

А.В.Осин, Н.С.Червякова, С.А.Портенко, А.С.Абдрашитова, В.Е.Куклев

ПРИМЕНЕНИЕ АВТОМАТИЗИРОВАННЫХ СИСТЕМ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ВЕРИФИКАЦИИ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

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

Цель работы. Оптимизация алгоритма установления аутентичности штаммов патогенных бактерий и оценка его эффективности при проведении номенклатурной ревизии изолятов рода *Bacillus* из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», аутентичность которых вызывала сомнения. **Материалы и методы.** В основу методического подхода заложено применение автоматизированных систем идентификации микроорганизмов: бактериологический анализатор Vitek 2, автоматическая станция риботипирования DuPont Qualicon RiboPrinter System и масс-спектрометр MicroFlex MALDI Biotyper с последующим проведением комплексного анализа полученных результатов в программе BioNumerics 7.1. **Результаты и выводы.** Установлено, что автоматизированные анализаторы достаточно точно идентифицировали изучаемые микроорганизмы по их видовой принадлежности. Наибольшую эффективность показал Vitek 2, который, в отличие от других анализаторов, оказался способен на основе ферментации альфа-маннозидазы выделить штамм *B. anthracis* СТИ-1 из группы бацилл вида *B. cereus*. Следует отметить, что штамм *B. megaterium* 5 идентифицирован до вида различными системами по-разному. Проведенный в программе BioNumerics 7.1 комплексный анализ результатов научных исследований, полученных с трех приборов, позволил с высокой степенью вероятности отнести штамм *B. megaterium* 5 к *B. licheniformis*. Таким образом, результаты исследования указывают на необходимость включения в алгоритм установления аутентичности и таксономической принадлежности коллекционных штаммов при проведении их номенклатурной ревизии нескольких подходов с последующим комплексным анализом полученных данных.

Ключевые слова: аутентичность коллекционных штаммов, бактериологический анализатор Vitek 2, система RiboPrinter, MalDI-ToF масс-спектрометрия, таксономическая принадлежность, кластерный анализ.

Корреспондирующий автор: Осин Александр Владимирович, e-mail: rusrapi@microbe.ru

A.V.Osin, N.S.Chervyakova, S.A.Portenko, A.S.Abrashitova, V.E.Kuklev

Application of Automated Microorganism Identification Systems for Verification of Taxonomic Appurtenance of the Collection Strains of Pathogenic Bacteria

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

Objective of the study is to optimize the algorithm for authenticity specification of pathogenic bacteria strains and to evaluate its efficacy for nomenclature examination of the isolates, *Bacillus* genus, from the State Collection of Pathogenic Bacteria functioning at the premises of RusRAPI "Microbe", the authenticity of which bore scrutiny. **Materials and methods.** Methodological approach is based on application of automated microorganism identification systems: bacteriological analyzer Vitek 2, automatic ribotyping station DuPont Qualicon RiboPrinter System, and mass-spectrometer MicroFlex MALDI Biotyper, followed by complex assessment of the results obtained, using BioNumerics 7.1 software product. **Results and conclusions.** It is established that automated analyzers perform reasonably accurate identification of the investigated microorganisms in reference to their specie appurtenance. Vitek 2 shows the best efficiency. Unlike other analyzers, it allows for differentiation of *B. anthracis* STI-1 strain from a group of bacilli, *B. cereus* specie. It is of note that different systems range *B. megaterium* 5 strain in different ways. Carried out complex analysis of the results, obtained from all the three automated devices, using BioNumerics 7.1 software, relegates *B. megaterium* 5 to *B. licheniformis* with a high degree probability. Thus, it is necessary to include in the algorithm several techniques with subsequent complex analysis of the data obtained to specify authenticity and taxonomic appurtenance of the collection strains under nomenclature examination.

Key words: authenticity of the collection strains, bacteriological analyzer Vitek 2, RiboPrinter system, MALDI-TOF mass-spectrometry, taxonomy appurtenance, cluster analysis.

