

- direct protein profiling method to identify and type *N. gonorrhoeae*. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2006; (5): 25—9. (in Russian)
- Telesmanich N.R., Agafonova V.V., Chemisova O.S., Chayka I.A., Vodop'yanov O.S., Vodop'yanov A.S. et al. Proteomic mass spectrometry analysis and typing of strains of *Vibrio cholerae*, allocated on the territory of the Russian Federation in 2010—2012. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2014; (2): 97—9. (in Russian)
 - Pribil P., Fenselau C. Characterization of Enterobacteria using MALDI-TOF mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2005; 77 (18): 6092—5.
 - Gapon M.N. The local indicators of nonspecific resistance with dysbiosis of the colon. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2010; (5): 53—7. (in Russian)
 - Gritsenko V.A., Bukharin O.V. Ecological and medical aspects of symbiosis of *Escherichia coli* and person. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2000; (3): 93—9. (in Russian)
 - Telesmanich N.R., Agafonova V.V., Chayka I.A., Seina S.O., Chemisova O.S., Goncharenko E.V. et al. MALDI mass-spectrometric analysis for typing and intraspecies differentiation of cholera vibrios on the base of construction of the reference library of proteomic profiles. *Meditinskiy vestnik Yuga Rossii*. 2014; (2): 88—91. (in Russian)
 - Telesmanich N.R., Chayka S.O., Vodyanitskaya S.Yu., Chemisova O.S., Chayka I.A. The application of mass spectrometry technique MALDI-TOF for inter-specific differentiation of closely related species. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2014; 59 (8): 27—8. (in Russian)
 - Vodyanitskaya S.Yu., Telesmanich N.R., Chayka S.O., Chayka I.A., Ivanova N.G. MALDI-TOF proteomic analysis in the study of shipping ballast waters in sea ports of Rostov regions. *Zhizn' bez opasnostey. Zdorov'e. Profilaktika. Dolgoletie*. 2014; 9 (4): 82—9. (in Russian)
 - Rodina E., Vorobieva N., Kurilova S., Mikulovich J., Vainonen J., Aro E.M. et al. Identification of new protein complexes of *Escherichia coli* inorganic pyrophosphatase using pull-down assay. *Biochimie*. 2011; 93 (9): 1576—83.
 - Ternovskaya L.N., Gapon M.N., Khishtova N.S., Solov'eva E.I., Balitskaya L.L. The peculiarities of the large intestines microbiocenosis in people with the dysfunctional disorders of the biliary canal. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2009; (3): 89—92. (in Russian)

Received 30.06.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 579.843.1.082.1:543.42.062

Телесманич Н.Р.¹, Чайка С.О.^{1,2}, Чайка И.А.^{1,2}, Гончаренко Е.В.², Ломов Ю.М.¹

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ MALDI-TOF В ИДЕНТИФИКАЦИИ И ТИПИРОВАНИИ ШТАММОВ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ

¹ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ, кафедра общей и клинической биохимии № 1, Ростов-на-Дону, 344022, Российская Федерация; ²ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

На основе созданной нами базы данных «Белковые профили масс-спектров представителей вида *Vibrio cholerae* для программы MALDI Biotyper» проведено типирование штаммов холерных вибрионов, выделенных на территории Российской Федерации в 2010—2012 гг., а также проведен анализ степени сходств и отличий константных рибосомальных белков. По результатам MALDI-TOF масс-спектрометрии изучаемые штаммы *V. cholerae* были разделены на 2 четких кластера. В один кластер вошли все эпидемически опасные штаммы, выделенные от людей, приехавших в Москву из Индии в 2010—2012 гг., во второй — атоксигенные вибрионы, не относящиеся к серогруппам O1 / O139, выделенные в 2011 г. у жителей г. Таганрога. Анализ основных спектров всей коллекции позволил нам идентифицировать таксон — специфические компоненты, отличающие штаммы *V. cholerae* не O1 / не O139 от штаммов *V. cholerae* El Tor. Таким образом, созданная нами база данных протеомных портретов *V. cholerae* позволяет проводить идентификацию, изучение и типирование возбудителей холеры и других представителей вида *V. cholerae*, определяя их филогенетическое родство, что чрезвычайно полезно для установления происхождения штаммов, выделенных из объектов окружающей среды, и эпидемиологической расшифровки вспышек заболевания.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*; MALDI-TOF масс-спектрометрия; протеомный анализ.

