

А.К. Жантлеуова , Т.Д. Укбаева

*Евразийский национальный университет и.м. Л.Н. Гумилева, Астана, Республика
Казахстан*

(E-mail: ah-s-ia@mail.ru, toma.ukbaeva@mail.ru)

Методы генотипирования патогенных микроорганизмов

Аннотация: Существуют различные фенотипические методы идентификации микроорганизмов, недостатки которых привели к формированию новейших инновационных способов типирования на основе последовательности ДНК микроорганизмов, которые сводят к минимуму проблемы с дискриминирующей силой и воспроизводимостью и, в некоторых случаях, позволяют создавать большие совместимые базы данных охарактеризованных организмов. В данном обзоре дается характеристика некоторых молекулярно-генетических методов типирования патогенных микроорганизмов, в том числе и основанных на полимеразной цепной реакции: MLVA, гер-PCR, WGS. Приведенные данные могут быть использованы исследователями в их практической деятельности, так как дают некоторые данные о их свойствах и значимости. Применение этих методов позволяет проводить долгосрочный эпидемиологический надзор над инфекционными заболеваниями, что в свою очередь повлечет к существенному сокращению числа инфицированных людей и устранению путей распространения заболеваний.

Ключевые слова: геном, молекулярная диагностика, генотипирование, микроорганизмы, инфекционные заболевания, полимеразная цепная реакция, электрофорез.

Своевременная идентификация и типирование патогенных штаммов микроорганизмов имеет особую важность не только для лечения людей и животных, но также и для обнаружения источника заражения, устранения путей распространения и проведения профилактических мероприятий. Несмотря на огромное количество методов типирования, их многообразие оправдано различными характеристиками и целью проводимого исследования. Наиболее оптимальным методом является тот, который, имея высокую дискриминирующую силу и воспроизводимую, прост в исполнении и имеет низкую себестоимость [1]. В настоящее время для идентификации микроорганизмов все чаще используются молекулярно-генетические методы исследования, что связано с быстрым развитием инновационных технологий в практической генетике. К таким методам можно отнести исследования, основанные на анализе плазмидной или хромосомной ДНК [2].

Плазмидный анализ (ПА), или анализ плазмидного профиля, является классическим генетическим методом, который используется на протяжении многих лет. Суть ПА заключается в анализе картины электрофореза целостных плазмид или их фрагментов. Это дает возможность изучить количество и молекулярную массу плазмидного спектра. Плазмиды, не являясь обязательным компонентом клетки, могут легко приобретаться либо теряться в результате горизонтального переноса генов. Однако, некоторые виды имеют серовароспецифические плазмиды, ответственные за вирулентность штаммов и имеющие разные размеры. ПА характеризуется как простой в исполнении метод при хорошей воспроизводимости, невысокой стоимости и неплохой разрешающей возможности [3].

Пульс-электрофорез (ПЭФ) признан «золотым стандартом» генотипирования, он часто является основой для разработки новых методов. Несомненным недостатком ПЭФ является резкое изменение электрофоретического профиля всего лишь из-за одной мутации. Кроме того, данный метод является длительным (3-4 дня) и достаточно трудоемким. Суть метода состоит в разделении крупных молекул ДНК, предварительно обработанных рестриктазами, с помощью электрофореза с периодически меняющимся направлением тока. Таким образом, большие рестрикционные фрагменты разделяются независимым образом, и этот способ дает относительно немного полос на геле, что облегчает анализ результатов [4]. Для большинства бактерий ПЭФ может кластиризовать фрагменты ДНК размером от 30 кб до более 1 Мб [5]. В течение многих лет ПЭФ был основным инструментом для

генотипирования в широкомасштабных эпидемиологических исследованиях, а также успешно использовался для передачи данных между лабораториями. Успех ПЭФ обусловлен его превосходной дискриминирующей силой, относительной низкой себестоимостью и отличной воспроизводимостью. Благодаря стандартизации протоколов для ПЭФ стало возможно межлабораторное сравнение [6].

Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) основан на свойстве рестриктаз «разрезать» целостную ДНК на многочисленные фрагменты, количество и размеры которых сильно отличаются у разных штаммов. Несмотря на простоту выполнения, методика сложна для интерпретации, что вызвано большим количеством фрагментов ДНК. Поэтому данный метод, как правило, используется в сочетании с молекулярными зондами, и чаще всего для рибосомальных генов [7].

Полиморфизм длин амплифицированных фрагментов (ПДАФ) базируется на лигировании расщепленной ДНК с помощью адаптеров. В начале тотальную ДНК обрабатывают частоцепящими и редкоцепящими рестриктазами, с последующим само лигированием. После амплификации с флуоресцентно-мечеными праймерами проводят капиллярный электрофорез [8]. На эффективность ПДАФ сильно влияет адаптер, при недостаточной оптимизации метод может иметь меньшую разрешающую способность. ПДАФ описывается как метод, имеющий столь же высокую дискриминирующую силу, что и ПЭФ [9]. Кроме того, ПДАФ является высокопроизводимым методом и, как и другие методы, основанные на ДНК, может быть автоматизирован [10]. Основные ограничения включают в себя тот факт, что метод трудоемкий (типичный анализ занимает около трех дней), а комплекты для экстрагирования ДНК, систем обнаружения флуоресценции и адаптеров являются дорогостоящими [11].

ПЦР с произвольными праймерами (RAPD) основан на использовании произвольных олигонуклеотидных праймеров длиной 9–10 нуклеотидов, в результате чего получается разное количество фрагментов. RAPD-типирование имеет множество достоинств: быстрота исполнения, низкая себестоимость, высокая показательная способность. Также при использовании данного метода не требуется дополнительно подбирать праймеры и сам процесс нельзя назвать трудоемким. Основным минусом RAPD-типирования является то, что результат исследования находится в тесной зависимости от качественного выделения ДНК и протокола проведения ПЦР [12]. Метод RAPD основан на параллельной амплификации набора фрагментов с использованием праймеров, которые нацелены на несколько неуточненных геномных последовательностей. Амплификацию проводят при низкой, не строгой температуре отжига, что позволяет гибридизировать несколько несоответствующих последовательностей. Важно отметить, что количество и положение сайтов связывания праймера уникальны для конкретного бактериального штамма. RAPD ампликоны могут быть проанализированы электрофорезом в агарозном геле или секвенированием ДНК в зависимости от маркировки праймеров соответствующими флуоресцентными красителями. Хотя, RAPD и имеет более низкую дискриминирующую способность, этот метод широко используется в случаях вспышек [13,14], поскольку он прост, недорог, быстр и прост в использовании. К недостаткам метода RAPD так же можно отнести его низкую внутрилабораторную воспроизводимость, так как используются очень низкие температуры отжига. Более того, RAPD испытывает недостаток в межлабораторной воспроизводимости, поскольку он чувствителен к тонким различиям в реагентах, протоколах и лабораторном оборудовании [15].

ПЦР с праймерами на повторяющиеся элементы называют гер-PCR. Увеличение количества нужных фрагментов проводится с использованием праймеров к консенсусной последовательности повторяющихся элементов, расположенных по всему геному. Совокупность амплифицированных последовательностей разной длины, расположенных между повторами, визуализируется с помощью гель-электрофореза. Из числа повторяющихся нуклеотидных последовательностей можно отметить 3 группы: экстрагенные - повторяющиеся палиндромы длиной 35–40 п.н. REP, повторяющиеся межгенные последовательности длиной 124–127 п.н., ERIC и BOX-элементы длиной 154 п.н. [16]. Поскольку этот подход к генотипированию основан на ПЦР-амплификации и последующем электрофорезе ДНК, результаты гер-PCR могут быть получены за относительно короткий период времени. Это