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

Corresponding author: Aleksander V. Osin, e-mail: rusrapi@microbe.ru

Citation: Osin A.V., Chervyakova N.S., Portenko S.A., Abrashitova A.S., Kuklev V.E. Application of Automated Microorganism Identification Systems for Verification of Taxonomic Appurtenance of the Collection Strains of Pathogenic Bacteria. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:79–83. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-79-83

К одному из важных направлений деятельности коллекций микроорганизмов относится установление таксономической принадлежности включаемых в коллекционный фонд штаммов, а также подтверждение их аутентичности в процессе воспроизводства с учетом требований современной систематики бактерий.

В крупных коллекциях патогенных микроор-

ганизмов, в частности Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», хранится большое количество штаммов, выделенных на различных территориях России и других стран с начала XX века. Таксономическое положение этих микроорганизмов, указанное в паспортах, определялось на момент их идентификации согласно нормам таксономии того времени. Современная си-

стематика бактерий окончательно сложилась лишь к 1980 г. и продолжает постоянно совершенствоваться [11]. Понятие вида в микробиологии не имеет столь четкого определения, как в случае с высшими растениями и животными, и основывается на большом количестве культурально-морфологических, биохимических, серологических и генетических признаков, что приводит к относительно частым уточнениям и исправлениям систематической номенклатуры и, как следствие, изменению таксономического положения микроорганизмов. В связи с этим существует необходимость в периодическом проведении номенклатурной ревизии коллекционных штаммов с целью уточнения их систематического положения на основании обновляющихся (или вновь вводимых) признаков, характеризующих видовую принадлежность микроорганизма.

Традиционные методы установления таксономической принадлежности микроорганизмов не всегда позволяют окончательно идентифицировать некоторые бактерии до вида, что является обязательным при включении их штаммов в коллекционный фонд. Кроме того, при воспроизводстве микроорганизмов важно проводить контроль их аутентичности – соответствие паспортным данным, что особенно важно при консервации референтных штаммов, используемых в производственной и диагностической деятельности [9]. Поэтому необходимо оптимизировать алгоритм установления систематического положения и аутентичности штаммов на основе подходов, позволяющих сократить продолжительность анализа, избежать субъективности при учете результатов, а также обеспечить возможность сохранения полученных данных в доступном формате и сравнения их между собой в процессе накопления материала.

Наиболее полно указанным критериям соответствуют автоматизированные системы биохимического и генетического анализа. В крупных биоресурсных центрах мира, в частности Американской коллекции типовых культур (ATCC), для установления аутентичности коллекционных штаммов используют комплексный подход, который включает в себя проведение биохимического анализа образцов на авто-

матическом микробиологическом анализаторе Vitek 2, риботипирование на станции RiboPrinter и масс-спектрометрический анализ с использованием технологии MALDI-TOF [10].

Целью нашего исследования являлась оптимизация алгоритма установления аутентичности коллекционных штаммов в Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» (ГКПБ) и оценка его эффективности при проведении номенклатурной ревизии ряда микроорганизмов рода *Bacillus*.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы. В работе использовано 19 штаммов рода *Bacillus*, представленные на рис. 1. Штаммы *B. megaterium* ATCC 14581 и *B. subtilis* ATCC 6633, помеченные литерой (N), приобретены в компании Bio-Mérieux как тестовые культуры в 2014 г. Для изучения культуральных свойств исследуемых штаммов использовали жидкие – мясо-пептонный бульон и плотные – мясо-пептонный агар питательные среды [6].

Подтверждение видовой принадлежности изучаемых штаммов проводили стандартными методами с использованием методик, описанных в ГОСТ 10444.8-88 [5] и Справочнике Берджи (Bergey's manual) [7].

Идентификацию микроорганизмов с помощью автоматизированных систем осуществляли на микробиологическом анализаторе Vitek II (Bio-Mérieux, Франция) с применением тест-системы для идентификации аэробных спорообразующих палочек семейства *Bacillaceae*, а также с использованием DuPont Qualicon RiboPrinter® System с набором реагентов «EcoR I Riboprinter kit», основанных на биохимическом и молекулярно-генетическом принципах анализа соответственно [4, 10]. Параллельно все исследуемые штаммы проанализировали физико-химическим методом идентификации микроорганизмов по их белковым профилям с помощью масс-спектрометра по технологии MALDI-TOF [2, 12].