Для цитирования: Телесманич Н.Р., Чайка С.О., Чайка И.А., Гончаренко Е.В., Ломов Ю.М. Масс-спектрометрический анализ MALDI-TOF в идентификации и типировании штаммов холерных вибрионов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (6): 375-379. DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-6-375-379

Telesmanich N.R.¹, Chaika S.O.^{1,2}, Chaika I.A.^{1,2}, Goncharenko E.V.², Lomov Yu.M.¹

THE MASS-SPECTROMETRIC ANALYSIS OF MALDI-TOF IN IDENTIFICATION AND TYPING OF STRAINS OF COMMA BACILLUS

¹The Rostovskii state medical university of Minzdrav of Russia, 344022 Rostov-on-Don, Russia; ²The Rostovskii anti-plague institute of Rospotrebnadzor, 344002 Rostov-on-Don, Russia

The data base “Protein profiles of mass-specters of representatives of species of *Vibrio cholerae* for program MALDI Biotyper” was used to implement typing of strains of comma bacillus isolated at the territory of the Russian Federation in 2010-2012. Also, analysis of degree of similarity and differences among constant ribosomal proteins was implemented. According the results of MALDI-TOF mass-spectrometry strains of *V.cholerae* were grouped in two distinct clusters. The first cluster included all epidemically dangerous strains isolated from people arrived in Moscow from India 2010-2012. The second cluster included atoxigenic vibrio with no relation to serogroups O1/O139 isolated from residents of Taganrog in 2011. The analysis of main

specters of all collection permitted to identify taxon - specific components distinguishing strains of non-O1/non-O139 from strains of *V.cholerae* El Tor. Hence, the developed data base of proteom portraits of *V.cholerae* permits identifying, studying and to typing of agents of cholera and other representatives of *V.cholerae* species detecting their phylogenetic affinity that is ultimately useful for establishing origin of strains isolated from objects of environment and epidemiological decoding of episodes of disease.

Key words: *Vibrio cholerae*; MALDI-TOF mass-spectrometry; proteom analysis.

For citation: Telesmanitch N.R., Chaika S.O., Chaika I.A., Goncharenko E.V., Lomov Yu.M. The mass-spectrometric analysis of MALDI-TOF in identification and typing of strains of comma bacillus. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2016; 61 (6): 375-379. (in Russ.)

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-6-375-379

For correspondence: Telesmanitch N.R., doctor of biological sciences, chir of general and clinical biochemistry №1. e-mail: telesmanich.nr@mail.com

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Financing. The study had no sponsor support

Received 11.08.2015
Accepted 15.12.2015

Введение. На современном этапе развития молекулярно-биологических методов и внедрения высокотехнологичного оборудования в область биологии и медицины в арсенале специалистов появляются новые методологические подходы, позволяющие получать высокоинформативные результаты в совокупности с быстротой и упрощением постановки анализа. В распоряжении специалистов на сегодняшний день имеются различные модификации масс-спектрометрических приборов, позволяющих решать задачи протеомных исследований. Достаточно распространенным подходом является метод времяпролетной масс-спектрометрии на базе матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (matrix assisted laser desorption / ionization — time of flight, MALDI-TOF). Прямое белковое профилирование с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии рассматривается в качестве альтернативного подхода, способного заменить или дополнить некоторые этапы классической микробиологии, из которых состоит схема лабораторной диагностики любого микроорганизма (бактериологические, серологические, биохимические методы, ПЦР-диагностику) [1–4]. Как научное изучение протеома микроорганизма, так и лабораторная масс-спектрометрическая белковая диагностика основаны на детекции массовых сигналов, поступающих от биомаркеров, которые являются специфическими на уровне рода, вида или подгруппы микроорганизма. Клетки каждого вида микроорганизма имеют свой набор рибосомальных белков, и профиль их масс уникален, как отпечатки пальцев для человека [5, 6]. Единичные спектры белковых молекул, которые составляют профиль белковых масс микроорганизма, считываются прибором, компьютерная программа суммирует их и сравнивает с профилями белковых масс, находящихся в базе. Идентификация микроорганизмов на приборе MALDI-TOF фирмы Bruker Daltonics проводится с помощью программы Bioturget: она содержит референсные белковые профили 5000 видов бактерий и грибов, но в ней отсутствуют профили возбудителей особо опасных инфекций. Отмечено, что внесение в коммерческую базу нескольких штаммов *Vibrio cholerae* позволяет проводить идентификацию возбудителей холеры

