

DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-86-92

УДК 616.98:579.842.23

А.С. Абдрашитова, А.В. Бойко, Н.Е. Щербакова, Е.А. Билько, О.А. Корешкова, Н.С. Червякова

**Внутривидовая дифференциация *Yersinia pestis*  
с использованием масс-спектрометрического анализа**

ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

**Цель** исследования – оценка подходов и возможностей дифференциации штаммов возбудителя чумы основного и неосновных подвигов с использованием метода масс-спектрометрического анализа. **Материалы и методы.** В работе использовали 102 штамма *Yersinia pestis* четырех подвигов, выращенные на агаре LB, pH (7,2±0,1), при температуре плюс (28±1) °C в течение (48±1) ч. Снятие масс-спектров образцов производили в автоматическом режиме с частотой лазера 60 Гц на масс-спектрометре Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия). Спектры анализировали в диапазоне масс 2–20 КДа. **Результаты и обсуждение.** Рассмотрены различные подходы к дифференциации штаммов чумного микроба по подвидам (биоварам) с использованием метода MALDI-TOF масс-спектрометрии. При применении визуального анализа для исследуемой выборки не удалось выбрать фрагменты протеинограммы, которые могли бы считаться специфичными сигналами для каждого подвида или биовара *Y. pestis*. При помощи кластерного анализа программы MALDI Biotyper отмечено формирование двух отдельных кластеров, включающих масс-спектры штаммов основного и кавказского подвигов чумного микроба. Масс-спектры штаммов *Y. pestis* центральноазиатского и улегейского подвигов не группируются в обособленные кластеры. При оценке информативности пиков в масс-спектрах продемонстрировано, что один и тот же пик имеет разное весовое значение для разных подвигов (биоваров). Таким образом, рассмотрена возможность применения различных подходов при анализе белковых профилей штаммов *Y. pestis* для их дифференциации по подвидам и/или биоварам.

**Ключевые слова:** чума, *Yersinia pestis*, масс-спектрометрия, белковый профиль, подвид, биовар.

Корреспондирующий автор: Абдрашитова Адилья Саберъжановна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Абдрашитова А.С., Бойко А.В., Щербакова Н.Е., Билько Е.А., Корешкова О.А., Червякова Н.С. Внутривидовая дифференциация *Yersinia pestis* с использованием масс-спектрометрического анализа. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2025; 3:86–92. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-86-92  
Поступила 25.10.2024. Отправлена на доработку 25.11.2024. Принята к публикации 27.11.2024.

**A.S. Abdrashitova, A.V. Boiko, N.E. Shcherbakova, E.A. Bil'ko, O.A. Koreshkova, N.S. Chervyakova**  
**Intraspecific Differentiation of *Yersinia pestis* Using Mass Spectrometric Analysis**

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

**Abstract.** The aim of the study was to evaluate approaches and possibilities for differentiating strains of plague agent of the main and non-main subspecies using the method of mass spectrometric analysis. **Materials and methods.** 102 strains of *Yersinia pestis* of 4 subspecies were used in the current work, which were grown on LB agar pH (7.2±0.1) at a temperature of (28±1) °C for (48±1) hours. The mass spectra of the samples were taken automatically with a laser frequency of 60 Hz on a Microflex LT mass spectrometer (Bruker Daltonics, Germany). The spectra were analyzed in the mass range of 2–20 kDa. **Results and discussion.** Various approaches to the differentiation of plague microbe strains by subspecies (biovars) using the MALDI-TOF mass spectrometry method have been considered. When using visual analysis for the sample under study, it is not possible to select fragments of the proteinogram that could be considered specific signals for each subspecies or biovar of *Y. pestis*. Using the cluster analysis of the MALDI Biotyper program, the formation of two separate clusters was noted, including the mass spectra of strains of the main and Caucasian subspecies of the plague microbe. The mass spectra of *Y. pestis* strains of the central asiatica and ulegeica subspecies are not grouped into separate clusters. When evaluating the informative value of peaks in the mass spectra, it was demonstrated that the same peak has a different weight value for different subspecies (biovars). Thus, the possibility of using different approaches in the analysis of protein profiles of *Y. pestis* strains for their differentiation by subspecies and/or biovars has been examined.

**Key words:** plague, *Yersinia pestis*, mass spectrometry, protein profile, subspecies, biovar.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

**Funding:** The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Adilya S. Abdrashitova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Abdrashitova A.S., Boiko A.V., Shcherbakova N.E., Bil'ko E.A., Koreshkova O.A., Chervyakova N.S. Intraspecific Differentiation of *Yersinia pestis* Using Mass Spectrometric Analysis. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2025; 3:86–92. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-86-92

Received 25.10.2024. Revised 25.11.2024. Accepted 27.11.2024.

Abdrashitova A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1803-4156>  
Boiko A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9576-4959>  
Shcherbakova N.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3261-6128>

Bil'ko E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2572-8933>  
Koresheva O.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-2029-0646>  
Chervyakova N.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3133-3820>

До настоящего времени чума по-прежнему представляет серьезную угрозу для здоровья населения во всем мире и является одним из самых опасных инфекционных заболеваний, способных вызывать эпидемии и быстро распространяться.