Обработку результатов осуществляли в про-

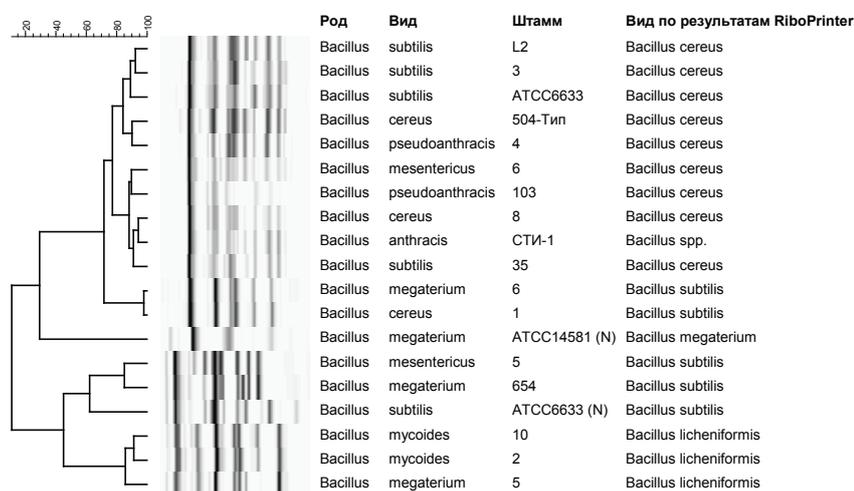


Рис. 1. Филогенетический анализ результатов риботипирования на автоматической станции RiboPrinter, проведенный в программе Bionumerix 7.1:

Род – родовая принадлежность микроорганизма по паспортным данным, *Вид* – видовая принадлежность микроорганизма по паспортным данным, *Штамм* – номер штамма по паспортным данным, *Вид по результатам RiboPrinter* – видовая принадлежность микроорганизма при автоматической идентификации его системой RiboPrinter

грамме BioNumerics v. 7.1 с помощью модулей «Character type», «Spectrum type» и «Fingerprint type». Коэффициенты подобия рассчитывались на основе корреляции Пирсона. Кластерный анализ проводили по методу невзвешенного попарного среднего – UPGMA.

Результаты и обсуждение

В качестве модели нами выбраны штаммы бактерий рода *Bacillus*, аутентичность которых вызывала сомнения. Эти микроорганизмы широко востребованы в различных направлениях медицины, биологии, сельском хозяйстве, где наиболее часто применяются в качестве контрольных, в частности, как гетерологичные, при разработке и проверке качества тест-систем, предназначенных для детекции возбудителя сибирской язвы.

Видовая дифференциация бактерий рода *Bacillus* затруднена, поскольку отсутствуют единые требования к определению их таксономической принадлежности [1]. Длительное время в ее основе лежал традиционный подход изучения фенотипических свойств с использованием схемы идентификации бацилл, предлагаемой в девятом издании Справочника Берджи по бактериологической систематике, а также ГОСТ 10444.8-88 «Продукты пищевые. Методы определения *B. cereus*», регламентирующий способ определения *B. cereus* и близких к нему видов [5, 7]. Эти общепринятые методики основаны на ферментации углеводов, входящих в состав ограниченного числа дифференциально-диагностических сред Гисса, – лактозы, глюкозы, сахарозы, маннита, арабинозы, мальтозы, маннозы и галактозы и не всегда способны точно идентифицировать видовую принадлежность бактерий. Результаты, полученные нами с помощью этих тестов, полностью соотносились с паспортными данными изучаемых штаммов, выписанными при их выделении или включении в коллекцию. Однако в связи с учетом постоянных изменений, вносимых в систематику прокариот, выявлением новых биологических признаков вида, встает необходимость в стандартизации подходов к определению таксономического положения коллекционных штаммов с учетом требований современной таксономии и применения более новых методик для обеспечения этого процесса.