[7]. Однако внутривидовое типирование, установление филогенетического родства и происхождения штаммов холерных вибрионов, появление которых на территории Российской Федерации носит заносной характер, невозможны без расширенной библиотеки спектров рибосомальных белков представителей вида *V. cholerae*. В связи с этим нами создана база данных «Белковые профили масс-спектров представителей вида *V. cholerae* для программы MALDI Bioturget» (Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2013620585 от 29.04.2013 г.). База данных создана на основе уникальной коллекции паспортизированных штаммов холерных вибрионов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, который с 1973 г. является ведущим по проблеме «Холера и патогенные для человека вибрионы», а с 2008 г. — референс-центром по мониторингу холерных вибрионов. На протяжении нескольких десятков лет проблема завоза возбудителя холеры на территорию Российской Федерации не перестает быть актуальной [8–10]. В период с 2010 по 2012 г. на

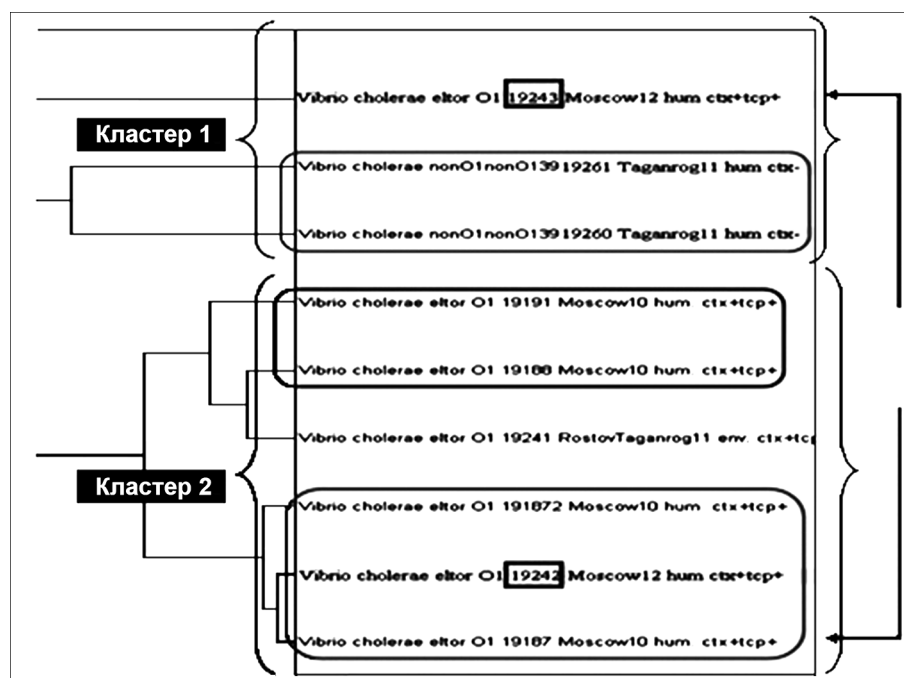


Рис. 1. Филогенетическое родство штаммов холерных вибрионов, выделенных в 2010—2012 гг., установленное с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии.

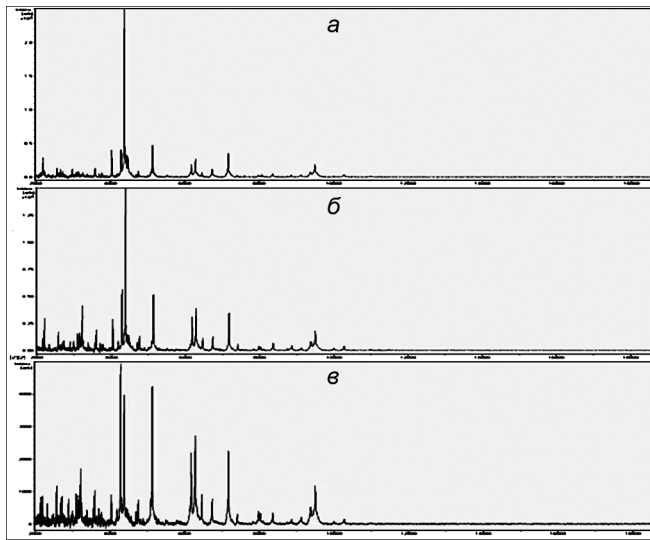


Рис. 2. Сравнение суммарных масс-спектров представителей вида *Vibrio cholerae*.

а — *V. cholerae* — не O1/не O139P-19261 (г. Таганрог, 2011 г.);
б — *V. cholerae* El Tor 19243 (г. Москва, 2012 г.);
в — *V. cholerae* El Tor 19242 (г. Москва, 2012 г.).

По оси абсцисс — значение масс-заряда (m/z); по оси ординат — интенсивность пика.