Непрерывное наблюдение за существующими природными очагами чумы обусловлено многолетней проблемой проявления в них внезапных эпизоотий, а также регистрацией спорадических случаев заболевания людей на территории Российской Федерации и в мире [1]. В России зарегистрированы 11 природных очагов чумы, в которых циркулируют штаммы, различающиеся по эпидемической значимости. Поэтому при выявлении возбудителя актуальной задачей является быстрая расшифровка его принадлежности к тому или иному подвиду и/или биовару для проведения противоэпидемических мероприятий и предотвращения эпидемических осложнений, которые могут быть совершенно различными по экономическим и временным затратам.

Метод MALDI-TOF масс-спектрометрии относительно давно и успешно применяется для идентификации микроорганизмов, так как отличается быстротой выполнения, высокой точностью, сравнительно незначительными материальными расходами. Программное обеспечение приборов содержит коммерческие базы данных белковых профилей, с помощью которых сравниваются получаемые масс-спектры идентифицируемых объектов. Возможности метода не ограничиваются только отнесением изучаемого патогена к тому или иному виду в соответствии с классификацией, но и позволяют определить другие качественные характеристики микроорганизма. Например, известны работы по применению белкового фингерпринтинга для идентификации и распознавания изолятов микроорганизмов, чувствительных или устойчивых к антибактериальным препаратам, что имеет важное значение для специфической противомикробной терапии [2–5].

За последнее десятилетие наполнение баз масс-спектрометрических данных белковыми профилями возбудителей опасных инфекционных болезней бактериальной природы в РФ происходило значительными темпами [6–13]. Созданные библиотеки спектров возбудителей I–II групп патогенности (чумы, бруцеллеза, туляремии, холеры) в отечественных базах данных направлены, прежде всего, на родовую и видовую идентификацию микроорганизмов. Но к настоящему времени практический интерес представляет внутривидовая дифференциация выявляемых штаммов по различным признакам. Получение специфических пиков белков для подвидов, биоваров тестируемых штаммов в конечном итоге даст максимально быструю возможность расшифровки

региона происхождения и оценки их вирулентности, а также эпидемической значимости.

**Цель** исследования – оценка подходов и возможностей дифференциации штаммов чумного микроба основного и неосновных подвидов с использованием метода масс-спектрометрического анализа.

## Материалы и методы

В качестве объектов исследования использованы штаммы *Yersinia pestis*, выделенные в разные годы в природных очагах чумы от людей, животных и из объектов окружающей среды. Всего изучено 102 штамма возбудителя чумы четырех подвидов: 35 штаммов основного подвида (*Y. pestis* subsp. *pestis*), 24 штамма кавказского подвида (*Y. pestis* subsp. *caucasica*), 6 штаммов улегейского подвида (*Y. pestis* subsp. *ulegeica*), 37 штаммов центральноазиатского подвида (*Y. pestis* subsp. *central asiatica*), из которых 5 штаммов относятся к гиссарскому биовару, 6 штаммов – к таласскому биовару и 26 штаммов – к алтайскому биовару (таблица). Культуры *Y. pestis* получены из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора.

Масс-спектры штаммов *Y. pestis* получены методом времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS). Данный неdestructивный метод ионизации лазерным излучением с предварительной сокристаллизацией исследуемого аналита с матрицей (MALDI) позволяет проводить масс-спектрометрию больших биополимеров. Для масс-спектрометрического анализа использовали белковые экстракты исследуемых культур *Y. pestis*, выращенные на агаре LB, pH (7,2±0,1), при температуре плюс (28±1) °C в течение (48±1) ч. Экстракцию белков проводили в соответствии с МУ 4.2.3733-21 «Подготовка культур микроорганизмов I–II групп патогенности для анализа методом MALDI-TOF масс-спектрометрии и формирование баз данных референсных масс-спектров для автоматической идентификации микроорганизмов». В качестве матрицы использовали α-циано-4-гидроксикоричную кислоту (CHCA), имеющую максимальное оптическое поглощение в диапазоне длины волны лазера. Снятие масс-спектров образцов производили в автоматическом режиме с частотой лазера 60 Гц на масс-спектрометре Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия). Суммарный спектр сгенерирован в среде программы mMass из 20 предварительно отобранных и обработанных спектров для каждого штамма. Спектры анализировали в диапазоне масс 2–20 КДа.