также является причиной того, что данный подход очень дешев. Для многих бактериальных организмов гер-PCR может иметь весьма высокую дискриминирующую способность [17, 18]. Основным ограничением гер-PCR в сочетании с гель-электрофорезом является то, что метод не обладает достаточной воспроизводимостью. Примером гер-PCR может служить ERIC-PCR. Эукариотический геном в своем составе имеет большой объем некодирующей информации, в том числе повторяющиеся последовательности ДНК, функция которых остается в основном неизученной. Геном прокариот в процессе эволюционного давления для быстрой реакции на изменения окружающей среды стал намного меньше и в основном некодирующая ДНК в них сведена к минимуму, так у прокариот отсутствуют интроны, геном демонстрирует высокую плотность транскрибируемых последовательностей. Есть даже примеры кодирующих областей, где терминальный кодон одного гена перекрывается с начальным кодоном следующего гена. Тем не менее, в 1990 году Sharples и Lloyd сообщили о повторяющемся элементе семейства *Enterobacteriaceae*, который был назван энтеробактериальной повторяющейся межгенной консенсусной последовательностью (ERIC). Последовательность ERIC представляет собой элемент длиной 126 bp, содержащий высококонсервативные инвертированные повторы, праймеры для которого были разработаны в 1991 году Versalovic и другими. Олигонуклеотид ERICALL содержит центральный коровый инвертированный повтор. Праймеры ERIC1R и ERIC2 были сконструированы из каждой половины ERICALL в противоположных ориентациях, так что 3'-концы направлены наружу от центра элемента ERIC [19].

Принцип мультилокусного анализа числа переменных tandemных повторов (MLVA) заключается в выявлении tandemно расположенных повторяющихся последовательностей, число повторов которых варьирует у различных штаммов. Варибельное число tandemных повторов (VNTR) в зависимости от длины можно разделить на три класса: более 7 нуклеотидов, 2–6 нуклеотидов и однонуклеотидные повторы. Последний тип относят к анализу однонуклеотидных повторов (SNR), когда как первые два - к MLVA-типированию. Анализировать tandemные повторы можно несколькими техническими приемами: с использованием полиакриламидного или агарозного геля, капиллярного электрофореза. Применение полиакриламидного или агарозного геля намного доступнее и дешевле, однако, использование автоматических анализаторов повышает точность результата [20]. Преимущество данного метода состоит в том, что вся процедура может быть выполнена в лаборатории без сложного оборудования. Когда MLVA не позволяет удобно и однозначно вычислить количество повторов на locus, некоторые исследователи называют его мультилокусным фингерпринтингом переменных tandemных повторов (MLVF) [21]. Недостатком MLVF является то, что полученные данные не могут сравниваться напрямую между различными лабораториями. Это связано с тем, что сгенерированные ампликоны представлены как полосы на агарозных гелях с низким разрешением. Оба метода не позволяют определить точное количество повторов в полученных ампликонах. Достоинством MLVF является возможность определения длины нескольких последовательностей одновременно за счет различных меток [22].

Однако наилучшим способом внутривидового типирования считается метод секвенирования нуклеиновых кислот. Именно использование этого метода позволяет провести не только первичную характеристику, но и обнаружить взаимосвязь между различными бактериями. В процессе используется так называемый «cycle sequencing», то есть полимеразная реакция, в которой в качестве матрицы применяется очищенная ДНК из предыдущего ПЦР, и используется один из праймеров (forward или reverse). Количество циклов может варьировать в относительно широких пределах, но в большинстве случаев составляет 25. Продуктом реакции являются последовательности ДНК различных длин, что достигается случайной остановкой реакции в ходе присоединения «терминатора» (специфическое меченное основание). Выравнивая полученные последовательности можно собрать всю ДНК, которую и сравнивают с библиотеками баз данных [23].

Сравнительная геномная гибридизация представляет собой метод, в котором для типирования используют микроматрицу ДНК - набор ДНК-зондов, упорядоченно

прикрепленных к твердой поверхности. Эти зонды могут быть использованы для обнаружения комплементарных нуклеотидных последовательностей, в частности бактериальных изолятов. Таким образом, микрочипы представляют собой легкие инструменты для обнаружения генов, которые служат маркерами для специфических бактериальных штаммов, или для обнаружения аллельных вариантов гена, который присутствует во всех штаммах конкретного вида. Зондами могут быть ПЦР-ампликоны или олигонуклеотиды. В зависимости от количества зондов, помещенных на твердую поверхность, различают низкоплотные (сотни зондов) и высокоплотные (сотни тысяч зондов) ДНК-микрочипы. Экстрагированную ДНК метят либо химическим, либо ферментативным способом, после чего проводят гибридизацию с микрочипом ДНК. Не связавшуюся ДНК удаляют во время последующих стадий, а сигнал от гибридизации между меченой ДНК-мишенью и иммобилизованным зондом автоматически регистрируется сканером. Затем эти данные анализируются с использованием специального программного обеспечения. В настоящее время микрочипы широко используются для анализа геномных мутаций, таких как однонуклеотидные полиморфизмы (SNP). Кроме того, технология микрочипов является эффективным инструментом для обнаружения внегеномных элементов [24, 25].