территории Российской Федерации было зарегистрировано 4 случая заболевания холерой, из них 3 — в 2010 г. и 1 — в 2012 г.; все заболевшие прибыли в г. Москву из Индии. Один токсигенный штамм *V. cholerae* El Tor изолирован из акватории порта г. Таганрог в 2011 г. в период вспышки холеры на

Украине. Также от больных гастроэнтеритом за 2010—2012 гг. выделено 7 штаммов *V. cholerae* не O1 / не O139 серогрупп (4 штамма — в 2011 и 2012 гг. в г. Таганроге, 3 штамма — в 2012 г. в г. Астрахани).

В связи с этим целью работы стало использование созданной нами авторской базы данных масс-спектров для типирования штаммов холерных вибрионов, выделенных на территории Российской Федерации в 2010—2012 гг., на основе степени сходств и отличий константных рибосомальных белков.

Материал и методы. В исследование были взяты штаммы *V. cholerae* El Tor 19187, 19187/2, 19188, 19191 (ctx⁺tcp⁺), выделенные от людей, прилетевших в Москву из Индии в 2010 г., и *V. cholerae* El Tor 19242, 19243 (ctx⁺tcp⁺) — в 2012 г.; токсигенный штамм, выделенный из акватории порта Таганрог в 2011 году, — *V. cholerae* El Tor P-19241 (ctx⁺tcp⁺); штаммы *V. cholerae* P-19260, P-19261 не O1 / не O139 серогрупп (ctx⁺tcp⁻), выделенные от людей в г. Таганроге в 2011 г. В качестве контроля были взяты выделенные от людей ctx⁻tcp⁻ штаммы *V. cholerae* P-18959 (г. Таганрог, 2007 г.) и 19019 (г. Астрахань, 2007 г.) не O1 / не O139 серогрупп.

Подготовка чистых культур холерных вибрионов проводилась с учетом требований биологической безопасности. Все образцы проходили процедуру экстракции трифторуксусной кислотой (80% TFA) для создания репрезентативных спектров, а также с целью обеззараживания культур холерных вибрионов. Экстракцию проводили в 50 мкл 80% TFA, в которую бактериологической петлей вносили 10 колоний образца для получения достаточного количества рибосомальных белков. Смесь оставляли на 30 мин при комнатной температуре, затем добавляли 150 мкл бидистиллированной воды и 200 мкл ацетонитрила. Смесь встряхивали на вортексе, центрифугировали при 12 000—13 000 об/мин в течение 2 мин.

Полученный супернатант проверяли при помощи высевов на специфическую стерильность. После проведенных этапов экстракции белков рост холерных вибрионов не наблюдался. Супернатант в количестве 0,5 мкл наносили на ячейку чипа, и после полного высыхания наслаивали 0,5 мкл раствора матрицы (α -циано-4 гидроксикоричная кислота в 50% ацетонитрила и 2,5% трифторуксусной кислоты). В программе Flex control проводили обстрел в ручном режиме, регистрировали 70 спектров с каждой ячейки с образцом. С помощью программы MALDI Biotyper 3.0 открывали сохраненные спектры, образцам (паттернам) присваивали номер и паспортные данные, характеризующие вид, биовар, серологическую группу, наличие генов токсинобразования и год выделения.

Результаты и обсуждение. Вид *V. cholerae* обладает достаточно широким фенотипическим и генотипическим разнообразием, что диктует необходимость изучения закономерностей синтеза константных рибосомальных белков у представителей внутри вида на репрезентативной коллекции штаммов. Научные данные о возможностях внутривидовой дифференциации *V. cholerae* с помощью масс-спектрометрического анализа, типирования эпидемических штаммов *V. cholerae* на основе рибосомальных белков и существования расширенной библиотеки масс-спектров холерных вибрионов в литературе отсутствуют.

