

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК: 616.013

Д. Б. Бабенко, А. А. Турмухамбетова, И. С. Азизов

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ СУБВИДОВОГО ТИПИРОВАНИЯ *S. AUREUS* НА ПРИМЕРЕ ПУЛЬС-ГЕЛЬ ЭЛЕКТРОФЕРЕЗА И МУЛЬТИЛОКУСНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ-ТИПИРОВАНИЯ

Карагандинский государственный медицинский университет

*Цель работы:* сравнение результатов пульс-гель электрофореза и мультилокусного секвенирования-типирования на основе аллелей и однонуклеотидных замен, используя параметры дискриминирующей способности и конкордантности.

*Материалы и методы:* In silico анализ полногеномных данных *S. aureus* (n=79) для определения пульс-гель электрофорез паттернов и типов мультилокусного секвенирования-типирования. Анализ результатов пульс-гель электрофореза проводился с использованием программ Geneious и TotalLab. Конкордантность и дискриминирующая способность оценивалась на основании индексов Симпсона и Ранда с использованием онлайн-ресурса ([darwin.phyloviz.net/ComparingPartitions](http://darwin.phyloviz.net/ComparingPartitions)). Филогенетический анализ проводился с использованием R statistics.

*Результаты и обсуждение:* На основе 79 геномов *S. aureus* в 78 случаях были определены как пульс-гель электрофорезограммы, так и типы мультилокусного секвенирования-типирования. Дискриминирующая способность пульс-гель электрофореза и мультилокусного секвенирования-типирования составила 31%. 98,3% и 91,4% соответственно. Конкордантность (согласованность) между пульс-гель электрофорезом и мультилокусным секвенированием-типированием составила 31%. На уровне клональных комплексов для мультилокусного секвенирования-типирования и результатами пульс-гель электрофореза с использованием 57-71% cut off наблюдалась хорошая согласованность результатов. Филогенетический анализ типов мультилокусного секвенирования-типирования на основе аллелей и снипов выявил различие в кластеризации данных.

*Выводы:* Пульс-гель электрофорез с использованием эндонуклеазы SmaI показал более высокую разрешающую способность в сравнении с мультилокусным секвенированием-типированием, при этом конкордантность результатов на уровне типов составила порядка 31%. На уровне комплексов/групп наблюдалась хорошая согласованность результатов. Параметр спутанности при сравнении дендрограмм показал различие кластеризации при использовании различных данных (аллели или однонуклеотидные мутации).

*Ключевые слова:* пульс-гель электрофорез, мультилокусное секвенирование-типирование, дискриминирующая способность, конкордантность

*S. aureus*, в особенности метициллин-устойчивые (MRSA), являясь одним из важных бактериальных патогенов человека, продолжают представлять собой глобальную проблему здравоохранения [7, 10, 14]. Приблизительно у 2% пациентов развивается госпитальная инфекция вызванная стафилококками [22], что влечет за собой увеличение продолжительности госпитализации в 2 раза, риск летальности и повышенные расходы на лечение [26]. Более того, в случае антибиотико-устойчивых штаммов *S. aureus* экономический эффект возрастает. Цена на лечение инфекций, вызванных MRSA, приблизительно на 2 500\$ выше по сравнению с инфекциями, вызванными чувствительными штаммами *S. aureus*, вследствие большей продолжительности госпитализации и лечения более дорогими антибиотиками [26]. Сравнительный анализ полногеномных данных *S. aureus* выявил наличие, наряду со стабильным набором генов, распределенных при делении клеток (вертикальный перенос генетической информации), мобильных генов/генетических эле-

ментов, распространяющихся горизонтальным путем (бактериофаги, хромосомные кассеты, плазмиды, транспозоны) [7]. Многие из этих генов обеспечивают факторы вирулентности и резистентности [7, 18]. Было показано, что резистентность к оксациллину и метициллину обеспечивается синтезом так называемого пенициллин-связывающего белка – PBP2a, который обладает низкой аффинностью к связыванию с бета-лактамами антибиотиками [4]. Филогенетический анализ показал, что *S. aureus* приобретал генетические детерминанты устойчивости к метициллину как минимум 5 раз с 1960 г. [6, 8, 9, 11, 12].