Проведение таких исследований в последние годы стало возможно с помощью автоматического микробиологического анализатора Vitek 2, позволяющего группировать организмы на основании взаимного сходства с учетом 40–60 признаков и интерпретировать результаты в день получения чистой культуры в полностью автоматическом режиме [3]. В процессе идентификации исследуемых штаммов бацилл показано: из 19 штаммов лишь 5 соответствуют видовой принадлежности, указанной в паспортных данных. Это *B. cereus* 504-Тип и 8, вакцинный штамм *B. anthracis* СТИ-1, а также недавно приобре-

тенные ГКПБ *B. megaterium* ATCC14581 (N) и *B. subtilis* ATCC6633 (N). При проведении идентификации установлено, что *B. mycoides* 2 и 10 принадлежат к виду *B. licheniformis*. Также в ходе анализа выявлено, что некоторые штаммы, в частности *B. subtilis* ATCC6633, культура которого хранилась в ГКПБ с 1977 г., не является таковым и представляет собой бациллы вида *B. cereus*, что указывает на невозможность его использования в научно-практической деятельности. Особый интерес вызвал тот факт, что штаммы *B. pseudoanthracis* 4, 103 и *B. mesentericus* 5 были определены как *B. cereus* и *B. subtilis*, что соответствует современному названию этих видов в систематике рода *Bacillus*, представленной в последнем издании Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (рис. 3) [8].

Полученные сведения включены в базу данных, построенную на основе программного биоинформационного пакета BioNumerics v. 7.1. Показано, что из 46 признаков, использующихся в идентификационных картах семейства *Bacillaceae* и обрабатываемых на анализаторе Vitek 2, в качестве видовых маркеров наиболее оптимально подходят 6 субстратов (Метил- α -D-глюкопиранозид, Альфа-маннозидаза, D-маннит, D-меллецитоза, пируват, D-тагатоza), на основе ферментации которых можно с наибольшей вероятностью разделить все тестируемые штаммы рода *Bacillus* на 5 видов: *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. anthracis*.

Следующий этап нашей работы направлен на идентификацию исследуемых штаммов молекулярно-генетическим методом – риботипированием на автоматической станции RiboPrinter с набором, включающим фермент рестрикции *EcoRI*. В целом полученные результаты автоматической идентификации с помощью системы RiboPrinter оказались сопоставимы с таковой у Vitek 2, за исключением сведений по штамму *B. megaterium* 5, который идентифицирован по риботипу как *B. licheniformis*. Что касается штамма *B. anthracis* СТИ-1, использованного в качестве контрольного, то он идентифицирован системой RiboPrinter лишь до рода – *Bacillus spp.*, поскольку во встроенной базе данных отсутствуют профили риботипов возбудителя сибирской язвы (рис. 1).

Проведенный с помощью программного пакета Bionumerix 7.1 анализ рибопринтов позволил разделить все изучаемые штаммы на 5 обособленных кластеров, самый большой из которых представлен видом *B. cereus*. Бациллы вида *B. subtilis* разделились на две группы. Рибопринты двух штаммов оказались более близкими к группе *B. cereus*, а три остальных – к *B. licheniformis*, которые также представлены отдельным кластером. Следует отметить обособленное расположение на филогенетическом дереве штамма вида *B. megaterium*. В то же время не удалось разделить рибопринты *B. anthracis* СТИ-1 и *B. cereus* (рис. 1).

На последнем этапе исследуемые штаммы проанализировали с помощью метода масс-спектрометрии

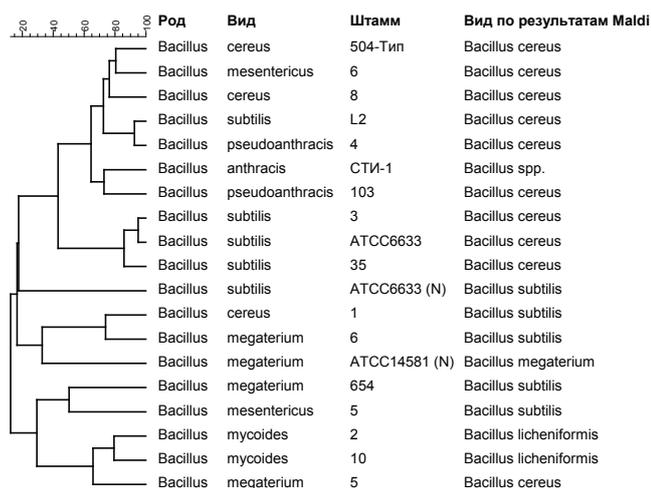


Рис. 2. Филогенетический анализ результатов масс-спектрометрии на MicroFlex MALDI Biotyper, проведенный в программе Bionumerix 7.1:

