAGCATTTAAAAGCT
gi 14586724 gb AF298803.1 /113-724	ACTGAATATGACTTCCCAGGTGACGATGTCCTGTAAATCGCTGGTTCAGCATTTAAAAGCT
reversN920143/415-1026	ACTGAATATGACTTCCCAGGTGACGATGTCCTGTAAATCGCTGGTTCAGCATTTAAAAGCT
reversHKU09-01/415-1026	ACTGAATATGACTTCCCAGGTGACGATGTCCTGTAAATCGCTGGTTCAGCATTTAAAAGCT

gi 307830660 gb HM352926.1 /1-612	TTAGAAGGCGACGAAAAATACGAAGCTAAAAATCTTAGAATTAAATGGATGCAGTTGATAAC
gi 14586724 gb AF298803.1 /113-724	TTAGAAGGCGACGAAAAATACGAAGCTAAAAATCTTAGAATTAAATGGATGCAGTTGATAAC
reversN920143/415-1026	TTAGAAGGCGACGAAAAATACGAAGCTAAAAATCTTAGAATTAAATGGATGCAGTTGATAAC
reversHKU09-01/415-1026	TTAGAAGGCGACGAAAAATACGAAGCTAAAAATCTTAGAATTAAATGGATGCAGTTGATAAC

gi 307830660 gb HM352926.1 /1-612	TACATTCCAACCTCAGAACGTGACTCTGACAAACCATTCATGATGCCAGTTGAGGACGTA
gi 14586724 gb AF298803.1 /113-724	TACATTCCAACCTCAGAACGTGACTCTGACAAACCATTCATGATGCCAGTTGAGGACGTA
reversN920143/415-1026	TACATTCCAACCTCAGAACGTGACTCTGACAAACCATTCATGATGCCAGTTGAGGACGTA
reversHKU09-01/415-1026	TACATTCCAACCTCAGAACGTGACTCTGACAAACCATTCATGATGCCAGTTGAGGACGTA

gi 307830660 gb HM352926.1 /1-612	TTCTCAATCACTGGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTTGAACGTGGTCAAATCAAA
gi 14586724 gb AF298803.1 /113-724	TTCTCAATCACTGGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTTGAACGTGGTCAAATCAAA
reversN920143/415-1026	TTCTCAATCACTGGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTTGAACGTGGTCAAATCAAA
reversHKU09-01/415-1026	*****
gi 307830660 gb HM352926.1 /1-612	GTCCGTGAAGAAGTTGAAATTATTGGTATCCAGGATACTAAAAACAACGTGTTACTGGT
gi 14586724 gb AF298803.1 /113-724	GTCCGTGAAGAAGTTGAAATTATTGGTATCCAGGATACTAAAAACAACGTGTTACTGGT
reversN920143/415-1026	GTCCGTGAAGAAGTTGAAATTATTGGTATCCAGGATACTAAAAACAACGTGTTACTGGT
reversHKU09-01/415-1026	*****
gi 307830660 gb HM352926.1 /1-612	GTAGAAATGTTCCGTAAATTTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCGTTA
gi 14586724 gb AF298803.1 /113-724	GTAGAAATGTTCCGTAAATTTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCGTTA
reversN920143/415-1026	GTAGAAATGTTCCGTAAATTTAGACTATGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCGTTA
reversHKU09-01/415-1026	*****
gi 307830660 gb HM352926.1 /1-612	TTACGTGGTGTGCTCGTGAAGATGTACAACGTGGACAAGTATTAGCTGCTCCAGGTTCA
gi 14586724 gb AF298803.1 /113-724	TTACGTGGTGTGCTCGTGAAGATGTACAACGTGGACAAGTATTAGCTGCTCCAGGTTCA
reversN920143/415-1026	TTACGTGGTGTGCTCGTGAAGATGTACAACGTGGACAAGTATTAGCTGCTCCAGGTTCA
reversHKU09-01/415-1026	*****
gi 307830660 gb HM352926.1 /1-612	ATTACACCTCACACTAAATTTAAAGCTGACGTATATGTTTATCTAAAGATGAAGTGGA
gi 14586724 gb AF298803.1 /113-724	ATTACACCTCACACTAAATTTAAAGCTGACGTATATGTTTATCTAAAGATGAAGTGGA
reversN920143/415-1026	ATTACACCTCACACTAAATTTAAAGCTGACGTATATGTTTATCTAAAGATGAAGTGGA
reversHKU09-01/415-1026	*****
gi 307830660 gb HM352926.1 /1-612	CGTCATACACCATCTCTCAAACTACCGCCCAAACTCTATTTCCGTTACTACAGACGTA
gi 14586724 gb AF298803.1 /113-724	CGTCATACACCATCTCTCAAACTACCGCCCAAACTCTATTTCCGTTACTACAGACGTA
reversN920143/415-1026	CGTCATACACCATCTCTCAAACTACCGCCCAAACTCTATTTCCGTTACTACAGACGTA
reversHKU09-01/415-1026	*****
gi 307830660 gb HM352926.1 /1-612	ACTGGTGTGTTT
gi 14586724 gb AF298803.1 /113-724	ACTGGTGTGTTT
reversN920143/415-1026	ACTGGTGTGTTT
reversHKU09-01/415-1026	*****