В настоящее время происходит настоящая трансформация молекулярно-генетических методов типирования. Секвенирование нового поколения (WGS), представляет собой экономически эффективный способ определения нуклеотидной последовательности всего генома. Явным преимуществом данного метода по сравнению с традиционным секвенированием является способность генерировать миллионы чтений в одиночных сериях при сравнительно низких затратах. WGS становится мощным и привлекательным инструментом для эпидемиологических исследований [26-29], и весьма вероятно, что в ближайшем будущем применение технология WGS в клинике позволит точно идентифицировать и характеризовать бактериальные изоляты.

В последние годы мы стали свидетелями существенных биотехнологических улучшений в существующих подходах к генотипированию бактериальных изолятов, появились совершенно новые технологии, которые существенно повлияют на то, как в ближайшем будущем можно будет определить и выделить патогенные микроорганизмы. Это связано с большим прогрессом в автоматизации методов, улучшению их дискриминирующей способности, а также разработке новых и совершенствованию старых инструментов биоинформатики. Постоянно увеличивающееся число баз данных генотипирования теперь позволяет легче и быстрее проводить межлабораторные сравнения и долгосрочный эпидемиологический надзор за бактериальными инфекциями. К сожалению, в настоящее время нет единого идеального метода генотипирования, и каждый подход имеет различные преимущества и недостатки. Поэтому, в зависимости от цели исследования необходимо применять один или несколько разных методов типирования.

Список литературы

- 1 Van Belkum A. et al. Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology //Clinical Microbiology and Infection. – 2007. – Т. 13. № 3. – Р. 1-46.
- 2 Леванова Г.Ф., Сидорова Н.Н. и др. Эпидемические штаммы различных плазмидоваров бактерий рода SHIGELLA //Микробиология. - 2008г. - № 3. - С. 13-15.
- 3 Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Кругликов В.Д. и др. Фенотипическая и молекулярно-биологическая характеристика штаммов холерных вибрионов Эль-Тор, выделенных из водных объектов окружающей среды Ростова-на-Дону в 2003–2008 гг. //Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2011. - № 1. - С. 24–28.
- 4 Li Z.J., Cui B.Y., Chen H. et al. Molecular typing of *Brucella suis* collected from 1960s to 2010s in China by MLVA and PFGE //Biomed. Environ. Sci. – 2013. – Т. 26. № 6. - Р. 504–508.
- 5 Goering R. V. Pulsed field gel electrophoresis: a review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease //Infection, Genetics and Evolution. – 2010. – Т. 10. № 7. – Р. 866-875.
- 6 McDougal L. K. et al. Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a national database //Journal of clinical microbiology. – 2003. – Т. 41. № 11. – Р. 5113-5120.
- 7 Ерошенко Г.А., Павлова А.И., Куклева Л.М. и др. Генотипирование штаммов *Yersinia pestis* на основе варибельности генов биосинтеза рРНК //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2007. - № 3. - С. 6–10.