Род – родовая принадлежность микроорганизма по паспортным данным, *Вид* – видовая принадлежность микроорганизма по паспортным данным, *Штамм* – номер штамма по паспортным данным, *Вид по результатамaldi* – видовая принадлежность микроорганизма при автоматической идентификации его системой MicroFlex MALDI Biotyper

по технологии MALDI-TOF. Результаты оказались практически идентичны полученным ранее данным, за исключением того, что штамм *B. megaterium* 5 был определен как *B. cereus*. Также был определен только до рода вакцинный штамм *B. anthracis* СТИ-1, что, как и в случае с системой RiboPrinter, связано с отсутствием сведений о спектрах сибиреязвенных бактерий во встроенной базе данных (рис. 2).

С применением модуля Spectrum type пакета Bionumerix 7.1 проведен кластерный анализ полученных масс-спектров (рис. 2). На основании этого анализа все исследуемые штаммы можно разделить на шесть неравнозначных групп, наибольшую из которых представляли штаммы *B. cereus*. Как и в случае с кластерным анализом паттернов рибопринтов, масс-спектры не позволили четко выделить из группы *B. cereus* штамм *B. anthracis* СТИ-1. Также следует отметить, что штаммы вида *B. subtilis* не сформировали единого кластера, а разделились на группы, которые были близки либо изолятам *B. licheniformis*, либо *B. megaterium*. Штамм *B. subtilis* ATCC 6633 (N) оказался выделен в отдельную ветвь (рис. 2). В то же время определенный базой данных масс-спектрометра как *B. cereus*, штамм *B. megaterium* 5 на основе сопоставления спектров оказался близок к штаммам вида *B. licheniformis*.

Все результаты, полученные в ходе трех использованных подходов, проанализированы программой Bionumerix 7.1 с применением инструмента «Composite data set», позволяющего проводить композиционный анализ данных различных видов исследований. Сочетанный кластерный анализ результатов микробиологического анализатора Vitek 2, системы RiboPrinter и масс-спектрометра MicroFlex MALDI Biotyper позволил разделить все изученные штаммы на 5 кластеров (рис. 3). В наиболее крупный

из них вошли все штаммы, идентифицируемые как *B. cereus*. Штамм *B. anthracis* СТИ-1, который по сочетанным результатам трех видов анализа был выделен в отдельную группу, располагается в непосредственной близости от первого кластера, указывая тем самым на филогенетическое родство между возбудителем сибирской язвы и штаммами вида *B. cereus*. На отдельную ветвь филогенетического дерева вынесен оказавшийся единственным использованным в работе штамм вида *B. megaterium* ATCC14581 (N). Культуры вида *B. licheniformis* помещены в отдельный кластер, при этом штамм, числящийся по паспортным данным как *B. megaterium* 5, а по результатам идентификации на Vitek 2, RiboPrinter и MALDI Biotyper отнесенный каждым из этих приборов к видам *B. subtilis*, *B. licheniformis* и *B. cereus* соответственно, также был включен в эту группу, что указывает на большую вероятность принадлежности этого изолята к виду *B. licheniformis*. К последнему филогенетическому кластеру отнесены штаммы вида *B. subtilis*.

Таким образом, проведена номенклатурная ревизия коллекционных штаммов рода *Bacillus*, аутентичность которых вызывала сомнения. По ее результатам штамм *B. subtilis* ATCC 6633, полученный в 1977 г., будет исключен из коллекционного фонда как не соответствующий своим свойствам и заменен на культуру свежеполученного штамма *B. subtilis* ATCC 6633 (N). Что касается остальных микроорганизмов, использованных в работе, то было подтверждено или уточнено их таксономическое положение с внесением соответствующих изменений в паспорта штаммов.