На данный момент распространение изолятов MRSA приобрело глобальный характер [1, 3, 5]. В сложившейся ситуации необходимы эффективные методы мониторинга на основе субвидового типирования микроорганизмов с целью ограничения появления и распространения эпидемически «успешных» клонов. При этом методы должны проводить разделение внутри вида, определяя связанные штаммы, имеющие клональное родство. На

сегодняшний момент различные методы субвидового типирования микроорганизмов, такие как sra типирование, мультилокусное секвенирование-типирование (МЛСТ), пульс-гель электрофорез (ПГЭ) и другие разработаны и используются с успехом на практике, позволяя определить генетическое родство между изолятами [21, 27, 30].

Метод пульс-гель электрофореза основан на разделении фрагментов геномной ДНК после обработки редко-щепящей эндонуклеазой. Фрагменты ДНК, проходя через гель, формируют собственный фингерпринт паттерн из 10-30 бэндов в диапазоне 10-700 т.п.о. Было показано, что макрорестрикционный паттерн идеально подходит для трэкинга путей распространения MRSA с пространственно-временными характеристиками, что крайне важно для эпидемиологического исследования [17, 31]. Многие авторы рассматривают пульс-гель электрофорез в качестве золотого стандарта с которым сравнивают результаты других молекулярных методов типирования микроорганизмов при исследовании распространения внутрибольничных вспышек в силу высокой разрешающей способности данного метода [2].

Метод мультилокусного секвенирования-типирования основан на секвенировании внутренних фрагментов (~450-500 пар оснований) так называемых генов домашнего хозяйства [23]. При этом каждому аллелю присваивается индивидуальный цифровой номер. Таким образом, МЛСТ схема из 7 генов приобретает цифровой код из 7 значений. Такие данные легко сравниваются между лабораториями. Более того, стандартизованный подход в МЛСТ позволил создать унифицированную МЛСТ базу данных для стафилококков (<http://mlst.ox.ac.uk>) с возможностью вносить собственные результаты, определяя сиквенс-тип и сравнивая с результатами других исследований.

**Цель работы** – сравнительный анализ результатов пульс-гель электрофореза и мультилокусного секвенирования-типирования на основе аллелей и однонуклеотидных замен, используя параметры дискриминирующей способности и конкордантности.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Завершенные и аннотированные геномы *S. aureus* (n=79) были получены из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>). На основе полногеномных данных были получены пульс-гель электрофорезограммы после рестрикции эндонуклеазой SmaI [29], используя программу Geneious [20] (рис. 1).



Рисунок 1 – Фрагмент *in silico* пульс-гель электрофореза на основе геномной ДНК *S. aureus* (Ladder – PFGE ranged 10kb-1Mb)

Изображение с ПГЭ в дальнейшем обрабатывалось при помощи программы анализа 1D гелей – TotalLab (Nonlinear Dynamics) для определения расположения бэндов и построения бинарной матрицы, где 0 – отсутствие фрагмента, 1 – наличие фрагмента ДНК (рис. 2).

В дальнейшем на основе бинарной матрицы рассчитывалась матрица генетических дистанций на основании коэффициента схожести Jaccard с использованием EMA пакета R statistics [28].

Определение МЛСТ типов на основе геномов *S. aureus* проводилось с помощью веб-ресурса центра геномной эпидемиологии ([www.genomicpidemiology.org](http://www.genomicpidemiology.org)). Каждому МЛСТ типу соответствовал 7-значный цифровой код, состоящий из аллелей для каждого из 7 внутренних участков house-keeping генов. Каждой аллели были определены последовательности ДНК генов для проведения выравнивания (alignment) с целью определения однонуклеотидных замен, так называемые однонуклеотидные полиморфизмы (SNPs). Таким образом, на основе геномных данных были определены 2 таблицы для МЛСТ типов – таблица аллелей и таблица с однонуклеотидными заменами. Для каждой таблицы были рассчитаны генетические дистанции на основе M. Nei формулы

$$1 - \frac{1}{r} \sum_j \sum_j^{m_j} \sqrt{x_{ij}y_{ij}} \quad [24].$$

Клональные комплексы для МЛСТ типов формировались на основе goeBURST алгоритма [13], при этом в состав комплекса вошли сиквенс-типы, отличающиеся на 1 аллель из 7, при условии, что в комплексе должно быть не менее 3 разных генотипов.