На основе полученных данных масс-спектров с помощью специализированной компьютерной про-

Штаммы *Y. pestis*, использованные в работе  
*Y. pestis* strains used in the work

| Подвид / биовар<br>Subspecies / biovar          |                         | Природный очаг чумы<br>Natural focus of plague                                                                                                                               | № штамма<br>Strain No.                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Y. pestis</i> subsp. <i>pestis</i>           |                         | Прикаспийский песчаный<br>Precaspian sandy focus                                                                                                                             | 24, 354, 445, 451, 456, 595, 1631, 1637, 1905, 1920, 1928, 26, 965, 1014, 1015, 1022, 1023, 1039, 1045, 1087, 1166, 3102, 3105, 4161, 4285                     |
|                                                 |                         | Горно-Алтайский высокогорный<br>Gorno-Altai high mountain focus                                                                                                              | 848, 37, 157, 174, 299, 320, 486, 592                                                                                                                          |
|                                                 |                         | Тувинский горный<br>Tuva mountain focus                                                                                                                                      | 131–133, 420                                                                                                                                                   |
| <i>Y. pestis</i> subsp. <i>central asiatica</i> | biovar <i>hissarica</i> | Гиссарский высокогорный<br>Hissar high mountain focus                                                                                                                        | 152, 706, 1129, 190, 2019                                                                                                                                      |
|                                                 | biovar <i>talassica</i> | Таласский высокогорный<br>Talas high mountain focus                                                                                                                          | 21/10, 23/2, 40/3, 53/8, 918/1, A-1815                                                                                                                         |
|                                                 | biovar <i>altaica</i>   | Горно-Алтайский высокогорный<br>Gorno-Altai high-mountain focus                                                                                                              | 2739, 2817, 2881, 2513-15, 1307, 1313, 2120, 2183, 2284, 2286, 2397, 2412, 2416, 2630, 2633, 2648, 2691, 2814-17, 3595, 51, 2967, 3021, 3057, 3067, 4481, 1444 |
| <i>Y. pestis</i> subsp. <i>caucasica</i>        |                         | Закавказский высокогорный<br>Trans-Caucasian high mountain focus                                                                                                             | 835, 3344Арм, 3347Арм, 3499Арм, 3515Арм, 3544Арм, 3358Арм, 3548Арм, 3551Арм, C-261 (10526), 81Арм, 9Аз, 1390 Г, 1393Г, 1413Г, 1392Г, 1391Г                     |
|                                                 |                         | Восточно-Кавказский высокогорный<br>East-Caucasian high mountain focus                                                                                                       | 4053Д, 4018Д, 4000Д, 4055Д, 3917Даг                                                                                                                            |
|                                                 |                         | Приараксинский низкогорный<br>Araks region low mountain focus                                                                                                                | 542Аз                                                                                                                                                          |
|                                                 |                         | н/д (Азербайджанская ССР)<br>n/d (Azerbaijan SSR)                                                                                                                            | 818                                                                                                                                                            |
| <i>Y. pestis</i> subsp. <i>ulegeica</i>         |                         | Монгольская Народная Республика (Южно-Гобийский, Бухэн-Ульский, Таац-Онгийский очаги чумы)<br>Mongolian People's Republic (Southern Gobi, Bukhen-Ul, Taats-Ongi plague foci) | 263МНР, 779, 780, 794Мон, 1053, 1025                                                                                                                           |

Примечание: н/д – нет данных.

Note: n/d – no data.

граммы проводили оценку информативности пиков m/z у разных подвидов и биоваров *Y. pestis* [14].

Результаты и обсуждение

Проведенный сравнительный анализ белковых профилей 102 штаммов *Y. pestis* четырех подвидов показал наличие 16 общих для всех исследуемых штаммов чумного микроба пептидов со значениями (m/z±2) Da: 2172, 2725, 2823, 3021, 3219, 4185, 4350, 4450, 4634, 5149, 6045, 6241, 8368, 9268, 9658, 10296. Часть из них ранее были описаны в литературе: белки с m/z 4350 Da, 6046 Da, 6241 Da – общие для рода *Yersinia* [15, 16]; белки с m/z 8366 Da, 9268 Da, 9659 Da, 10297 Da – общие для *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* [7, 15, 16]. В международной базе белков UniProt пептид со значением m/z 2823 Da представлен как RepA translation protein (ген *tap*), с m/z 5149 Da – DNA-directed RNA polymerase beta chain (ген *rpoB*), пептиды с m/z 4185 Da, 4450 Da – uncharacterized protein [17].

В результате анализа масс-спектров штаммов *Y. pestis* основного подвида подтверждено наличие специфического фрагмента с m/z (3063±2) Da, ранее описанного в литературе [12, 15, 16]. Заслуживает

внимания тот факт, что в масс-спектрах штаммов возбудителя чумы основного подвида, выделенных в разных природных очагах чумы (Прикаспийском песчаном, Горно-Алтайском высокогорном, Тувинском горном), имеются некоторые отличия, что в дальнейшем может быть использовано для дифференциации штаммов *Y. pestis* не только по подвидам и биоварам, но, возможно, и по месту их выделения. Например, отмечено наличие пептидов с m/z (2837±2) Da, (7624±2) Da (в базе белков UniProt представлен как мембранный белок, кодируемый геном *YPO1961*) [17] в протеинограмме большинства из изученных штаммов *Y. pestis* subsp. *pestis* из Прикаспийского песчаного очага чумы, в то время как в масс-спектрах изученной нами выборки штаммов из Горно-Алтайского высокогорного и Тувинского горного очагов чумы такие фрагменты не выявлены.