- 8 Cariri F.A., Costa A.P., Melo C.C., Theophilo G.N., Hofer E., de Melo Neto O.P. et al. Characterization of potentially virulent non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* strains isolated from human patients // *J. Clin. Microbiol. Infect.* – 2010. – Т. 16. № 1. - P. 62–67.
- 9 Zhao S. et al. Genomic typing of *Escherichia coli* O157: H7 by semi-automated fluorescent AFLP analysis // *Microbes and infection.* – 2000. – Т. 2. № 2. – P. 107-113.
- 10 Duim B. et al. High-Resolution Genotyping of *Campylobacter* Strains Isolated from Poultry and Humans with Amplified Fragment Length Polymorphism Fingerprinting // *Applied and environmental microbiology.* – 1999. – Т. 65. №. 6. – P. 2369-2375.
- 11 Talkington D., Bopp C., Tarr C., Parsons M.B., Dahourou G., Freeman M. et al. Characterization of toxigenic *Vibrio cholerae* from Haiti, 2010-2011 // *Emerg. Infect. Dis.* – 2011. – Т. 17. № 11. - P. 2122–2129.
- 12 Ерошенко Г.А. Молекулярное типирование штаммов *Vibrio cholerae* не O1/не O139, выделенных на территории Российской Федерации и других стран СНГ от больных людей // *Проблемы особо опасных инфекций.* – 2005. – Т. 2. № 90. - С. 64-67.
- 13 Lanini S. et al. Molecular epidemiology of a *Pseudomonas aeruginosa* hospital outbreak driven by a contaminated disinfectant-soap dispenser // *PloS one.* – 2011. – Т. 6. №. 2. – P. e17064.
- 14 Chang H. L. et al. Nosocomial outbreak of infection with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a medical center in Taiwan // *Infection Control & Hospital Epidemiology.* – 2009. – Т. 30. №. 1. – P. 34-38.
- 15 Sabat A. J. et al. Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance // *Eurosurveillance.* – 2013. – Т. 18. №. 4. – P. 20380.
- 16 de la Puente-Redondo V.A., del Blanco N.G., Gutiérrez-Martín C.B., García-Peca F.J., Rodríguez Ferri E.F. Comparison of different PCR approaches for typing of *Francisella tularensis* strains // *J. Clin. Microbiol.* - 2000. – Т. 38. № 3. - P. 1016–1022.
- 17 Sabat A. et al. Comparison of PCR-based methods for typing *Staphylococcus aureus* isolates // *Journal of Clinical Microbiology.* – 2006. – Т. 44. №. 10. – P. 3804-3807.
- 18 Wilson M. K. et al. Analysis of the pan genome of *Campylobacter jejuni* isolates recovered from poultry by pulsed-field gel electrophoresis, multilocus sequence typing (MLST), and repetitive sequence polymerase chain reaction (rep-PCR) reveals different discriminatory capabilities // *Microbial ecology.* – 2009. – Т. 58. №. 4. – P. 843.
- 19 Рязанова А.Г., Еременко Е.И., Цыганкова О.И., Цыганкова Е.А., Куличенко А.Н. Использование методов молекулярного типирования *Bacillus anthracis* в референс-центре по мониторингу за возбудителем сибирской язвы // *Проблемы особо опасных инфекций.* – 2011. – Т. 4. № 110. - С. 68–70.
- 20 Danin-Poleg Y., Cohen L.A., Gancz H., Broza Y.Y., Goldshmidt H., Malul E. et al. *Vibrio cholerae* strain typing and phylogeny study based on simple sequence repeats // *J. Clin. Microbiol.* – 2007. – Т. 45. № 3. – P. 736–46.
- 21 Cavanagh J. P. et al. Core genome conservation of *Staphylococcus haemolyticus* limits sequence based population structure analysis // *Journal of microbiological methods.* – 2012. – Т. 89. №. 3. – P. 159-166.
- 22 Vogler A.J., Birdsell D., Wagner D.M., Keim P. An optimized, multiplexed multi-locus variable-number tandem repeat analysis system for genotyping // *Francisella tularensis. Lett. Appl. Microbiol.* – 2009. – Т. 48. № 1. – P. 140–144.
- 23 Ахметова Д.Г. Современные методы типирования микроорганизмов семейства Enterobacteriaceae // *Клиническая медицина Казахстана.* – 2011. – Т. 2. № 21. – С. 155-159.
- 24 McCarthy A. J., Breathnach A. S., Lindsay J. A. Detection of mobile genetic element (MGE) variation between colonising and infecting hospital-associated (HA)-MRSA isolates // *J. Clin. Microbiol.* – 2011. – Т. 50. №. 3. – P. 1073-1075.
- 25 McCarthy A. J., Lindsay J. A. The distribution of plasmids that carry virulence and resistance genes in *Staphylococcus aureus* is lineage associated // *BMC microbiology.* – 2012. – Т. 12. №. 1. – P. 104.
- 26 Mellmann A. et al. Prospective genomic characterization of the German enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104: H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology // *PloS one.* – 2011. – Т. 6. №. 7. – P. e22751.
- 27 Zakour N. L. B. et al. Analysis of a *Streptococcus pyogenes* puerperal sepsis cluster by use of whole-genome sequencing // *J. Clin. Microbiol.* – 2012. – Т. 50. №. 7. – P. 2224-2228.
- 28 Chin C. S. et al. The origin of the Haitian cholera outbreak strain // *New England Journal of Medicine.* – 2011. – Т. 364. №. 1. – P. 33-42.
- 29 Grad Y. H. et al. Genomic epidemiology of the *Escherichia coli* O104: H4 outbreaks in Europe, 2011 // *Proceedings of the national academy of sciences.* – 2012. – Т. 109. №. 8. – P. 3065-3070.