Дискриминирующая способность и конкордантность была оценена на основе индекса





Таблица 1 – Результаты дискриминирующей силы методов субвидового типирования стафилококков

Метод типирования	Количество уникальных типов	Симпсон индекс	95% ДИ
МЛСТ аллель/snp	28	0.914	(0.876-0.953)
ПГЭ	63	0.983	(0.969-0.998)

разнообразия Симпсона [19] и скорректированного коэффициента Ранда [25], используя ресурс <http://darwin.phylviz.net/Comparing-Partitions>. Графическое представление конкордантности, а также количественная оценка на основе критерия спутанности (entanglement), используя дендрограммы, построенные исходя из генетических дистанций, рассчитанные для пульс-гель электрофореза и сиквенс-типов с использованием аллельных данных и однонуклеотидных замен и метода кластеризации Ward, были получены при помощи dendextend пакета R Statistics [15].

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Из 79 геномов *S. aureus* в 78 случаях были успешно определены варианты аллелей в 7 генах и установлен МЛСТ тип. На основании goeBURST алгоритма была построена дендрограмма минимальных дистанций, которая позволила определить клональные комплексы для МЛСТ типов. В результате были получены 3 МЛСТ комплекса, включающие в себя 48 геномов (рис. 3).

In silico SmaI рестрикция геномов *S. aureus* привела к фрагментации ДНК в количестве от 18 до 31 фрагментов (медиана = 27, 95% ДИ для медианы 27-28), которые были

распределены в соответствии молекулярных масс для пульс-гель электрофореза в диапазоне от 10 тыс. до 1 млн. пар оснований. На рисунке 4 изображено кластеризация на основе пульс-гель электрофореза и соответствующих МЛСТ типов и клональных комплексов.

Изучена разрешающая способность методов внутривидового типирования, рассчитанная на основе индекса Симпсона (табл. 1).

Проанализирована согласованность сиквенс-типов и паттерн-типов пульс-гель электрофореза, рассчитанных на основе коэффициента Ранда (табл. 2). Так, пульс-гель электрофорез, формирующий паттерны из 20-30 бэндов, обладает большей дискриминирующей силой порядка 98,3% по сравнению с

Таблица 2 – Конкордантность пульс-гель электрофореза (ПГЭ) и МЛСТ, определенных на аллелях и однонуклеотидных заменах