У штаммов кавказского подвида *Y. pestis* выявлен белок с m/z (6474±2) Da, ранее предложенный как специфический маркер штаммов *Y. pseudotuberculosis* и штаммов *Y. pestis* кавказского подвида [12, 15, 16]. Важно отметить, что в нашем исследовании у 2 из 24 исследованных штаммов *Y. pestis* subsp. *caucasica* (принадлежность к кавказскому подвиду подтверждена результатами секвенирования) фраг-

мент с  $m/z$  ( $6474 \pm 2$ ) Da в масс-листе отсутствовал, так как интенсивность сигнала в данной области ниже порогового уровня, требуемого протоколом обработки спектров программы mMass для “Proteins 5-20 kDa”. В то же время наличие данного пика в масс-спектрах штаммов *Y. pestis* subsp. *caucasica* и *Y. pseudotuberculosis* может создавать трудности при их видовой идентификации с помощью метода MALDI-TOF MS.

Кроме того, выявлен белок со значением  $m/z$  ( $2052 \pm 2$ ) Da, отсутствующий у всех изученных нами штаммов *Y. pestis* subsp. *caucasica*, но характерный для белковых профилей большинства штаммов других подвидов (все штаммы улегейского подвида, гиссарского и таласского биоваров центральноазиатского подвида, 14 из 26 исследованных штаммов алтайского биовара и 33 из 35 штаммов основного подвида) (рис. 1).

Наряду с этим показано существенное различие белковых профилей штаммов *Y. pestis*, выделенных в природных очагах чумы, расположенных на Гиссарском и Таласском хребтах Таджикистана и Киргизии, и относящихся в соответствии с современной классификацией к двум разным биоварам центральноазиатского подвида – таласскому и гиссарскому, которые ранее относились к одному подвиду – subsp. *hissarica*. Так, в протенограмме штаммов *Y. pestis* subsp. *central asiatica* гиссарского биовара по сравнению с большинством штаммов *Y. pestis* subsp. *central asiatica* таласского биовара отсутствовал ряд пептидов ( $m/z \pm 2$  Da: 3558, 4196, 5162, 5452, 6265, 7212, 8393, 9685, 10321, 10540, 10865), что подтверждает обоснованность отнесения таких штаммов к разным биоварам центральноазиатского подвида.

Основная трудность при использовании визуального анализа заключается в том, что, хотя он и показывает отличие белковых профилей большинства штаммов *Y. pestis* того или иного подвида (биовара) наличием или отсутствием различных совокупностей фрагментов (пиков), однако для штаммов чумного микроба улегейского подвида, алтайского, гиссарского и таласского биоваров центральноазиатского подвида на основании исследуемой выборки штаммов не представляется возможным выбрать фрагменты протенограммы, которые могли бы считаться специфичными сигналами для конкретного подвида или биовара.

Для оценки возможности дифференциации штаммов *Y. pestis* по подвидам и биоварам с помощью программного обеспечения масс-спектрометра построена дендрограмма, демонстрирующая иерархическую связь между MS-спектрами исследуемых штаммов (рис. 2).

В результате проведенного кластерного анализа показано, что масс-спектры штаммов основного (В) и кавказского (А) подвида чумного микроба сформировали два отдельных друг от друга кластера на самом высоком уровне иерархии кластеров с расстоянием 1000, что подтверждает отличия их белковых профилей по наличию или отсутствию мажорных белков с  $m/z$  ( $3063 \pm 2$ ) Da и ( $6474 \pm 2$ ) Da [12]. При этом масс-спектры штаммов чумного микроба центральноазиатского (алтайский, гиссарский и таласский биовары) и улегейского подвида не группируются в обособленные кластеры, а интегрированы в кластеры, образованные штаммами основного или кавказского подвида. Вероятно, такое распределение обусловлено тем, что кластерный анализ имеет определенные ограничения, в частности со-