А.К. Жантлеуова, Т.Д. Укбаева

Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

Патогендік микроорганизмдерді генотиптеу әдістері

Аннотация: Микроорганизмдерді анықтау үшін түрлі фенотиптік әдістер бар. Олардың кемшіліктері ДНҚ негізінде типтеудің жаңа инновациялық тәсілдерінің қалыптастыруға әкелді. Бұл әдістер кемсітушілік күші мен қайталанатын қабілеті мәселелерді азайтады. Және, кейбір жағдайларда, сипатталған организмдердің үлкен үйлесімді деректер қорын жасауға мүмкіндік береді. Осы шолуда патогендік микроорганизмдердің генотиптеу үшін пайдаланатын кейбір молекулалық-генетикалық әдістердің сипаттамасы берілген. Оның ішінде полимеразды тізбекті реакцияға негізделген әдістері бар: MLVA, гер-PCR, WGS. Берілген деректер зерттеушілердің практикалық қызметінде пайдаланылуы мүмкін, себебі осы генотиптеу әдістердің қасиеттері мен маңыздылығы туралы мәліметтер беріледі.

Генотиптеу әдістерді қолдану инфекциялық ауруларды ұзақ мерзімді эпидемиологиялық қадағалауды жүргізуге мүмкіндік береді, бұл өз кезегінде жұқтырған адамдар санының төмендеуіне және аурулардың таралу жолдарын жоюға әкеледі.

Түйін сөздер: геном, молекулярлық диагностика, генотиптеу, микроорганизмдер, жұқпалы аурулар, полимеразды тізбекті реакция, электрофорез.

A.K. Zhantleuova, T.D. Ukbaeva

L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

Methods of genotyping of pathogenic microorganisms

Abstract: There are various phenotypic methods for typing microorganisms, the deficiencies of which have led to the formation of new innovative typing methods on the basis of microorganisms' DNA sequence. These methods minimize problems with discriminating power and reproducibility and, in some cases, allow the creation of large compatible databases of specified organisms. In this review a description of some molecular genetic methods of typing are given including those based on the polymerase chain reaction: MLVA, rep-PCR, WGS. This data can be used by researchers in their practical activities, as they provide some information on the content and properties of genotypic methods.

The application of these methods enables to carry out long-term epidemiological surveillance of infectious diseases, which in turn will lead to a significant reduction in the number of infected people and elimination of the ways of spreading diseases.

Keywords: genome, molecular diagnostics, genotyping, microorganisms, infectious diseases, polymerase chain reaction, electrophoresis.