Метод типирования	ПГЭ
ПГЭ	1,00
МЛСТаллель	0.310
МЛСТsnp	0.310

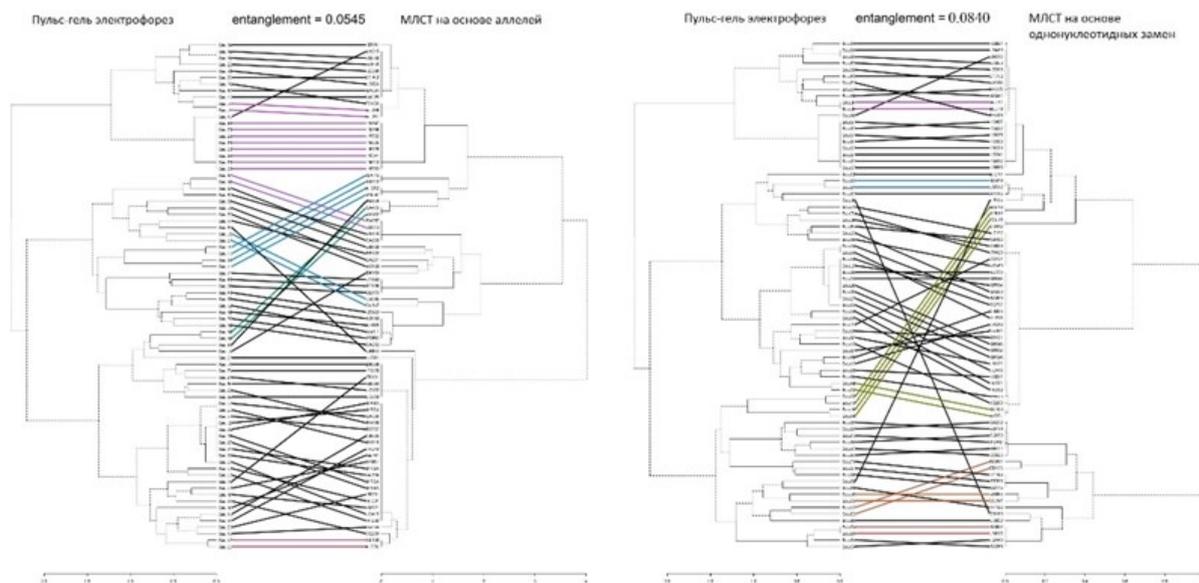


Рисунок 5 – Конкордантность на основе сравнения дендрограмм, полученных для пульс-гель электрофореза и МЛСТ

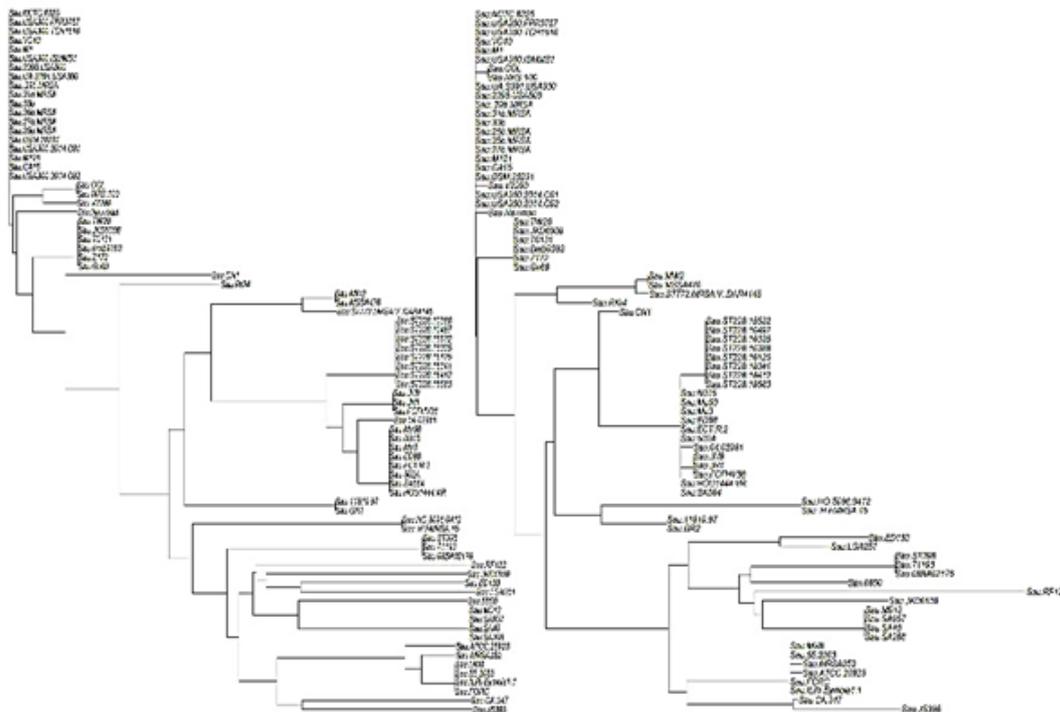


Рисунок 6 – Филогенетический анализ МЛСТ типов на основе аллелей и снипов с использованием BioNJ алгоритма [16]

МЛСТ (91,4%), состоящим из 7-значного цифрового кода. Изучена согласованность результатов двух методов типирования *S. aureus* на уровне типов (табл. 2).

Графическое представление согласованности (конкордантности) дендрограмм на основе пульс-гель электрофореза и МЛСТ аллели/МЛСТsnr показано на рисунке 5.

Несмотря на одинаковую конкордантность рассчитанную с помощью Rand индекса, степень спутанности (entanglement parameter) между дендрограммами в случаях ПЭГ – МЛСталлель и ПЭГ – МЛСтsnr различная и составляет 0,05 и 0,08 соответственно

Филогенетический анализ показал различие в кластеризации на основе аллелей и однонуклеотидныхзамен для одних и тех же МЛСТ типов (рис. 6).