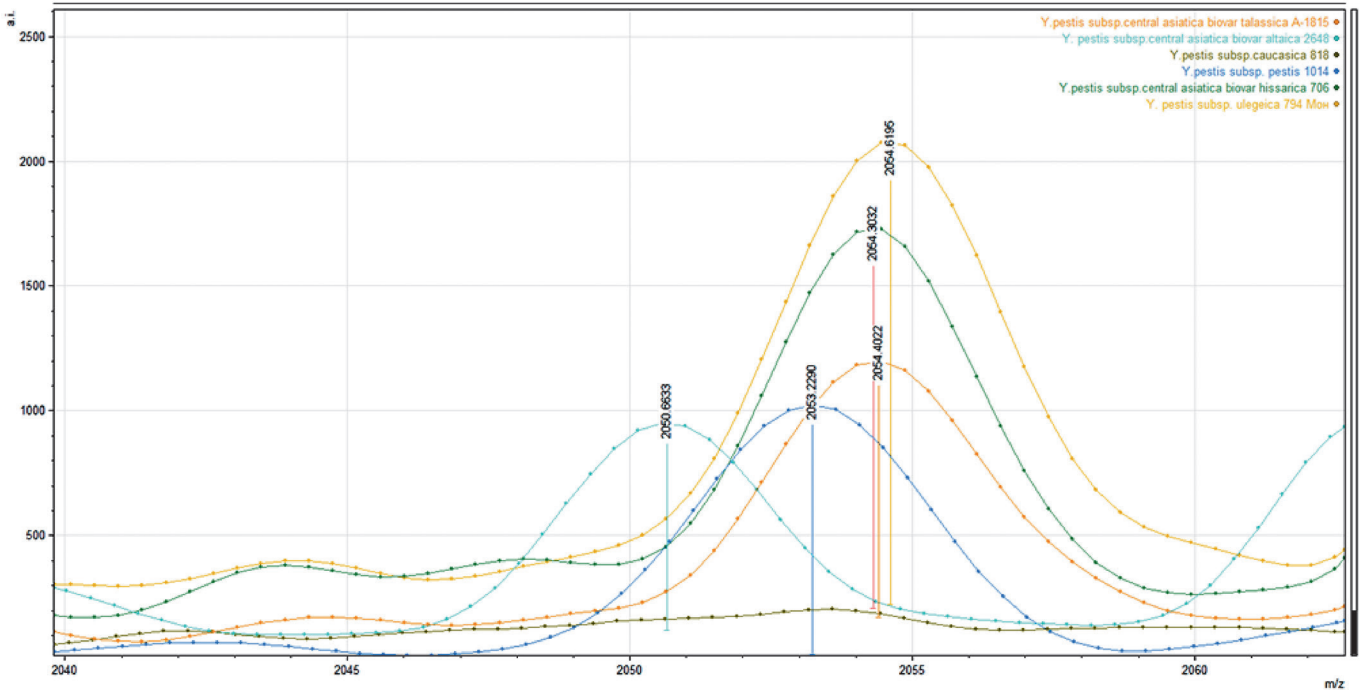


Рис. 1. Масс-спектры штаммов *Y. pestis*, фрагмент  $m/z$  ( $2052 \pm 2$ ) Da

Fig. 1. Mass spectra of *Y. pestis* strains, fragment  $m/z$  ( $2052 \pm 2$ ) Da