MSP Peak List культуры <i>Vibrio cholerae</i> non O1/O139 19261			MSP Peak List культуры <i>Vibrio cholerae</i> efort 19243			MSP Peak List культуры <i>Vibrio cholerae</i> efort 19242		
m/z [Rel]	Intensity [%]	6263.10	m/z [Rel]	Intensity [%]	6263.10	m/z [Rel]	Intensity [%]	6148.40
3117.40	3.50	6277.10	2004.20	9.90	6278.30	2002.20	17.30	6164.30
3120.00	2.40	6302.20	3113.80	3.10	6303.40	3114.00	4.00	6188.30
3138.00	3.90	6453.50	3136.60	8.30	6455.40	3124.60	7.50	6253.30
3168.00	1.70	6692.00	3168.80	3.00	6712.80	3138.10	17.70	6276.70
3203.90	1.00	6712.80	3203.20	43.90	6728.40	3168.30	10.10	6298.50
3251.30	2.00	6728.60	3224.50	4.50	7129.70	3202.40	25.70	6323.70
3266.40	2.60	6749.20	3265.70	5.00	7163.10	3224.20	12.80	6354.00
3482.20	1.10	6785.00	3277.10	3.20	7210.30	3279.70	3.40	6453.00
3556.30	1.90	7124.30	3551.80	6.10	8557.20	3283.90	7.90	6712.30
3581.00	7.40	7161.40	3581.50	16.10	8557.60	3277.00	5.90	6728.00
3691.30	2.50	7161.40	3698.50	3.60	9372.70	3417.90	3.70	7124.50
3705.60	1.20		3698.70	3.40	9492.60	3544.00	3.90	7160.70
3749.10	1.10		3717.20	5.10	9526.30	3499.70	4.20	7183.60
3765.30	2.60		3767.70	3.90	10272.00	3550.10	11.40	7210.50
3834.10	1.30		3842.10	3.20		3596.10	25.80	7400.30
4012.80	1.10		4025.70	21.00	14958.00	3597.60	4.00	7424.50
4025.90	17.00		4176.20	9.10		3628.80	11.40	7469.90
4045.70	1.50		4278.20	26.90		3748.30	5.60	7490.30
4178.20	2.70		4353.10	8.00		3765.30	7.90	7554.90
4278.90	16.60		4368.40	100.00		3775.60	4.50	8852.40
4326.40	1.20		4367.30	11.30		3828.30	4.00	8952.00
4353.20	8.40		4407.00	4.90		4025.40	16.30	9119.00
4367.40	100.00		4424.60	10.50		4177.00	8.50	9366.80
4387.60	10.80		4462.60	3.50		4278.60	100.00	9490.00
4407.70	4.50		4460.00	7.80		4299.10	5.90	9520.30
4423.40	9.90		4746.60	9.00		4357.00	63.70	10285.80
4447.00	2.40		4898.50	3.10		4395.80	5.00	14866.70
4449.90	2.20		4986.50	3.10		4425.30	6.90	
4463.80	3.60		5065.30	5.30		4498.80	6.30	
4481.80	1.60		5107.20	8.60		4551.10	4.20	
4561.80	1.30		5124.60	40.40		4686.30	13.40	
4687.10	3.10		5157.20	3.70		4746.50	19.60	
4746.60	5.80		5184.50	3.70		4759.90	6.50	
4768.90	1.30		6128.30	3.70		4877.70	4.00	
4897.10	1.20		6166.80	20.20		4955.80	4.70	
5082.00	2.70		6186.00	3.80		5041.10	3.50	
5107.20	4.70					5081.70	12.60	
5123.50	21.00					5107.30	16.70	
5183.90	2.00					5123.90	83.30	
5494.70	1.50					5157.30	6.80	
6128.30	1.10					5182.90	5.30	
6148.20	2.40					5203.80	4.10	
6165.40	7.70					5382.30	3.60	
						5493.90	4.00	
						6128.50	7.90	

Рис. 3. Масс-пик листы представителей вида *Vibrio cholerae*.

а — масс-пик лист *V. cholerae* не O1 / не O139 P-19261 (г. Таганрог, 2011 г.);
б — масс-пик лист *V. cholerae* El Tor 19243 (г. Москва, 2012 г.);
в — масс-пик лист *V. cholerae* El Tor 19242 (г. Москва, 2012 г.).

1-й, 3-й столбцы — молекулярные массы (m/z) представителя от меньшего значения к большому; 2-й, 4-й столбцы — интенсивности пиков (%), соответствующие молекулярным массам. На масс-пик листах отмечены молекулярные массы с интенсивностью больше 40%.