## ВЫВОДЫ

1. Пульс-гель электрофорез как метод субвидового типирования с использованием SmaI рестриктазы обладает большей дискриминирующей способностью (98,3%) по сравнению с мультилокусным секвенированием-типированием (91,4%).

2. Конкордантность результатов на уровне типов составила порядка 31%. В то же время наблюдается хорошая согласованность результатов МЛСТ на уровне клональных комплексов и результатов паттерн-профилей на уровне 57-71% cutoff.

3. Филогенетический анализ выявил различную структуру кластеризации при использовании различных данных МЛСТ – на основе 7-значных аллельных данных и на основе од- нонуклеотидных мутаций.

4. Важным параметром при сравнении дендрограмм является параметр спутанности (entanglement), показывающей расположение штамма на ветвях деревьев, что, несомненно, будет отражаться на согласованности результатов типирования при сравнении на уровне комплексов/групп/кластеров.

## ЛИТЕРАТУРА

1 Aires de Sousa M. Comparison of genetic backgrounds of methicillin-resistant and - susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from Portuguese hospitals and the community /M. Aires de Sousa, T. Conceicao, C. Simas, et al. //J. Clin. Microbiol. – 2005. – V. 43(10). – P. 5150-5157.

2 Aires de Sousa M. , de Lencastre H. Bridges from hospitals to the laboratory: genetic portraits of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones //FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 2004. – V. 40(2). – P. 101-111.

3 Begier E. M. A high-morbidity outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among players on a college football team, facilitated by cosmetic body shaving and turf burns /E.

M. Begier, K. Frenette, N. L. Barrett, et al. //Clin. Infect. Dis. – 2004. – V. 39(10). – P. 1446-1453.

4 Chambers H. F. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications //Clin. Microbiol. Rev. – 1997. – V. 10(4). – P. 781-791.

5 Cirlan M. International spread of major clones of methicillin resistant Staphylococcus aureus: nosocomial endemicity of multi locus sequence type 239 in Saudi Arabia and Romania / M. Cirlan, M. Saad, G. Coman, et al. //Infect. Genet. Evol. – 2005. – V. 5(4). – P. 335-339.

6 Crisostomo M. I. The evolution of methicillin resistance in Staphylococcus aureus: similarity of genetic backgrounds in historically early methicillin-susceptible and -resistant isolates and contemporary epidemic clones /M. I. Crisostomo, H. Westh, A. Tomasz, et al. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – V. 98(17). – P. 9865-9870.

7 de Lencastre H. The CEM-NET initiative: molecular biology and epidemiology in alliance-tracking antibiotic-resistant staphylococci and pneumococci in hospitals and in the community / H. de Lencastre, A. Tomasz //Int. J. Med. Microbiol. – 2011. – V. 301(8). – P. 623-629.

8 Enright M. C. The evolution of a resistant pathogen--the case of MRSA //Curr. Opin. Pharmacol. – 2003. – V. 3(5). – P. 474-479.

9 Enright M. C. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of Staphylococcus aureus /M. C. Enright, N. P. Day, C. E. Davies et al. //J. Clin. Microbiol. – 2000. – V. 38(3). – P. 1008-1015.

10 European Antimicrobial Resistance Surveillance System EARSS annual report 2011. Available at [www.ecdc.europa.eu/](http://www.ecdc.europa.eu/). Stockholm, Sweden: European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) /European Antimicrobial Resistance Surveillance System. – 2012. – V. 2. – P. 55-57.

11 Feil E. J. How clonal is Staphylococcus aureus? /E. J. Feil, J. E. Cooper, H. Grundmann et al. //J. Bacteriol. – 2003. – V. 185(11). – P. 3307-3316.

12 Feil E. J. Analyses of clonality and the evolution of bacterial pathogens /E. J. Feil, M. C. Enright //Curr. Opin. Microbiol. – 2004. – V. 7(3). – P. 308-313.

13 Feil E. J. eBURST: inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data /E. J. Feil, B. C. Li, D. M. Aanensen et al. //J. Bacteriol. – 2004. – V. 186(5). – P. 1518-1530.