References

- 1 Van Belkum A. et al. Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology, *Clinical Microbiology and Infection*, **13** (3), 1-46 (2007).
- 2 Levanova G.F., Sidorova N.N. et al. Epidemicheskie shtammy razlichnykh plazmidovarov bakterii roda SHIGELLA [Epidemic strains of various plasmidoviruses of the genus SHIGELLA], *Mikrobiologiya* [Microbiology], (3), 13-15 (2008).
- 3 Lomov Iu.M., Telesmanich N.R., Kruglikov V.D. et al. Fenotipicheskaia i molekuliarno-biologicheskaiia kharakteristika shtammov kholernykh vibriinov El'-Tor, vydelennykh iz vodnykh ob'ektov okruzhaiushchei sredy Rostovana-Donu v 2003–2008 gg [Phenotypic and molecular biological characteristics of strains of cholera Vibrio El Tor isolated from water objects of the environment of Rostov-on-Don in 2003-2008], *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni* [Epidemiology and infectious diseases.], (1), 24–28 (2011).
- 4 Li Z.J., Cui B.Y., Chen H. et al. Molecular typing of Brucella suis collected from 1960s to 2010s in China by MLVA and PFGE, *Biomed. Environ. Sci.*, **26** (6), 504–508 (2013).
- 5 Goering R. V. Pulsed field gel electrophoresis: a review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease, *Infection, Genetics and Evolution*, **10** (7), 866-875 (2010).
- 6 McDougal L. K. et al. Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant Staphylococcus aureus isolates from the United States: establishing a national database, *Journal of clinical microbiology*, **41** (11), 5113-5120 (2003).
- 7 Eroshenko G.A., Pavlova A.I., Kukleva L.M. et al. Genotipirovanie shtammov Yersinia pestis na osnove variabel'nosti genov biosinteza rRNK [Genotyping of strains of Yersinia pestis on the basis of variability of rRNA biosynthesis genes], *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology], (3), 6–10 (2007).
- 8 Cariri F.A., Costa A.P., Melo C.C., Theophilo G.N., Hofer E., de Melo Neto O.P. et al. Characterization of potentially virulent non-O1/non-O139 Vibrio cholerae strains isolated from human patients, *J. Clin. Microbiol. Infect.*, **16** (1), 62–67 (2010).
- 9 Zhao S. et al. Genomic typing of Escherichia coli O157: H7 by semi-automated fluorescent AFLP analysis, *Microbes and infection*, **2** (2), 107-113 (2000).
- 10 Duim B. et al. High-Resolution Genotyping of Campylobacter Strains Isolated from Poultry and Humans with Amplified Fragment Length Polymorphism Fingerprinting, *Applied and environmental microbiology*, **65** (6), 2369-2375 (1999).
- 11 Talkington D., Bopp C., Tarr C., Parsons M.B., Dahourou G., Freeman M. et al. Characterization of toxigenic Vibrio cholerae from Haiti, 2010-2011, *Emerg. Infect. Dis.*, **17** (11), 2122–2129 (2011).
- 12 Eroshenko G.A. Molekuliarnoe tipirovanie shtammov Vibrio cholerae ne O1/ne O139, vydelennykh na territorii Rossiiskoi Federatsii i drugikh stran SNG ot bol'nykh liudei [Molecular typing of strains of Vibrio cholerae not O1 / not O139 isolated in the territory of the Russian Federation and other CIS countries from sick people], *Problemy osobo opasnykh infektsii* [Problems of especially dangerous infections], **2** (90), 64 (2005).
- 13 Lanini S. et al. Molecular epidemiology of a Pseudomonas aeruginosa hospital outbreak driven by a contaminated disinfectant-soap dispenser, *PloS one*, **6** (2), e17064 (2011).
- 14 Chang H. L. et al. Nosocomial outbreak of infection with multidrug-resistant Acinetobacter baumannii in a medical center in Taiwan, *Infection Control & Hospital Epidemiology*, **30** (1), 34-38 (2009).
- 15 Sabat A. J. et al. Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance, *Eurosurveillance*, **18** (4), 20380 (2013).