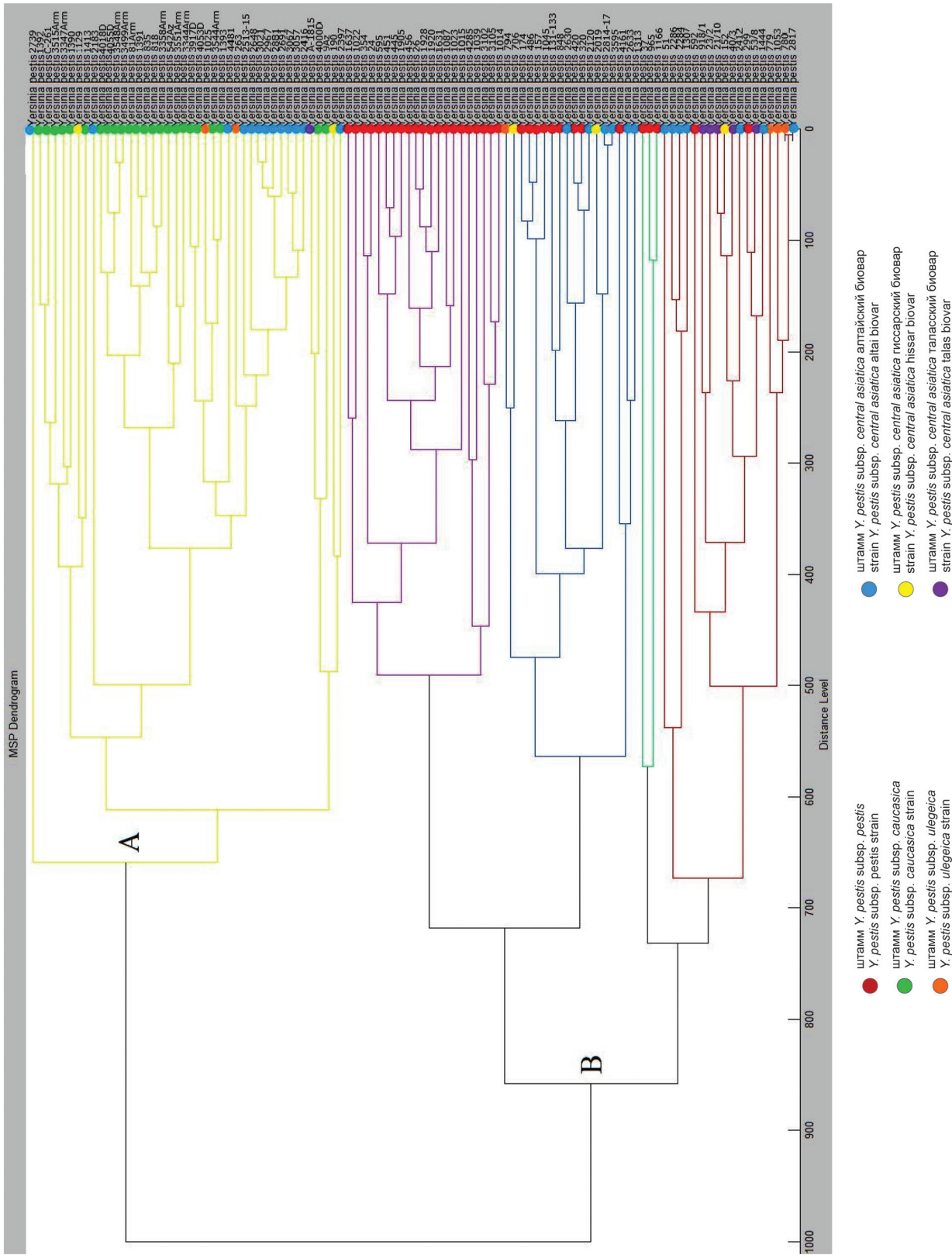


Рис. 2. MSP-дендрограмма штаммов *Y. pestis*:

A – штаммы кавказского подвида; B – штаммы основного подвида

Fig. 2. MSP dendrogram of *Y. pestis* strains:

A – strains of the Caucasian subspecies; B – strains of the main subspecies

став и количество кластеров зависят от произвольно выбираемых критериев разбиения, но не учитываются их информативность [18]. Таким образом, идентификация подвидов и биоваров чумного микроба с помощью кластерного анализа программы MALDI Biotyper может вызвать затруднения.

С целью корректного решения задачи дифференциации штаммов *Y. pestis* по подвидам и биоварам с использованием метода масс-спектрометрии нами проведена оценка информативности пиков  $m/z$ , связанная с регулярностью их появления в масс-спектрах штаммов возбудителя чумы различных подвидов и биоваров, в соответствии с действующей классификацией чумного микроба. Следует учитывать, что величина информативности одного и того же пика в масс-спектрах разных штаммов может отличаться в десятки раз. Следовательно, дифференциация по ограниченному числу пиков всегда будет страдать существенной неточностью, поэтому необходимо учитывать всю полноту информации, заложенной в масс-спектре. В качестве примера можно привести рассчитанную информативность пика с  $m/z$  (1991 $\pm$ 2) Da в протеинограммах штаммов разных подвидов *Y. pestis*: для штаммов *Y. pestis* subsp. *caucasica* это значение составляет 1,065, в то время как для штаммов *Y. pestis* subsp. *central asiatica* алтайского биовара – всего 0,046. Таким образом, пики, имеющие наибольшую информативность для конкретного подвида и биовара, будут отличаться от пиков с наибольшей информативностью для штаммов других подвидов и биоваров.

При данном подходе критерием сравнительного анализа масс-спектра изучаемого штамма с ранее рассчитанными моделями является величина вероятности ошибочной идентификации при отнесении штамма к каждой из категорий (групп). При этом чем меньше ошибка идентификации, тем точнее можно отнести изучаемый штамм *Y. pestis* к определенному подвиду (биовару). Например, при попытке подвидовой дифференциации штамма *Y. pestis* 2881 с помощью данного подхода вероятность ошибки идентификации ( $p$ ) в долях единицы при отнесении его к *Y. pestis* subsp. *altaica* составила  $3,21 \cdot 10^{-18}$ , в то время как при отнесении к *Y. pestis* subsp. *pestis* – 1, что свидетельствует о достоверной принадлежности данного штамма к *Y. pestis* алтайского подвида.

В то же время при идентификации с учетом информативности пиков двух штаммов возбудителя чумы кавказского подвида, не имеющих в масс-листе пика (6474 $\pm$ 2) Da, показано, что, несмотря на отсутствие этого фрагмента при анализе данных спектра, штаммы были отнесены к *Y. pestis* кавказского подвида.

Иллюстрацией этого утверждения является то, что штамм *Y. pestis* 835 ( $m/z$  6474 $\pm$ 2 Da в масс-листе отсутствует) отнесен к *Y. pestis* subsp. *caucasica* с вероятностью ошибки идентификации  $1,02 \cdot 10^{-10}$ , принадлежность данного штамма к другим подвидам

возбудителя чумы приближалась к 1, то есть вероятность ошибки – 100 %.