14 Fluckiger U. Epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus /U. Fluckiger, A. F. Widmer //Chemotherapy. – 1999. – V. 45(2). – P. 121-134.

15 Galili T. dendextend: an R package for visualizing, adjusting and comparing trees of hierarchical clustering //Bioinformatics. – 2015. – V. 31(22). – P. 3718-3720.

16 Gascuel O. BIONJ: an improved version of the NJ algorithm based on a simple model of sequence data //Mol. Biol. Evol. – 1997. – V. 14(7). – P. 685-695.

17 Goering R. V. Rapid method for epidemiological evaluation of gram-positive cocci by field inversion gel electrophoresis /R. V. Goering, M. A. Winters //J. Clin. Microbiol. – 1992. – V. 30(3). – P. 577-580.

18 Hiramatsu K. Genetic characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus /K. Hiramatsu, S. Watanabe, F. Takeuchi et al. //Vaccine. – 2004. – V. 22. – P. 5-8.

19 Hunter P. R. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity /P. R. Hunter, M. A. Gaston //J. Clin. Microbiol. – 1988. – V. 26(11). – P. 2465-2466.

20 Kearse M. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data /M. Kearse, R. Moir, A. Wilson et al. //Bioinformatics. – 2012. – V. 28(12). – P. 1647-1649.

21 Li Y. Prevalence of Enterotoxin Genes and spa Genotypes of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus from a Tertiary Care Hospital in China /Y. Li, R. Zhao, X. Zhang et al. //J. Clin. Diagn. Res. – 2015. – V. 9(5). – P. 11-14.

22 Lindsay J. A. Staphylococcus aureus: superbug, super genome? /J. A. Lindsay, M. T. Holden //Trends Microbiol. – 2004. – V. 12(8). – P. 378-385.

23 Maiden M. C. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms /M. C. Maiden, J. A. Bygraves, E. Feil et al. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – V. 95(6). – P. 3140-3145.

24 Nei M. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data /M. Nei, F. Tajima, Y. Tateno //J. Mol. Evol. – 1983. – V. 19(2). – P. 153-170.

25 Pinto F. R. Ranked Adjusted Rand: integrating distance and partition information in a measure of clustering agreement /F. R. Pinto, J. A. Carrico, M. Ramirez et al. //BMC Bioinformatics. – 2007. – V. 8 - P. 44.

26 Rubin R. J. The economic impact of Staphylococcus aureus infection in New York City hospitals /R. J. Rubin, C. A. Harrington, A. Poon et al. //Emerg. Infect. Dis. – 1999. – V. 5(1). – P. 9-17.

27 Saunders N. A. Multilocus sequence typing (MLST) of Staphylococcus aureus /N. A. Saunders, A. Holmes //Methods. Mol. Biol. – 2014. – V. 1085. – P. 113-130.

28 Servant N. EMA - A R package for Easy Microarray data analysis /N. Servant, E. Gravier, P. Gestraud et al. //BMC Res. Notes. – 2010. – V. 3. – P. 277.

29 Stranden A. Molecular typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus: can PCR

replace pulsed-field gel electrophoresis? /A. Stranden, R. Frei, A. F. Widmer //J. Clin. Microbiol. – 2003. – V. 41(7). – P. 3181-3186.

30 Szalus-Jordanow O. PFGE and AFLP genotyping of Staphylococcus aureus subsp. anaerobius isolated from goats with Morel's disease /O. Szalus-Jordanow, D. Chrobak, M. Pyrgiel et al. //Arch. Microbiol. – 2013. – V. 195(1). – P. 37-41.

31 Tenover F. C. Comparison of traditional and molecular methods of typing isolates of Staphylococcus aureus./ F.C. Tenover, R. Arbeit, G. Archer et al. //J. Clin. Microbiol. – 1994. – V. 32(2). – P. 407-415.

Поступила 03.11.2015 г.

*D. B. Babenko, A. A. Turmukhambetova, I. S. Azizov*

*COMPARATIVE ANALYSIS OF METHODS OF S. AUREUS SAB-SPECIES TYPING ON THE EXAMPLE OF PULSE-GEL ELECTROPHORESIS AND MULTILOCUS SEQUENCING TYPING*

*Karaganda state medical university*

*Objective:* To compare the results of pulse-gel electrophoresis and multilocus sequencing typing based on alleles or single nucleotide substitution using discriminatory ability and concordance.