- 16 de la Puente-Redondo V.A., del Blanco N.G., Gutiérrez-Martín C.B., García-Peca F.J., Rodríguez Ferri E.F. Comparison of different PCR approaches for typing of *Francisella tularensis* strains, *J. Clin. Microbiol.*, **38** (3), 1016–1022 (2000).
- 17 Sabat A. et al. Comparison of PCR-based methods for typing *Staphylococcus aureus* isolates, *Journal of Clinical Microbiology*, **44** (10), 3804–3807 (2006).
- 18 Wilson M. K. et al. Analysis of the pan genome of *Campylobacter jejuni* isolates recovered from poultry by pulsed-field gel electrophoresis, multilocus sequence typing (MLST), and repetitive sequence polymerase chain reaction (rep-PCR) reveals different discriminatory capabilities, *Microbial ecology*, **58** (4), 843 (2009).
- 19 Riazanova A.G., Eremenko E.I., Tsygankova O.I., Tsygankova E.A., Kulichenko A.N. Ispol'zovanie metodov molekuliarnogo tipirovaniia *Bacillus anthracis* v referens-tsentre po monitoringu za vzbuditelem sibirskoi iazvy [Use of methods of molecular typing of *Bacillus anthracis* in the reference center for monitoring the causative agent of anthrax], *Problemy osobo opasnykh infektsii* [Problems of especially dangerous infections], **4** (110), 68–70 (2011).
- 20 Danin-Poleg Y., Cohen L.A., Gancz H., Broza Y.Y., Goldshmidt H., Malul E. et al. *Vibrio cholerae* strain typing and phylogeny study based on simple sequence repeats, *J. Clin. Microbiol.*, **45** (3), 736–46 (2007).
- 21 Cavanagh J. P. et al. Core genome conservation of *Staphylococcus haemolyticus* limits sequence based population structure analysis, *Journal of microbiological methods*, **89** (3), 159–166 (2012).
- 22 Vogler A.J., Birdsell D., Wagner D.M., Keim P. An optimized, multiplexed multi-locus variable-number tandem repeat analysis system for genotyping, *Francisella tularensis*. *Lett. Appl. Microbiol.*, **48** (1), 140–144 (2009).
- 23 Akhmetova D.G. Sovremennye metody tipirovaniia mikroorganizmov semeistva Enterobacteriaceae [Modern methods of typing microorganisms of the Enterobacteriaceae family], *Klinicheskaia meditsina Kazakhstana* [Clinical medicine of Kazakhstan], **2** (21), 155–159 (2011).
- 24 McCarthy A. J., Breathnach A. S., Lindsay J. A. Detection of mobile genetic element (MGE) variation between colonising and infecting hospital-associated (HA)-MRSA isolates, *J. Clin. Microbiol.*, **50** (3), 1073–1075 (2011).
- 25 McCarthy A. J., Lindsay J. A. The distribution of plasmids that carry virulence and resistance genes in *Staphylococcus aureus* is lineage associated // *BMC microbiology*, **12** (1), 104 (2012).
- 26 Mellmann A. et al. Prospective genomic characterization of the German enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology, *PloS one*, **6** (7), e22751 (2011).
- 27 Zakour N. L. B. et al. Analysis of a *Streptococcus pyogenes* puerperal sepsis cluster by use of whole-genome sequencing, *J. Clin. Microbiol.*, **50** (7), 2224–2228 (2012).
- 28 Chin C. S. et al. The origin of the Haitian cholera outbreak strain, *New England Journal of Medicine*, **364** (1), 33–42 (2011).
- 29 Grad Y. H. et al. Genomic epidemiology of the *Escherichia coli* O104:H4 outbreaks in Europe, 2011, *Proceedings of the national academy of sciences*, **109** (8), 3065–3070 (2012).

Сведения об авторах:

Жантлеуова А.К. - биология бакалавры, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қажымұқан көш. 13, Астана, Қазақстан.

Укбаева Т.Д. - медицина ғылымдарының докторы, жалпы биология және геномика кафедрасының профессоры, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қажымұқан көш. 13, Астана, Қазақстан.

Жантлеуова А.К. - бакалавр биология, Евразийский национальный университет имени Л.Н.Гумилева, ул. Кажымукана 13, Астана, Казахстан.

Укбаева Т.Д. - доктор медицинских наук, профессор кафедры общей биологии и геномики, Евразийский национальный университет имени Л.Н.Гумилева, ул. Кажымукана 13, Астана, Казахстан.

Zhantleuova A.K. - bachelor of Science in Biology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhmukan str. 13, Astana, Kazakhstan.

Ukbaeva T.D. – doctor of medical sciences, professor of the Department of General Biology and Genomics, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhmukan str. 13, Astana, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 25.05.2018