1.9.5 Staphylococcus hominis

484266299:34078-35262 Staphylococcus hominis subsp. hominis ZBW5 Contig_10, whole genome shotgun sequence
314936087:1105244-1106428 Staphylococcus hominis subsp. hominis C80 genomic scaffold supercont1.9, whole genome shotgun sequence

gi|307830658|gb|HM352925.1|/1-612
reversgi|314936087:1105244-1106428/415-1026
gi|14586722|gb|AF298802.1|/113-724
gi|484266299:34078-35262/415-1026

GACATGGTTGACGATGAAGAATTATTAGAAATTAGTTGAAATGGAAGTACGTGACTTATTA
GACATGGTTGACGATGAAGAATTATTAGAAATTAGTTGAAATGGAAGTACGTGACTTATTA
GACATGGTTGACGATGAAGAATTATTAGAAATTAGTTGAAATGGAAGTACGTGACTTATTA
GACATGGTTGACGATGAAGAATTATTAGAAATTAGTTGAAATGGAAGTACGTGACTTATTA

gi|307830658|gb|HM352925.1|/1-612
reversgi|314936087:1105244-1106428/415-1026
gi|14586722|gb|AF298802.1|/113-724
gi|484266299:34078-35262/415-1026

TCTGAATACGACTTCCAGGTGACGACGTACTGTAATCGCTGGTTCAGCTTTAAAAGCT
TCTGAATACGACTTCCAGGTGACGACGTACTGTAATCGCTGGTTCAGCTTTAAAAGCT
TCTGAATACGACTTCCAGGTGACGACGTACTGTAATCGCTGGTTCAGCTTTAAAAGCT
TCTGAATACGACTTCCAGGTGACGACGTACTGTAATCGCTGGTTCAGCTTTAAAAGCT

gi|307830658|gb|HM352925.1|/1-612
reversgi|314936087:1105244-1106428/415-1026
gi|14586722|gb|AF298802.1|/113-724
gi|484266299:34078-35262/415-1026

TTAGAAGCGATGCTCAATACGAAGAAAAAATCTTAGAATTAAATGCAAGCAGTTGATGAT
TTAGAAGCGATGCTCAATACGAAGAAAAAATCTTAGAATTAAATGCAAGCAGTTGATGAT
TTAGAAGCGATGCTCAATACGAAGAAAAAATCTTAGAATTAAATGCAAGCAGTTGATGAT
TTAGAAGCGATGCTCAATACGAAGAAAAAATCTTAGAATTAAATGCAAGCAGTTGATGAT

gi|307830658|gb|HM352925.1|/1-612
reversgi|314936087:1105244-1106428/415-1026
gi|14586722|gb|AF298802.1|/113-724
gi|484266299:34078-35262/415-1026

TACATTCCAACTCCAGAACGTGACTCTGATAAACCATTCATGATGCCAGTTGAGGACGTA
TATATTCCAACTCCAGAACGTGACTCTGATAAACCATTCATGATGCCAGTTGAGGACGTA
TATATTCCAACTCCAGAACGTGACTCTGATAAACCATTCATGATGCCAGTTGAGGACGTA
TACATTCCAACTCCAGAACGTGACTCTGATAAACCATTCATGATGCCAGTTGAGGACGTA
** *****

gi|307830658|gb|HM352925.1|/1-612
reversgi|314936087:1105244-1106428/415-1026
gi|14586722|gb|AF298802.1|/113-724
gi|484266299:34078-35262/415-1026

TTCTCAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAA
TTCTCAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAA
TTCTCAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAA
TTCTCAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAAATCAAA

gi|307830658|gb|HM352925.1|/1-612
reversgi|314936087:1105244-1106428/415-1026
gi|14586722|gb|AF298802.1|/113-724
gi|484266299:34078-35262/415-1026

GTTGGTGAAGAAGTTGAAATATTGGTATCAAAGTACTTCTAAAAACAACGTGTACTGGT
GTTGGTGAAGAAGTTGAAATATTGGTATCAAAGAAACTTCTAAAAACAACGTGTACTGGT
GTTGGTGAAGAAGTTGAAATATTGGTATCAAAGAAACTTCTAAAAACAACGTGTACTGGT
GTTGGTGAAGAAGTTGAAATATTGGTATCAAAGAAACTTCTAAAAACAACGTGTACTGGT

gi|307830658|gb|HM352925.1|/1-612
reversgi|314936087:1105244-1106428/415-1026
gi|14586722|gb|AF298802.1|/113-724
gi|484266299:34078-35262/415-1026

GTAGAAATGTTCCGTAAATTTATAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTA
GTAGAAATGTTCCGTAAATTTATAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTA
GTAGAAATGTTCCGTAAATTTATAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTA
GTAGAAATGTTCCGTAAATTTATAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTA

gi|307830658|gb|HM352925.1|/1-612
reversgi|314936087:1105244-1106428/415-1026
gi|14586722|gb|AF298802.1|/113-724
gi|484266299:34078-35262/415-1026

TTACGTGGTGTTCGTCGTAAGATGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCAGGTTCA
TTACGTGGTGTTCGTCGTAAGATGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCAGGTTCA
TTACGTGGTGTTCGTCGTAAGATGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCAGGTTCA
TTACGTGGTGTTCGTCGTAAGATGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCAGGTTCA

ATCACCTTCACACAAAATTCAAAGCAGACGTATATGTTTATCAAAAGATGAAGGTGGA
ATTACCTTCACACAAAATTCAAAGCAGACGTATACGTTTATCAAAAGATGAAGGTGGA
ATTACCTTCACACAAAATTCAAAGCAGACGTATACGTTTATCAAAAGATGAAGGTGGA
ATTACCTTCACACAAAATTCAAAGCAGACGTATACGTTTATCAAAAGATGAAGGTGGA
** *****

gi|307830658|gb|HM352925.1|/1-612
reversgi|314936087:1105244-1106428/415-1026
gi|14586722|gb|AF298802.1|/113-724
gi|484266299:34078-35262/415-1026

CGTCATACTCCATTCTTCACTAACTATCGTCCACAAATTCATTTCCGTACTACTGACGTA
CGTCATACTCCATTCTTCACTAACTATCGTCCACAAATTCATTTCCGTACTACTGACGTA
CGTCATACTCCATTCTTCACTAACTATCGTCCACAAATTCATTTCCGTACTACTGACGTA
CGTCATACTCCATTCTTCACTAACTATCGTCCACAAATTCATTTCCGTACTACTGACGTA

gi|307830658|gb|HM352925.1|/1-612
reversgi|314936087:1105244-1106428/415-1026
gi|14586722|gb|AF298802.1|/113-724
gi|484266299:34078-35262/415-1026

CGTCATACTCCATTCTTCACTAACTATCGTCCACAAATTCATTTCCGTACTACTGACGTA
CGTCATACTCCATTCTTCACTAACTATCGTCCACAAATTCATTTCCGTACTACTGACGTA
CGTCATACTCCATTCTTCACTAACTATCGTCCACAAATTCATTTCCGTACTACTGACGTA
CGTCATACTCCATTCTTCACTAACTATCGTCCACAAATTCATTTCCGTACTACTGACGTA

gi|307830658|gb|HM352925.1|/1-612
reversgi|314936087:1105244-1106428/415-1026
gi|14586722|gb|AF298802.1|/113-724
gi|484266299:34078-35262/415-1026

ACTGGTGTGTGT
ACTGGTGTGTGT
ACTGGTGTGTGT
ACTGGTGTGTGT

1.9.6 Staphylococcus haemolyticus

920659435:13607-14791 Staphylococcus haemolyticus genome assembly 7068_7#7, scaffold ERS066339.7068_7_7.45, whole genome shotgun sequence