Таким образом, рассмотрена возможность применения различных подходов при анализе белковых профилей штаммов *Y. pestis* с целью их внутривидовой дифференциации. Результаты проведенного исследования показали, что дифференциация исследуемых штаммов возбудителя чумы на соответствующие группы (подвиды, биовары) может быть реализована с наибольшей эффективностью при использовании подхода с учетом информативности регистрируемых в масс-спектрах пиков.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

**Финансирование.** Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

### Список литературы

1. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств. Калининград: ПА Полиграфичъ; 2022. 348 с.
2. Elbehiry A., Marzouk E., Moussa I., Anagreyah S., AlGhamdi A., Alqarni A., Aljohani A., Hemeg H.A., Almuzaini A.M., Alzaben F., Abalkhail A., Alsubki R.A., Najdi A., Algohani N., Abead B., Gazzaz B., Abu-Okail A. Using protein fingerprinting for identifying and discriminating methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from inpatient and outpatient clinics. *Diagnostics (Basel)*. 2023; 13(17):2825. DOI: 10.3390/diagnostics13172825.
3. Sogawa K., Watanabe M., Ishige T., Segawa S., Miyabe A., Murata S., Saito T., Sanda A., Furuhata K., Nomura F. Rapid discrimination between methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using MALDI-TOF mass spectrometry. *Biocontrol Sci.* 2017; 22(3):163–9. DOI: 10.4265/bio.22.163.
4. Liu X., Su T., Hsu Y.S., Yu H., Yang H.S., Jiang L., Zhao Z. Rapid identification and discrimination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2021; 35(2):8972. DOI: 10.1002/rcm.8972.
5. Wang J., Xia C., Wu Y., Tian X., Zhang K., Wang Z. Rapid detection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumonia* using machine learning and MALDI-TOF MS platform. *Infect. Drug Resist.* 2022; 15:3703–10. DOI: 10.2147/IDR.S367209.
6. Спицын А.Н., Уткин Д.В., Куклев В.Е., Портенко С.А., Германчук В.Г., Осина Н.А. Применение MALDI масс-спектрометрии в диагностике особо опасных инфекционных болезней: современное состояние и перспективы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; (3):77–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-3-77-82.
7. Спицын А.Н., Уткин Д.В., Щербакова Н.Е., Портенко С.А., Абдрашитова А.С., Касьян И.А., Германчук В.Г., Куклев В.Е. MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ штаммов возбудителя чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; (2):91–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-91-94.
8. Афанасьев М.В., Миронова Л.В., Басов Е.А., Остяз А.С., Куликалова Е.С., Урбанович Л.Я., Балахонов С.В. MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ в ускоренной идентификации микроорганизмов рода *Vibrio*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2014; (3):22–29.
9. 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):375–9. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-6-375-379.
10. Балахонов С.В., Миронова Л.В., Афанасьев М.В., Куликалова Е.С., Остяз А.С. MALDI-ToF масс-спектрометрическое определение видовой принадлежности патогенов в совершенствовании эпидемиологического надзора за опасными инфекционными болезнями. *Бактериология*. 2016; 1(1):88–94. DOI: 10.20953/2500-1027-2016-1-88-94.
11. Ульшина Д.В., Ковалев Д.А., Бобрышева О.В., Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Ковалева Н.И., Куличенко А.Н. Применение времяпролетной масс-спектрометрии для диагностики бруцеллеза и межвидовой дифференциации штаммов *Brucella* spp. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2018; 7(4):15–24. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-14002.