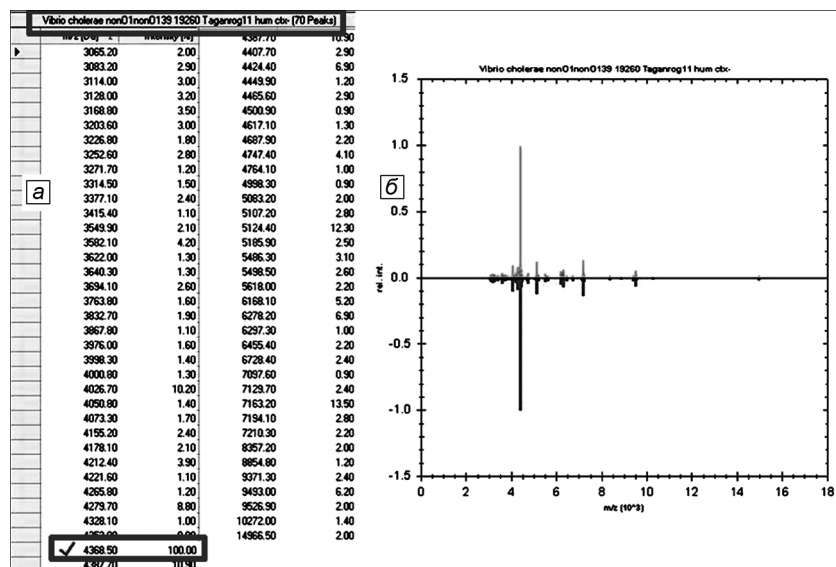


Рис. 4. Масс-спектрометрический белковый профиль штамма *V. cholerae* не O1 / не O139 P-19260 ctx-tcp- (г. Таганрог, 2011 г.).

а — масс-пик лист; 1-й, 3-й столбцы — молекулярные массы (m/z) представителя от меньшего значения к большему; 2-й, 4-й столбцы — интенсивности пиков (%), соответствующие молекулярным массам. б — основной масс-спектр.

По оси абсцисс — значение масс-заряда (m/z); по оси ординат — интенсивность пика (%).

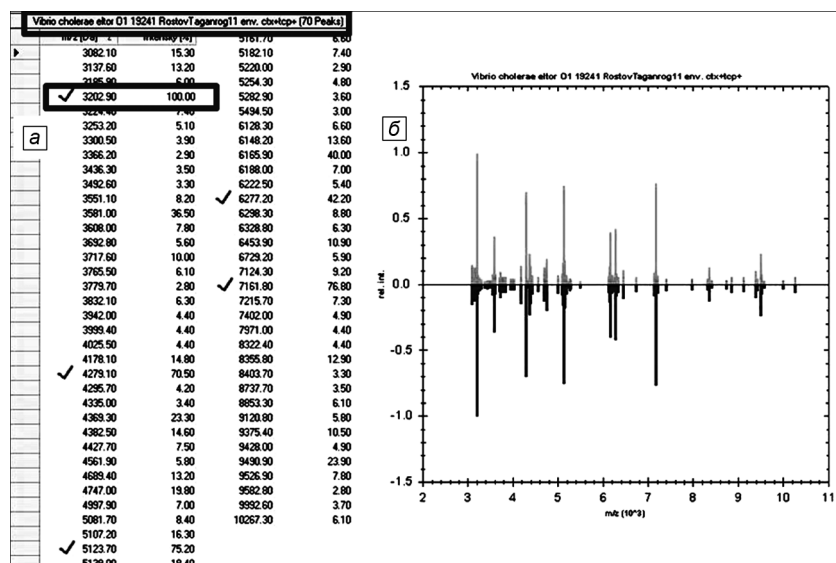


Рис. 5. Масс-спектрометрический белковый профиль штамма *V. cholerae* не O1 / не O139 P-19241 ctx+tcp+ (г. Таганрог, 2011 г.).

а — масс-пик лист. 1-й, 3-й столбцы — молекулярные массы (m/z) представителя от меньшего значения к большему; 2-й, 4-й столбцы — интенсивности пиков (%), соответствующие молекулярным массам.

б — основной масс-спектр. По оси абсцисс — значение масс-заряда (m/z); по оси ординат — интенсивность пика (%).

Созданная нами авторская база данных холерных вибрионов имеет на сегодняшний день библиотеку профилей 110 штаммов. База представляет собой репрезентативную коллекцию масс-спектров, позволяющих анализировать сходства и отличия представителей *V. cholerae* на основании выявленных таксон-специфических белковых компонентов, характерных для биоваров, серологических групп и токсигенности [11, 12], что позволяет строить дендрограм-

мы и устанавливать степень родства интересующих штаммов. Из дендрограммы (рис. 1) видно, что изучаемая нами выборка штаммов разделилась на 2 четких кластера. В нижний кластер 2 вошли все эпидемически опасные штаммы, выделенные от людей, приехавших в Москву из Индии в 2010 г. (4 штамма от 3 человек) и в 2012 г. (2 штамма от 1 человека). Эффективность типирования подтверждается тем, что токсигенный штамм *V. cholerae* El Tor P-19241, выделенный в 2011 г. из воды порта г. Таганрог, занял место в этой группе, что свидетельствует о его индийском происхождении.