68445725:2456893-2458077 Staphylococcus haemolyticus JSC1435 DNA, complete genome

gi|68445725:2456893-2458077/415-1026
gi|296142276|gb|HM032767.1|/35-646
gi|920659435:13607-14791/415-1026
gi|307830654|gb|HM352923.1|/1-612

GACATGGTTGACGATGAAGAATTATTAGAATTAGTTGAAATGGAAGTACGTGACTTATTA
GACATGGTTGACGATGAAGAATTATTAGAATTAGTTGAAATGGAAGTACGTGACTTATTA
GACATGGTTGACGATGAAGAATTATTAGAATTAGTTGAAATGGAAGTACGTGACTTATTA
GACATGGTTGACGATGAAGAATTATTAGAATTAGTTGAAATGGAAGTACGTGACTTATTA

gi|68445725:2456893-2458077/415-1026
gi|296142276|gb|HM032767.1|/35-646
gi|920659435:13607-14791/415-1026
gi|307830654|gb|HM352923.1|/1-612

TCTGAATACGACTCCAGGTGACGATGTACCTGTAATCGCTGGTTCAGCATTTAAAGCT
TCTGAATACGACTCCAGGTGACGATGTACCTGTAATCGCTGGTTCAGCATTTAAAGCT
TCTGAATACGACTCCAGGTGACGATGTACCTGTAATCGCTGGTTCAGCATTTAAAGCT
TCTGAATACGACTCCAGGTGACGATGTACCTGTAATCGCTGGTTCAGCATTTAAAGCT

gi|68445725:2456893-2458077/415-1026
gi|296142276|gb|HM032767.1|/35-646
gi|920659435:13607-14791/415-1026
gi|307830654|gb|HM352923.1|/1-612

TTAGAAGCGATGCTCAATACGAAGAAAAATCTTAGAATTAATGCAAGCAGTTGATGAC
TTAGAAGCGATGCTCAATACGAAGAAAAATCTTAGAATTAATGCAAGCAGTTGATGAC
TTAGAAGCGATGCTCAATACGAAGAAAAATCTTAGAATTAATGCAAGCAGTTGATGAC
TTAGAAGCGATGCTCAATACGAAGAAAAATCTTAGAATTAATGCAAGCAGTTGATGAC

gi | 68445725 : 2456893 - 2458077 / 415 - 1026
gi | 296142276 | gb | HM032767.1 / 35 - 646
gi | 920659435 : 13607 - 14791 / 415 - 1026
gi | 307830654 | gb | HM352923.1 / 1 - 612

gi | 68445725 : 2456893 - 2458077 / 415 - 1026
gi | 296142276 | gb | HM032767.1 / 35 - 646
gi | 920659435 : 13607 - 14791 / 415 - 1026
gi | 307830654 | gb | HM352923.1 / 1 - 612

gi | 68445725 : 2456893 - 2458077 / 415 - 1026
gi | 296142276 | gb | HM032767.1 / 35 - 646
gi | 920659435 : 13607 - 14791 / 415 - 1026
gi | 307830654 | gb | HM352923.1 / 1 - 612

gi | 68445725 : 2456893 - 2458077 / 415 - 1026
gi | 296142276 | gb | HM032767.1 / 35 - 646
gi | 920659435 : 13607 - 14791 / 415 - 1026
gi | 307830654 | gb | HM352923.1 / 1 - 612

gi | 68445725 : 2456893 - 2458077 / 415 - 1026
gi | 296142276 | gb | HM032767.1 / 35 - 646
gi | 920659435 : 13607 - 14791 / 415 - 1026
gi | 307830654 | gb | HM352923.1 / 1 - 612

gi | 68445725 : 2456893 - 2458077 / 415 - 1026
gi | 296142276 | gb | HM032767.1 / 35 - 646
gi | 920659435 : 13607 - 14791 / 415 - 1026
gi | 307830654 | gb | HM352923.1 / 1 - 612

gi | 68445725 : 2456893 - 2458077 / 415 - 1026
gi | 296142276 | gb | HM032767.1 / 35 - 646
gi | 920659435 : 13607 - 14791 / 415 - 1026
gi | 307830654 | gb | HM352923.1 / 1 - 612

gi | 68445725 : 2456893 - 2458077 / 415 - 1026
gi | 296142276 | gb | HM032767.1 / 35 - 646
gi | 920659435 : 13607 - 14791 / 415 - 1026
gi | 307830654 | gb | HM352923.1 / 1 - 612

TACATTCCAATCCAGAACGTGATTCTGACAAACCATTCATGATGCCAGTTGAGGACGTA
TACATTCCAATCCAGAACGTGATTCTGACAAACCATTCATGATGCCAGTTGAGGACGTA
TACATTCCAATCCAGAACGTGATTCTGACAAACCATTCATGATGCCAGTTGAGGACGTA
TACATTCCAATCCAGAACGTGATTCTGACAAACCATTCATGATGCCAGTTGAGGACGTA

TTCTCAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAATCAAA
TTCTCAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAATCAAA
TTCTCAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGTCAAATCAAA
TTCTCAATCACTGGTCGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTGTTGAACGTGGGCAAATCAAA

GTTGGTGAAGAAGTTGAAATCATTGGTATCCATGACACTTCTAAACAACCTGTTACTGGT
GTTGGTGAAGAAGTTGAAATCATTGGTATCCATGACACTTCTAAACAACCTGTTACTGGT
GTTGGTGAAGAAGTTGAAATCATTGGTATCCATGACACTTCTAAACAACCTGTTACTGGT
GTTGGTGAAGAAGTTGAAATCATTGGTATCCATGACACTTCTAAACAACCTGTTACTGGT

GTAGAAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCATTA
GTAGAAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCATTA
GTAGAAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCATTA
GTAGAAATGTTCCGTAAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCATTA

TTACGTGGTGTGCTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCAGGTTCA
TTACGTGGTGTGCTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCAGGTTCA
TTACGTGGTGTGCTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCAGGTTCA
TTACGTGGTGTGCTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCAGGTTCA

ATCACACCTCACAAAAATTTAAAGCAGACGTATACGTTTATCTAAAGCAGAAAGGTGGA
ATCACACCTCACAAAAATTTAAAGCAGACGTATACGTTTATCTAAAGCAGAAAGGTGGA
ATCACACCTCACAAAAATTTAAAGCAGACGTATACGTTTATCTAAAGCAGAAAGGTGGA
ATCACACCTCACAAAAATTTAAAGCAGACGTATACGTTTATCTAAAGCAGAAAGGTGGA

CGTCACACTCCATTCTTCACAAACTATCGTCCACAATTCATTTCCGTACTACTGACGTA
CGTCACACTCCATTCTTCACAAACTATCGTCCACAATTCATTTCCGTACTACTGACGTA
CGTCACACTCCATTCTTCACAAACTATCGTCCACAATTCATTTCCGTACTACTGACGTA
CGTCACACTCCATTCTTCACAAACTATCGTCCACAATTCATTTCCGTACTACTGACGTA

ACTGGTGTGTT
ACTGGTGTGTT
ACTGGTGTGTT
ACTGGTGTGTT

1.9.7 Staphylococcus schleiferi

913000289:2208595-2209782 Staphylococcus schleiferi strain 1360-13, complete genome

gi|307830682|gb|HM352937.1|/245-615 CAATCACTGGTCGTGACAGTTGCTACTGGTCGTGTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi|913000289:2208595-2209782/659-1029 CAATCACTGGTCGTGACAGTTGCTACTGGTCGTGTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi|190335320|gb|EU571087.1|/1-371 CAATCACTGGTCGTGACAGTTGCTACTGGTCGTGTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG
gi|190335318|gb|EU571086.1|/1-371 CAATCACTGGTCGTGACAGTTGCTACTGGTCGTGTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG

gi|307830682|gb|HM352937.1|/245-615 GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTTAGCTGAAGAACTCTTAAACAACACTGTTACTGGTG
gi|913000289:2208595-2209782/659-1029 GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTTAGCTGAAGAACTCTTAAACAACACTGTTACTGGTG
gi|190335320|gb|EU571087.1|/1-371 GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTTAGCTGAAGAACTCTTAAACAACACTGTTACTGGTG
gi|190335318|gb|EU571086.1|/1-371 GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTTAGCTGAAGAACTCTTAAACAACACTGTTACTGGTG