Установлено, что каждый из использованных анализаторов хорошо зарекомендовал себя при проведении номенклатурной ревизии коллекционных штаммов рода *Bacillus*. При этом можно выделить бактериологический анализатор Vitek 2, который смог идентифицировать штамм *B. anthracis* СТИ-1 на основе его специфического взаимодействия с субстратом Альфа-маннозидаза. Дальнейшее использование системы RiboPrinter также оправдано высокой точностью и полной автоматизацией проводимого анализа, при этом для исключения ошибок в идентификации близкородственных организмов, как в случае сибиреязвенного микроба и *B. cereus*, необходимы дополнительные исследования, направленные на подбор эндонуклеаз, позволяющих увеличить разрешающую способность этого метода. Также для проведения верификации таксономической принадлежности коллекционных штаммов весьма перспективным показал себя метод масс-спектрометрии по технологии MALDI-TOF.

Тем не менее, некоторые штаммы были идентифицированы различными методами по-разному, что указывает на необходимость включения в алгоритм установления аутентичности и таксономической принадлежности коллекционных штаммов при проведении их номенклатурной ревизии нескольких подходов с последующим комплексным анализом полученных данных.

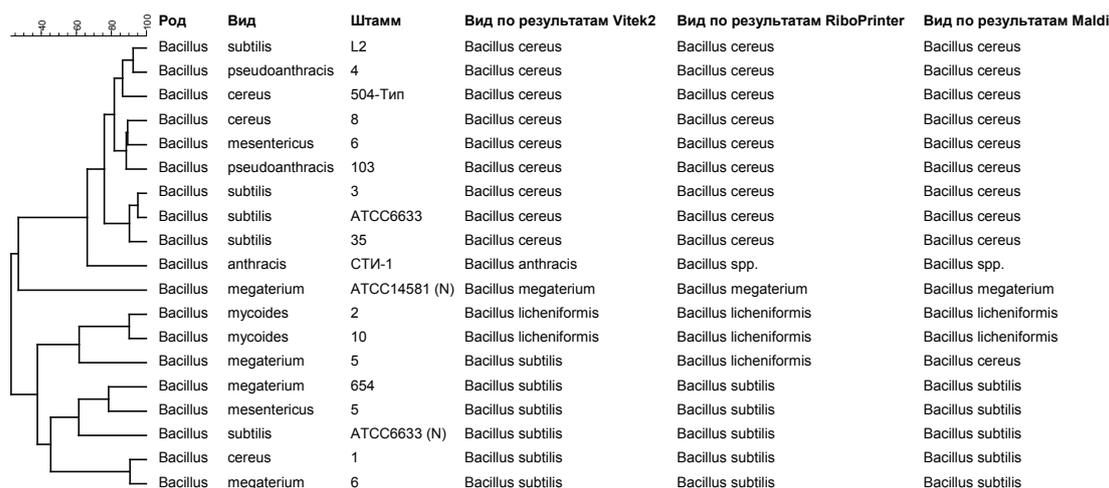


Рис. 3. Комплексный филогенетический анализ результатов фенотипического анализа на Vitek 2, риботипирования на автоматической станции RiboPrinter и масс-спектрометрии на MicroFlex MALDI Biotyper, проведенный в программе Bionumerix 7.1:

Род – родовая принадлежность микроорганизма по паспортным данным, Вид – видовая принадлежность микроорганизма по паспортным данным, Штамм – номер штамма по паспортным данным, Вид по результатам Vitek 2 – видовая принадлежность микроорганизма при автоматической идентификации его системой Vitek 2, Вид по результатам RiboPrinter – видовая принадлежность микроорганизма при автоматической идентификации его системой RiboPrinter, Вид по результатам Maldi – видовая принадлежность микроорганизма при автоматической идентификации его системой MicroFlex MALDI Biotyper