Верхний кластер 1 представлен атоксигенными вибрионами не O1 / не O139 серогрупп, выделенными от людей в 2011 г. в г. Таганрог. В этот кластер удивительным образом попал один из штаммов *V. cholerae* El Tor 19243, выделенный от больного, прилетевшего из Индии в 2012 г., в то время как второй штамм *V. cholerae* El Tor 19242 от того же человека был отнесен к кластеру 2 «индийских штаммов». Оба штамма — 19242 и 19243 — были идентифицированы бактериологическим методом и в режиме масс-спектрометрического анализа как *V. cholerae* El Tor ctx+ с показателем Score 2.579.

Мы попытались найти причину такого расхождения и воспользовались непосредственно протеомными портретами созданной нами коллекции. Из рис. 2 видно, что интенсивность минорных пиков с соотношением масса/заряд (m/z) 4500–10 000 Да у штамма *V. cholerae* El Tor 19243 ближе к интенсивности минорных пиков с m/z 4500–10 000 Да суммарных спектров штаммов *V. cholerae* не O1 / не O139 (г. Таганрог, 2011 г.), чем к спектру *V. cholerae* El Tor 19242 (г. Москва, 2013 г.) в том же диапазоне m/z.

Масс-спектр, состоящий из пиков разной интенсивности, является графическим отображением масс-пик листа (MSP Peak List) созданной нами базы, который представляет собой таблицу всех молекулярных масс профиля (рис. 3).

Согласно данным масс-пик листов, штамм *V. cholerae* не O1 / не O139 P-19261 (человек, г. Таганрог, 2011) имеет один пик с интенсивностью 100% с m/z 4367,40 Да, *V. cholerae* El Tor 19243 (человек, г. Москва, 2012) имеет такой же пик 4367,40 Да (интенсивность 100%) и еще только один — близкий по интенсивности (43,9%) с m/z 3203,30 Да. Вместе с тем второй штамм *V. cholerae* El Tor 19242 от того же человека имеет целых 6 пиков с интенсивностью выше 40% и один пик (100%) с иным m/z — 4278,60 Да, что и определяет расхождения в дендрограммах двух штаммов от одного человека, не являющихся идентичными.

Анализ основных спектров всей коллекции позволил нам идентифицировать таксон-специфические компоненты, отличающие штаммы *V. cholerae* не O1 / не O139 от штаммов *V. cholerae* El Tor. Нами определено, что представители возбудителя холеры O1 серогруппы имеют в среднем 5 пиков с интенсивностью 40–100% в диапазоне m/z 4000, 4400, 5000, 6000, 7000 Да и интенсивный пик (100% >) с m/z 3202 Да,

в то время как *V. cholerae* не O1 / не O139 — один-два мажорных пика в диапазоне m/z 4000—4500 Да, где m/z самого интенсивного пика (100% >) имеет другую молекулярную массу, чем у E1 Toг вибрионов (рис. 4 и 5), что и определяют протеомную дифференциацию этих двух подвидов.

Заключение. Таким образом, созданная нами база данных протеомных портретов *V. cholerae* позволяет проводить идентификацию, изучение и типирование возбудителей холеры и других представителей *V. cholerae*, определяя их возможное происхождение и филогенетическое родство, что в дальнейшем чрезвычайно полезно для установления происхождения штаммов, выделенных из объектов окружающей среды, и эпидемиологической расшифровки вспышек заболевания.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 3—6 см. REFERENCES)