gi|307830682|gb|HM352937.1|/245-615 TAGAAATGTTCCGTAATATTAGACTAGCTGAAGCTGGTGACAACATTGGTGCTTTAT
gi|913000289:2208595-2209782/659-1029 TAGAAATGTTCCGTAATATTAGACTAGCTGAAGCTGGTGACAACATTGGTGCTTTAT
gi|190335320|gb|EU571087.1|/1-371 TAGAAATGTTCCGTAATATTAGACTAGCTGAAGCTGGTGACAACATTGGTGCTTTAT
gi|190335318|gb|EU571086.1|/1-371 TAGAAATGTTCCGTAATATTAGACTAGCTGAAGCTGGTGACAACATTGGTGCTTTAT

gi|307830682|gb|HM352937.1|/245-615 TACGTGGTGTGACGTGAAGACATCAACCGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAA
gi|913000289:2208595-2209782/659-1029 TACGTGGTGTGACGTGAAGACATCAACCGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAA
gi|190335320|gb|EU571087.1|/1-371 TACGTGGTGTGACGTGAAGACATCAACCGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAA
gi|190335318|gb|EU571086.1|/1-371 TACGTGGTGTGACGTGAAGACATCAACCGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAA

gi|307830682|gb|HM352937.1|/245-615 TTACACCACACACAAAGTTTAAAGCAGAAGTTTACGTATTATCTAAAGACGAAGTGGTC
gi|913000289:2208595-2209782/659-1029 TTACACCACACACAAAGTTTAAAGCAGAAGTTTACGTATTATCTAAAGACGAAGTGGTC
gi|190335320|gb|EU571087.1|/1-371 TTACACCACACACAAAGTTTAAAGCAGAAGTTTACGTATTATCTAAAGACGAAGTGGTC
gi|190335318|gb|EU571086.1|/1-371 TTACACCACACACAAAGTTTAAAGCAGAAGTTTACGTATTATCTAAAGACGAAGTGGTC

gi|307830682|gb|HM352937.1|/245-615 GTCACACACCATCTCTCTAACTACCGCCACAAATCTATTTCGGTACTACTGACGTAA
gi|913000289:2208595-2209782/659-1029 GTCACATCCATTCTCTCTAACTACCGCCACAAATCTATTTCGGTACTACTGACGTAA
gi|190335320|gb|EU571087.1|/1-371 GTCACATCCATTCTCTCTAACTACCGCCACAAATCTATTTCGGTACTACTGACGTAA
gi|190335318|gb|EU571086.1|/1-371 GTCACATCCATTCTCTCTAACTACCGCCACAAATCTATTTCGGTACTACTGACGTAA

gi|307830682|gb|HM352937.1|/245-615 CTGGCGTTGTT
gi|913000289:2208595-2209782/659-1029 CTGGCGTTGTT
gi|190335320|gb|EU571087.1|/1-371 CTGGCGTTGTT
gi|190335318|gb|EU571086.1|/1-371 CTGGCGTTGTT

1.10 VEDLEGG 10 – PRIMERE OG PROBE FOR TUF

Alignment av tuf med stafylokokker med primere og TaqMan-probe.

S. aureus: 88193823:533330-534514 Staphylococcus aureus subsp. aureus NCTC 8325 chromosome, complete genome

EPIDERMIDISgi 311990477 gb HM627887.1 /229-580	CAATCACTGGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG	60
SCHLEIFERIGi 190335320 gb EU571087.1 /1-355	CAATCACTGGTGGTACAGTTGCTACTGGTGGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG	60
LUGDISgi 14586724 gb AF298803.1 /357-708	CAATCACTGGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTCG	60
AUREUSgi 88193823:533330-534514/659-1010	CAATCACTGGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG	60
CAPITISgi 14586714 gb AF298798.1 /357-708	CAATCACTGGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG	60
HOWINISgi 14586722 gb AF298802.1 /357-708	CAATCACTGGTGGTACTGTTGCTACAGGCCGTTGAACGTGGTCAAAATCAAAGTTG	60
HAEMOLYTICUSgi 296142276 gb HM032767.1 /279-630	*****	
EPIDERMIDISgi 311990477 gb HM627887.1 /229-580	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCGACGAAAC---TTCATAAACAACTGTTACTGGTG	117
SCHLEIFERIGi 190335320 gb EU571087.1 /1-355	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATGCTGAAGAATCTTCTAAACAACTGTTACTGGTG	120
LUGDISgi 14586724 gb AF298803.1 /357-708	GTGAAGAAGTTGAAATTAATGGTATCCAGTATAC---TACTAAACAACTGTTACTGGTG	117
AUREUSgi 88193823:533330-534514/659-1010	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATACATGACAC---ATCTAAACAACTGTTACAGGTG	117
CAPITISgi 14586714 gb AF298798.1 /357-708	GTGAAGAAGTTGAAATCATCGGTATCCAGGAAAC---TTCATAAACAACTGTTACTGGTG	117
HOWINISgi 14586722 gb AF298802.1 /357-708	GTGAAGAAGTTGAAATTAATGGTATCAAAGAAC---TTCATAAACAACTGTTACTGGTG	117
HAEMOLYTICUSgi 296142276 gb HM032767.1 /279-630	GTGAAGAAGTTGAAATCATTTGGTATCCATGACAC---TTCATAAACAACTGTTACTGGTG	117
EPIDERMIDISgi 311990477 gb HM627887.1 /229-580	TAGAAATGTTCCGTAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTAT	177
SCHLEIFERIGi 190335320 gb EU571087.1 /1-355	TAGAAATGTTCCGTAATATTAGACTACGCTAGGCTGAAGCTGGTGACAACATTTGGTGCCTTAT	180
LUGDISgi 14586724 gb AF298803.1 /357-708	TAGAAATGTTCCGTAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCGTTAT	177
AUREUSgi 88193823:533330-534514/659-1010	TTGAAATGTTCCGTAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATTTGGTGCATTTAT	177
CAPITISgi 14586714 gb AF298798.1 /357-708	TAGAAATGTTCCGTAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTAT	177
HOWINISgi 14586722 gb AF298802.1 /357-708	TAGAAATGTTCCGTAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCTTTAT	177
HAEMOLYTICUSgi 296142276 gb HM032767.1 /279-630	TAGAAATGTTCCGTAATATTAGACTACGCTGAAGCTGGTGACAACATCGGTGCATTTAT	177
EPIDERMIDISgi 311990477 gb HM627887.1 /229-580	TACGTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCTA	237
SCHLEIFERIGi 190335320 gb EU571087.1 /1-355	TACGTGGTGTGCACGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAA	240
LUGDISgi 14586724 gb AF298803.1 /357-708	TACGTGGTGTGCTCGTGAAGATGTACAACGTGGCAAGTATTAGCTGCCAGGTTCAA	237
AUREUSgi 88193823:533330-534514/659-1010	TACGTGGTGTGCTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAA	237
CAPITISgi 14586714 gb AF298798.1 /357-708	TACGTGGTGTGCTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAA	237
HOWINISgi 14586722 gb AF298802.1 /357-708	TACGTGGTGTGCTCGTGAAGATGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAA	237
HAEMOLYTICUSgi 296142276 gb HM032767.1 /279-630	TACGTGGTGTGCTCGTGAAGACGTACAACGTGGTCAAGTATTAGCTGCTCCTGGTTCAA	237

***** * * * ***** ***** ***** ***** *

1.12 VEDLEGG 12 –FORTYNNING AV PRIMERE. BRUKSLØSNING 5 µM.

5 µM løsnings				
Oligo name	Navn i stock (forkortelse brukt i fryser/kjøleskap)	Sekvens	Trekkes opp av 100µM løsnings	Vann som tilsettes 100 µM løsnings
gap-F	G- F	GGA-GAA-GTT-GAA-GTT-ATC-GAA-G	25 µl	475µl
gap-R	G- R	GCT-AAT-GAG-TTA-GTA-GTA-CAA-G	25 µl	475µl
sodA-F	S- F	TTA-AAT-TCA-GCA-GTT-GAA-GGG-A	25 µl	475µl
sodA-R	S- R	ACA-ACT-AAC-CAA-GCC-CAT	25 µl	475µl
rpoB-F	R- F	TGA-AAC-GCC-ATA-TCG-TAA-AGT-G	25 µl	475µl
rpoB-R	R- R	CAA-GTC-TAG-AAT-TAG-CCT-GT	25 µl	475µl
tuf-F	T- F	AGT-TGA-AAT-CAT-CGG-TAT-GC	25 µl	475µl
tuf-R	T- R	TGT-GGG-CGA-TAG-TTA-GTG	25 µl	475µl
hsp60-F	H – F	GTG-CAA-ATC-CTG-TAG-GCT-TAA	25 µl	475µl
hsp60-R	H – R	CAG-AAA-TGT-AGC-GAC-CGA	25 µl	475µl