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильев Д.А., Калдыркаев А.И., Феоктистова Н.А., Адешкин А.В. Идентификация бактерий *Bacillus cereus* на основе их фенотипической характеристики. Ульяновск; 2013. 98 с.
2. Демидов Е.А., Старостин К.В., Попик В.М., Пельтек С.Е. Применение МАЛДИ времяпролетной масс-спектрометрии для идентификации микроорганизмов. *Вавиловский журн. генетики и селекции*. 2013; 17(4-1):758–64.
3. Идентификация микроорганизмов и определение их чувствительности к антибиотикам с применением автоматического микробиологического анализатора Vitek 2 Compact. MR 02.032-08. М.; 2008. 16 с.
4. Компания Дюпон в России. URL: <http://www.dupont.ru> (дата обращения 09.06.2015 г.).
5. Продукты пищевые. Метод определения *Bacillus cereus*. ГОСТ 10444.8-88. Стандартформ; 2010. С. 266–72.
6. Сафронова Л.А., Зеленая Л.Б., Ключко В.В., Авдеева Л.В., Рева О.Н., Подгорский В.С. Гено- и фенотипическая характеристика штаммов бацилл – компонентов эндоспорины. *Микробиол. журн.* 2012; 74:55–65.
7. Хоулт Дж., Криг Н., Снит П., Стейли Дж., Уилльямс С., редакторы. Определитель бактерий Берджи. Девятое издание. М.: Мир; 1997. Т. 2. 368 с.
8. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 3: The Firmicutes. 2nd edition. Springer-Verlag New York; 2009. P. 19–128.
9. Cherkaoui A., Hibbs J., Emonet S., Tangomo M., Girard M., Francois P., Schrenzel J. Comparison of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine identification of bacteria to the species level. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(4):1169–75. DOI: 10.1128/JCM.01881-09.
10. Smith D. Culture Collections. *Microbiology.* 2012; 79:73–118. DOI: 10.1016/B978-0-12-394318-7.00004-8.
11. Skerman V.B.D., McGowan V., Sneath P.H.A. Approved Lists of Bacterial Names (Amended). Washington (DC); 1989. 420 p.
12. van Veen S.Q., Claas E.C.J., Kuijper E.J. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(3):900–7. DOI: 10.1128/JCM.02071-09.

References

1. Vasil'ev D.A., Kaldyrkaev A.I., Feoktistova N.A., Adeshkin A.V. [Identification of Bacteria *Bacillus cereus* based on Phenotypic Characterization]. Ульяновск; 2013. 98 p.
2. Demidov E.A., Starostin K.V., Popik V.M., Pel'tek S.E. [Application of MALDI-TOF mass-spectrometry for identification of microorganisms]. *Vavilovsky Zh. Genet. Selekt.* 2013; 17(4-1):758–64.
3. [Identification of Microorganisms and Specification of their Sensitivity to Antibiotics. Using Automated Microbiological Analyzer Vitek 2 Compact]. MR 02.032-08. М.; 2008. 16 p.
4. [E.I. du Pont de Nemours and Company in Russia]. (Cited 09 Jun 2015). Available from: <http://www.dupont.ru>
5. [Food Stuffs. Method of *Bacillus cereus* Identification]. National Standard 10444.8-88. Standartform; 2010. P. 266–72.
6. Safronova L.A., Zelenaya L.B., Klochko V.V., Avdeeva L.V., Reva O.N., Podgorsky V.S. [Geno- and Phenotypic characteristics of bacillus strains – endospore components]. *Mikrobiol. Zh.* 2012; 74:55–65.
7. Hoult G., Krieg N.R., Snit P., Staley J.T., Williams S., editors. [Bergey's Manual of Systematic Bacteriology]. 9th edition. М.: "Mir"; 1997. Vol. 2. 368 p.
8. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 3: The Firmicutes. 2nd edition. Springer-Verlag New York; 2009. P. 19–128.
9. Cherkaoui A., Hibbs J., Emonet S., Tangomo M., Girard M., Francois P., Schrenzel J. Comparison of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine identification of bacteria to the species level. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(4):1169–75. DOI: 10.1128/JCM.01881-09.
10. Smith D. Culture Collections. *Microbiology.* 2012; 79:73–118. DOI: 10.1016/B978-0-12-394318-7.00004-8.
11. Skerman V.B.D., McGowan V., Sneath P.H.A. Approved Lists of Bacterial Names (Amended). Washington (DC); 1989. 420 p.
12. van Veen S.Q., Claas E.C.J., Kuijper E.J. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(3):900–7. DOI: 10.1128/JCM.02071-09.

Authors:

Osin A.V., Chervyakova N.S., Portenko S.A., Abdrashitova A.S., Kuklev V.E. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Osin A.V., Червякова Н.С., Портенко С.А., Абдрашитова А.С., Куклев В.Е. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 23.06.15.