1. Кубанова А.А., Говорун В.М., Ильина Е.Н., Верещагин В.А., Фриго Н.В., Припутневич Т.В. Первый опыт применения метода прямого белкового профилирования для идентификации и типирования *N. gonorrhoeae*. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2006; (5): 25—9.
2. Маянский Н.А., Калакуцкая А.Н., Мотузова О.В., Ломинадзе Г.Г., Крыжановская О.А., Катосова Л.К. MALDI-TOF масс-спектрометрия в рутинной работе микробиологической лаборатории. *Вопросы диагностики в педиатрии*. 2011; 3 (5): 20—5.
7. Афанасьев М.В., Миронова Л.В., Басов Е.А., Остяк А.С., Куликалова Е.С., Урбанович Л.Я. и др. MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ в ускоренной идентификации микроорганизмов рода *Vibrio*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2014; (3): 22—9.
8. Ломов Ю.М. Особенности эпидемических осложнений при холере на современном этапе. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2010; (2): 7—11.
9. Телесманич Н.Р., Ломов Ю.М. Лабораторная диагностика холеры (анализ и перспективы совершенствования). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2009; (11): 51—5.
10. Водяницкая С.Ю., Телесманич Н.Р., Чайка С.О., Чайка И.А., Иванова Н.Г. MALDI-TOF протеомный анализ в исследовании судовых балластных вод в портах Ростовской области. *Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие*. 2014; 9 (4): 82—9.
11. Телесманич Н.Р., Агафонова В.В., Чайка И.А., Сеина С.О., Чемисова О.С., Гончаренко Е.В. и др. MALDI масс-спектрометрический анализ в типировании и внутривидовой дифференциации холерных вибрионов на основе создания референс-библиотеки протеомных профилей. *Медицинский Вестник Юга России*. 2014; (2): 88—91.
12. Телесманич Н.Р., Чайка С.О., Водяницкая С.Ю., Чемисова О.С., Чайка И.А. Применение масс-спектрометрического метода MALDI-TOF для межвидовой дифференциации близкородственных вибрионов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2014; 59 (8): 27—28, 37—38.

Поступила 11.08.15

REFERENCES

1. Kubanova A.A., Govorun V.M., Il'ina E.N., Vereshchagin V.A., Frigo N.V., Priputnevich T.V. The first experience of direct protein profiling for identification and typing of *N. gonorrhoeae*. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2006; (5): 25—9. (in Russian)
2. Mayanskiy N.A., Kalakutskaya A.N., Motuzova O.V., Lominadze G.G., Kryzhanovskaya O.A., Katosova L.K. MALDI-TOF mass-spectrometry in routine work of microbiological laboratory. *Voprosy diagnostiki v pediatrii*. 2011; 3 (5): 20—5. (in Russian)
3. Chen J.H., Ho P.L., Kwan G.S., She K.K., Siu G.K., Cheng V.C. et al. Direct bacterial identification in positive blood cultures by use of two commercial matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51 (6): 1733—9.
4. Van Belkum A., Durand G., Peyret M., Chatellier S., Zambardi G., Schrenzel J. et al. Rapid clinical bacteriology and its future impact. *Ann. Lab. Med.* 2013; 33 (1): 14—27.
5. Benagli C., Demarta A., Caminada A., Ziegler D., Petrini O., Tonolla M. A rapid MALDI-TOF MS identification database at genospecies level for clinical and environmental *Aeromonas* strains. *PLoS One*. 2012; 7 (10). Available at: <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0048441>.
6. Wang J., Zhou N., Xu B., Hao H., Kang L., Zheng Y. et al. Identification and cluster analysis of *Streptococcus pyogenes* by MALDI-TOF mass spectrometry. *PLoS One*. 2012; 7 (11). Available at: <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0047152>.
7. Afanas'ev M.B., Mironova L.V., Basov E.A., Ostyak A.S., Kulikalova E.S., Urbanovich L.Ya. et al. MALDI-TOF mass-spectrometric analysis in the accelerated identification of the *Vibrio* Genus Microorganisms. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*. 2014; (3): 22—9. (in Russian)
8. Lomov Yu.M. The specific features of epidemic complications in cholera at the present-day stage. *Epidemiologiya i infektsionnyye bolezni*. 2010; (2): 7—11. (in Russian)
9. Telesmanich N.R., Lomov Yu.M. Laboratory diagnosis of cholera: analysis and prospects for improvement. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2009; (11): 51—5. (in Russian)
10. Vodyanitskaya S.Yu., Telesmanich N.R., Chayka S.O., Chayka I.A., Ivanova N.G. MALDI-TOF proteomic analysis in the study of shipping ballast waters in sea ports of Rostov region. *Zhizn' bez opasnostey. Zdorov'e. Profilaktika. Dolgoletie*. 2014; 9 (4): 82—9. (in Russian)
11. Telesmanich N.R., Agafonova V.V., Chayka I.A., Seina S.O., Chemisova O.S., Goncharenko E.V. et al. MALDI mass-spectrometric analysis for typing and intraspecies differentiation of cholera vibrios on the base of construction of the reference library of proteomic profiles. *Meditinskiy Vestnik Yuga Rossii*. 2014; (2): 88—91. (in Russian)
12. Telesmanich N.R., Chayka S.O., Vodyanitskaya S.Yu., Chemisova O.S., Chayka I.A. The application of mass spectrometry technique MALDI-TOF for inter-specific differentiation of closely-related *Vibrio*. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2014; 59 (8): 27—28, 37—38. (in Russian)

Received 11.08.15