*Material and Methods:* In silico analysis of S.aureus genomes (n=79) to determine the pulse-gel electrophoresis patterns and MLST types. Analysis was performed using Geneious and TotalLab softwares. Concordance and discriminatory power was assessed using the Simpson and Rand indexes using online tool ([darwin.phylloviz.net/ComparingPartitions](http://darwin.phylloviz.net/ComparingPartitions)). Phylogenetic analysis was performed with R statistics.

*Result and Discussion:* In 78 cases out of 79 genomes of S.aureus were possible to identify PFGE patterns and MLST types. Resolution power of PFGE and MLST were 98.3% and 91.4%, respectively. There was good agreement between PFGE and MLST at clonal complexes for MLST and 57-71% cutoff for PFGE. Phylogenetic analysis revealed the difference in clustering of MLST data depending on alleli and snp.

*Conclusions:* Pulse-gel electrophoresis using SmaI endonuclease had higher discriminatory power in comparison with MLST typing. The concordance between PFGE and MLST types was 31%. There was good agreement between PFGE and MLST results when clonal complexes and ~60% cutoff for PFGE were used. Entanglement parameter showed difference in clustering when various data (alleli or snp) were used.

*Keywords:* pulse gel electrophoresis, multilocus sequencing typing, discriminating ability, concordance

*Д. Б. Бабенко, А. А. Турмухамбетова, И. С. Азизов*

*ЭЛЕКТРОФОРЕЗДІҢ ПУЛЬС-ГЕЛІ МЕН МУЛЬТИЛОКУСТЫ СЕКВЕНИРЛЕУ ТИПТЕУДІҢ МЫСАЛЫНДА S. AUREUS СУБТҮРІНДЕГІ ТИПТЕУДІҢ ӘДІСТЕРІН САЛЫСТЫРМАЛЫ ТАЛДАУ*

*Қарағанды мемлекеттік медициналық университеті*

*Жұмыстың мақсаты:* электрофорез пульс-гелі мен мультилокусты секвенирлеу-типтеу нәтижелерін дискриминациялаушы қабілет пен конкорданттылықтың параметрлерін қолдана отырып, алеллдер мен бір нуклеотидті алмастырулардың негізінде салыстыру.

*Материалдар мен әдістер:* S. aureus (n=79) толықгеномды мәліметтердің In silico талдау паттерндердің электрофорез пульс-гелі мен мультилокусты секвенирлеу-типтеу анықтау үшін. Электрофорез пульс-гелі нәтижелерінің талдауы Geneious және TotalLab бағдарламаларын пайдаланумен жүргізілді. Конкорданттылық пен дискриминациялаушы қабілет Симпсон және Ранда индекстерінің негізінде онлайн-ресурсты қолданумен бағаланды ([darwin.phylloviz.net/ComparingPartitions](http://darwin.phylloviz.net/ComparingPartitions)). Филогенетикалық талдау R statistics қолданумен жүргізілді.

*Нәтижелер мен талқылау:* 79 геномдардың негізінде S. aureus 78 жағдайда электрофорезограмманың пульс-гелі ретінде анықталды, сол сияқты мультилокусты секвенирлеу-типтеу түрлері де анық болды. Электрофорезограмманың пульс-гелінің және мультилокусты секвенирлеу-типтеудің дискриминациялаушы қабілеті 31% құрады. Клоналдық кешендердің деңгейінде мультилокусты секвенирлеу-типтеу мен электрофорез пульс-гелі үшін cut off 57-71% пайдаланумен нәтижелердің жақсы үйлесуі байқалды. Дендрограммаларды салыстыру кезінде шатастыру параметрі әртүрлі мәліметтерді (аллелдерді немесе бір нуклеотидты мутацияларды) қолдану кезінде кластеризациялаудың айырмашылығын көрсетті.

*Кілт сөздер:* электрофорез пульс-гелі, мультилокусты секвенирлеу-типтеу, дискриминациялаушы қабілет, конкорданттылық