12. Котенева Е.А., Котенев Е.С., Калинин А.В., Царева Н.С., Кот Л.А., Жаринова Н.В., Зайцев А.А., Печковский Г.А. Протеомное профилирование штаммов *Yersinia pestis*, циркулирующих на территории природных очагов чумы Северного Кавказа и Закавказья. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2019; (4):18–25. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-4-18-25.
13. Сынгеева А.К., Остык А.С., Куликалова Е.С., Мазепа А.В., Наумова К.В., Балахонov С.В. Эффективность применения MALDI ToF масс-спектрометрии при идентификации штаммов *Francisella tularensis*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; (3):145–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-145-150.
14. Бойко А.А., Бойко А.В. Программа для количественной оценки информативности двоичных (качественных) свойств (признаков), используемых при дифференциации классов объектов и расчета диагностических коэффициентов. Свидетельство о регистрации № 2019619234, опублик. 15.07.2019. Бюл. № 7.
15. Lasch P., Drevinek M., Nattermann H., Grunow R., Stämmler M., Dieckmann R., Schwecke T., Naumann D. Characterization of *Yersinia* using MALDI-TOF mass spectrometry and chemometrics. *Anal. Chem.* 2010; 82(20):8464–75. DOI: 10.1021/ac101036s.
16. Feng B., Shi L., Zhang H., Shi H., Ding C., Wang P., Yu S. Effective discrimination of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* by MALDI-TOF MS using multivariate analysis. *Talanta*. 2021; 234:122640. DOI: 10.1016/j.talanta.2021.122640.
17. UniProt. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.uniprot.org> (дата обращения 21.10.2024).
18. Афонин П.Н., Афонин Д.Н. Статистический анализ с применением современных программных средств: учеб. пособие. СПб.: ИЦ «Интермедия»; 2017. 100 с.
8. Afanasev M.V., Mironova L.V., Basov E.A., Ostyak A.S., Kulikalova E.S., Urbanovich L.Ya., Balahonov S.V. [MALDI-TOF mass-spectrometric analysis in the accelerated identification of the *Vibrio* genus microorganisms]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2014; (3):22–9.
9. 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 cholera vibrio strains]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2016; 61(6):375–9. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-6-375-379.
10. Balakhonov S.V., Mironova L.V., Afanas'ev M.V., Kulikalova E.S., Ostyak A.S. [MALDI-ToF mass-spectrometric detection of pathogen specific belonging in improvement of epidemiological surveillance for dangerous infectious diseases]. *Bakteriologiya [Bacteriology]*. 2016; 1(1):88–94. DOI: 10.20953/2500-1027-2016-1-88-94.
11. Ulshina D.V., Kovalev D.A., Bobrisheva O.V., Ponomarenko D.G., Rusanova D.V., Kovaleva N.I., Kulichenko A.N. [The use of time-of-flight mass spectrometry for diagnosis of brucellosis and interspecific differentiation of strains of *Brucella* spp.]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2018; 7(4):15–24. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-14002.
12. Koteneva E.A., Kotenev E.S., Kalinin A.V., Tsareva N.S., Cot L.A., Zharinova N.V., Zaitsev A.A., Pechkovsky G.A. [Proteomic profiling of *Yersinia pestis* strains circulating in the area of natural plague foci of North Caucasus and Transcaucasia]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2019; (4):18–25. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-4-18-25.
13. Syngeeva A.K., Ostyak A.S., Kulikalova E.S., Mazepa A.V., Naumova K.V., Balakhonov S.V. [The effectiveness of MALDI ToF mass spectrometry in identification of *Francisella tularensis* strains]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (3):145–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-145-150.
14. Boiko A.A., Boiko A.V. [A program for quantifying the informativeness of binary (qualitative) properties (signs) used in differentiating classes of objects and calculating diagnostic coefficients]. Registration number (certificate): 2019619234, published on 15 July 2019. Bul. No. 7.
15. Lasch P., Drevinek M., Nattermann H., Grunow R., Stämmler M., Dieckmann R., Schwecke T., Naumann D. Characterization of *Yersinia* using MALDI-TOF mass spectrometry and chemometrics. *Anal. Chem.* 2010; 82(20):8464–75. DOI: 10.1021/ac101036s.
16. Feng B., Shi L., Zhang H., Shi H., Ding C., Wang P., Yu S. Effective discrimination of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* by MALDI-TOF MS using multivariate analysis. *Talanta*. 2021; 234:122640. DOI: 10.1016/j.talanta.2021.122640.
17. UniProt. (Cited 21 Oct 2024). [Internet]. Available from: <https://www.uniprot.org>.
18. Afonin P.N., Afonin D.N. [Statistical Analysis Using Modern Software Tools. A Study Guide]. St. Petersburg: IC "Intermedia"; 2017. 100 p.

## References

1. Popova A.Yu., Kutryev V.V., editors. [Atlas of Natural Plague Foci in Russia and Foreign Countries]. Kaliningrad; 2022. 348 p.
2. Elbehiry A., Marzouk E., Moussa I., Anagreyah S., AlGhamdi A., Alqarni A., Aljohani A., Hemeg H.A., Almuzaini A.M., Alzaben F., Abalkhail A., Alsubki R.A., Najdi A., Algohani N., Abead B., Gazzaz B., Abu-Okail A. Using protein fingerprinting for identifying and discriminating methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from inpatient and outpatient clinics. *Diagnostics (Basel)*. 2023; 13(17):2825. DOI: 10.3390/diagnostics13172825.
3. Sogawa K., Watanabe M., Ishige T., Segawa S., Miyabe A., Murata S., Saito T., Sanda A., Furuhashi K., Nomura F. Rapid discrimination between methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using MALDI-TOF mass spectrometry. *Biocontrol Sci.* 2017; 22(3):163–9. DOI: 10.4265/bio.22.163.
4. Liu X., Su T., Hsu Y.S., Yu H., Yang H.S., Jiang L., Zhao Z. Rapid identification and discrimination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2021; 35(2):8972. DOI: 10.1002/rcm.8972.
5. Wang J., Xia C., Wu Y., Tian X., Zhang K., Wang Z. Rapid detection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* using machine learning and MALDI-TOF MS platform. *Infect. Drug Resist.* 2022; 15:3703–10. DOI: 10.2147/IDR.S367209.
6. Spitsyn A.N., Utkin D.V., Kuklev V.E., Portenko S.A., Germanchuk V.G., Osina N.A. [Application of MALDI mass-spectrometry for diagnostics of particularly dangerous infectious diseases: current state of affairs and prospects]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2014; (3):77–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-3-77-82.
7. Spitsyn A.N., Utkin D.V., Shcherbakova N.E., Portenko S.A., Abdrashitova A.S., Kas'yan I.A., Germanchuk V.G., Kuklev V.E. [MALDI-TOF mass-spectrometry analysis of plague agent strains]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; (2):91–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-91-94.

## Authors:

Abdrashitova A.S., Boiko A.V., Shcherbakova N.E., Bil'ko E.A., Koreshkova O.A., Chervyakova N.S. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru).

## Об авторах:

Абдрашитова А.С., Бойко А.В., Щербакова Н.Е., Билько Е.А., Корешкова О.А., Червякова Н.С. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru).