

лиоз), риккетсиозных (КПЛ) и вирусных инфекций (КГЛ, ЛЗН, КВЭ), в связи с чем, вопросы профилактики природно-очаговых инфекционных болезней и постоянного мониторинга их природных очагов в субъектах ЮФО, СКФО и КФО остаются по-прежнему актуальными. Учитывая эпидемиологическую обстановку в мире по некоторым арбовирусным инфекциям, а также наличие их переносчиков на территории ряда субъектов юга России, необходимо усилить эпизоотологический мониторинг возбудителей данных инфекций.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Василенко Н.Ф., Ермаков А.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Эпизоотологический мониторинг природно-очаговых трансмиссивных инфекций в регионе Кавказских Минеральных Вод Ставропольского края. Здоровье населения и среда обитания. 2014, 5 (254): 28-30.
2. Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Манин Е.А. Эпизоотологический мониторинг природно-очаговых инфекций в Южном, Северо-Кавказском и Крымском федеральных округах в 2014 г. Здоровье населения и среда обитания. 2016, 1 (274): 38-41.
3. Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Василенко Н.Ф., Манин Е.А., Прислегина Д.А., Дубянский В.М., Григорьев М.П. Эпидемиологическая обстановка по природно-очаговым инфекционным болезням в Южном, Северо-Кавказском и Крымском федеральных округах в 2015 г. Ставрополь, 2016.
4. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Шапошникова Л.И., Евстафьев И.Л., Товпи-нец Н.Н. и др. Эпизоотическая ситуация в Крымском федеральном округе по результатам обследования в 2014 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2015, 2: 33-36.
5. Попова А.Ю., Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Василенко Н.Ф., Шапошникова Л.И., Котенев Е.С. и др. Эпидемиологическая обстановка по природно-очаговым инфекци-ям в Крымском федеральном округе в 2014-2015 гг. Журн. микробиол. 2016, 2: 62-69.

*Поступила 28.06.16*

Контактная информация: Василенко Надежда Филипповна, д.б.н., проф., 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15, р.т. (8652) 26-03-83

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

*Н.С.Сердюк<sup>1</sup>, Ю.М.Евченко<sup>1</sup>, И.В.Кузнецова<sup>1</sup>, Е.Б.Жилченко<sup>1</sup>,  
Н.В.Жаринова<sup>1</sup>, О.А.Коняева<sup>1</sup>, В.М.Мезенцев<sup>1</sup>, А.С.Волынкина<sup>1</sup>,  
Е.С.Котенев<sup>1</sup>, М.Е.Платонов<sup>2</sup>, А.П.Анисимов<sup>2</sup>, А.Н.Куличенко<sup>1</sup>*

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО РОДСТВА ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* ИЗ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЧУМЫ КАВКАЗА МЕТОДОМ МУЛЬТИ-ЛОКУСНОГО VNTR-АНАЛИЗА**

<sup>1</sup>Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт, <sup>2</sup>Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск

*Цель.* Определение степени филогенетического родства штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на территориях природных очагов чумы Кавказа, с помощью VNTR-типирования по 25 локусам (MLVA25). *Материалы и методы.* В работе использовали 26 штаммов *Y. pestis* из российских природных очагов Кавказа. Для выполнения мультилокусного VNTR-анализа использовали 25 локусов tandemных повторов в геноме *Y. pestis* по схеме Le Fleche. Расшифровку нуклеотидных последовательностей проводили на автоматическом секвенаторе ABI 3130 Genetic Analyser. Анализ приуроченности кластеров к определенным территориям, объектам и срокам изоляции штаммов осуществляли с использованием программы Arc GIS 10.1. *Результаты.* Сформированы группы MLVA25-типов разного уровня дискриминации: кластеры, группы и подгруппы. Кластеры сформированы штаммами различной таксономической принадлежности: основным и полевочьем подвидами *Y. pestis*. Подгруппы отображают принадлежность штаммов к определенным очагам, а

MLVA25-типы — степень генетического родства. *Заключение.* Полученные с помощью MLVA25-типов генетические «портреты» культур возбудителя чумы, циркулирующих на разных природноочаговых территориях, позволяют решать задачи как теоретического, так и практического характера: от трактовки процессов микроэволюции до поиска источника инфекции и путей ее распространения при возможных эпидемических осложнениях.

Журн. микробиол., 2017, № 1, С. 35—41

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, природные очаги чумы Кавказа, генотипирование, мультилокусный VNTR-анализ (MLVA25)

*N.S.Serdyuk*<sup>1</sup>, *Yu.M.Evchenko*<sup>1</sup>, *I.V.Kuznetsova*<sup>1</sup>, *E.B.Zhilchenko*<sup>1</sup>,  
*N.V.Zharinova*<sup>1</sup>, *O.A.Konyaeva*<sup>1</sup>, *V.M.Mezentsev*<sup>1</sup>, *A.S.Volynkina*<sup>1</sup>,  
*E.S.Kotenev*<sup>1</sup>, *M.E.Platonov*<sup>2</sup>, *A.P.Anisimov*<sup>2</sup>, *A.N.Kulichenko*<sup>1</sup>

## DETERMINATION OF PHYLOGENETIC RELATIONSHIP OF *YERSINIA PESTIS* STRAINS FROM NATURAL PLAGUE FOCI OF THE CAUCASUS BY MULTI-LOCUS VNTR-ANALYSIS

<sup>1</sup>Stavropol Research Institute for Plague Control, <sup>2</sup>State Scientific Centre of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia

*Aim.* Determination of the degree of phylogenetic relationship of *Yersinia pestis* strains isolated from the territories of natural foci of plague from the Caucasus using VNTR-typing by 25 loci (MLVA25). *Materials and methods.* 26 strains of *Y. pestis* from Russian natural foci of the Caucasus were used in the study. 25 loci of tandem repeats in *Y. pestis* genome by Le Fleche scheme were used for execution of multi-locus VNTR-analysis. Deciphering of nucleotide sequences was carried out in automatic sequencer ABI 3130 Genetic Analyser. Analysis of confinement of clusters to certain territories, objects and time of isolation of strains was carried out using Arc GIS 10.1 program. *Results.* Groups of MLVA25-types of various levels of discrimination were formed: clusters, groups and subgroups. Clusters were formed by strains of various taxonomic membership: main and subspecies of *Y. pestis*. Subgroups reflect membership of strains in certain foci, and MLVA25-types — the degree of genetic relationship. *Conclusion.* Genetic «portraits» of plague causative agents obtained using MLVA25-types circulating in various natural-focal territories allow to solve problems of both theoretical and practical character: from interpretation of microevolution processes to the search of the source of infection and ways of its spread during possible epidemic complications.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 1, P. 35—41

Key words: *Yersinia pestis*, natural plague foci of the Caucasus, genotyping, multi-locus VNTR-analysis (MLVA25)

## ВВЕДЕНИЕ

Чума — особо опасное инфекционное природно-очаговое заболевание, способное к эпидемическому распространению с охватом больших масс населения, и характеризуется крайне тяжелым течением с высокой летальностью. Периодическая активность природных очагов, возможность заноса возбудителей с эндемичных территорий на эпидемически благополучные оставляют эпидемическую обстановку достаточно сложной [9].

В соответствии с унифицированной классификацией очаговых территорий, основанной на особенностях проявлений чумы в различных ландшафтных зонах, на российской территории Кавказа выделены шесть природных очагов. *Y. pestis*, изолированные в этих очагах, подразделяется на два подвида:

основной *Yersinia subsp. pestis*, штаммы которого выделяют на территориях Центрально-Кавказского высокогорного (01), Дагестанского равнинно-предгорного (03), Прикаспийского песчаного (43), Терско-Сунженского низкогорного (02), Прикаспийского Северо-Западного степного (14) очагов, и кавказский *Yersinia subsp. caucasica* [4] (полевочий *Y. subsp. microti* [6]), изоляты которого выделяются в Восточно-Кавказском высокогорном очаге (39) (в круглых скобках — шифры природных очагов чумы).

К настоящему времени накоплен большой фактический материал о фенотипических и молекулярно-генетических свойствах *Y. pestis* из природных очагов разного типа. В основу фенотипических методов дифференциации возбудителя чумы положены способность ферментировать различные субстраты, питательные потребности и вирулентность для лабораторных животных. Хотя фенотипические методы и позволяют различать подвиды и биовары *Y. pestis*, с их помощью невозможно проводить типирование на уровне штаммов [1, 8].

Развитие методов современной фундаментальной генетики и молекулярной микробиологии позволяет перевести существующие классификации *Y. pestis* на качественно новый уровень, основанный на генетических свойствах возбудителя чумы [2, 7].

С помощью специальных компьютерных программ результаты генотипирования штаммов одного вида можно представить в виде филогенетического древа, причем кластеры у многих видов имеют четкую географическую локализацию [6].

Павлова А.И. и др. [5] показали, что в большинстве природных очагов сусликового и песчаночьего типов Российской Федерации и Монголии циркулируют штаммы с общим генотипом. Анисимовым А.П. и др. [8] были составлены молекулярные «портреты» штаммов *Y. pestis* из природных очагов Российской Федерации и различных регионов мира.

Проведенное нами ранее методом мультилокусного VNTR-анализа изучение штаммов из Центрально-Кавказского высокогорного природного очага позволило установить генетическую дивергенцию возбудителя чумы в процессе приспособления его паразитарной системы к условиям высокогорья, что может служить основанием для деления очага на отдельные участки природной очаговости, или на мезоочаги [2, 3]. Представляет интерес исследование степени генетического родства штаммов *Y. pestis* из природных очагов Северного Кавказа, сформировавшихся из древнего очага, занимавшего в среднем плейстоцене обширные пространства Южной Европы.

Цель работы — определить степень филогенетического родства штаммов *Y. pestis*, выделенных на территориях природных очагов чумы Кавказа, с помощью VNTR-типирования по 25 локусам (MLVA25).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали 26 штаммов *Y. pestis* из природных очагов Кавказа из коллекции Ставропольского противочумного института. Сведения о генотипах пяти штаммов из Терско-Сунженского низкогорного и Прикаспийского Северо-Западного степного очагов были взяты из базы данных Государственного НИЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболенск). Сведения о времени и местах выделения штаммов представлены в табл.

Геномную ДНК выделяли в соответствии с методическими указаниями МУ 1.3.1794-03 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР». Для выполнения мультилокусного VNTR-анализа использовали 25 локусов тандем-

## Характеристика штаммов *Y. pestis* из разных природных очагов

Природный очаг чумы (шифр)	№ штамма	Объект выделения	Год и место выделения
01	C-777, C-816	Горный суслик, блохи ( <i>C.tesquorum</i> )	2001, 2007, КБР
	C-771, C-775, C-803, C-806	Горный суслик, блохи ( <i>C.tesquorum</i> )	2000, 2001, 2004, 2004, КЧР
03	C-742, C-747, C-749	Блохи ( <i>N.setosa</i> )	1997, 1999, 1999, РД
43	C-768, C-770, C-790	Блохи ( <i>N.setosa</i> , <i>C.tesquorum</i> ), домовая мышь	2001, 2001, 2003, РД
39	C-739, C-825, C-823, C-824, C-707, C-831, C-744, C-371, C-700	Блохи ( <i>M.turbidus</i> , <i>F.elata</i> , <i>C.caspicus</i> , <i>C.intermedius</i> ), серый хомячок	1978, 1995, 1996, 1997, 1998, 2010, 2013, РД
02	C-277, C-278, C-283	Малый суслик	1970, ЧР
14	M-65 (98), M-421 (6275)	Тамарисковая песчанка	1925, 1938, Астраханская обл.

Примечание. Наименование природного очага см. во «Введении». КЧР — Карачаево-Черкесская Республика, КБР — Кабардино-Балкарская Республика, РД — Республика Дагестан, ЧР — Чеченская Республика.

ных повторов в геноме *Y. pestis* по схеме Le Fleche. Размер ампликонов для MLVA-локусов определяли после горизонтального электрофореза в 3% агарозном геле с помощью маркера молекулярных масс (20 bd).

Расшифровку нуклеотидных последовательностей проводили на автоматическом секвенаторе ABI 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems, США) с набором реагентов Big Dye Terminator Kit v.3.1.

На основании метода UPGMA с помощью компьютерной программы START 2 была построена дендрограмма, отображающая степень филогенетического родства изолятов различных MLVA25-типов.

Анализ приуроченности кластеров к определенным территориям, объектам и срокам изоляции штаммов проводили с использованием программы Arc GIS 10.1.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами была проанализирована дендрограмма, отображающая степень филогенетического родства MLVA25-типов штаммов *Y. pestis*, изолированных в российских очагах Кавказа. Исследованные штаммы возбудителя чумы были подразделены на 21 MLVA25-типа (рис.).

Изученные изоляты делятся на два крупных кластера А и В. Кластер А сформирован штаммами из Восточно-Кавказского высокогорного очага, которые относятся к кавказскому подвиду *Y. pestis* subsp. *caucasica* (*Y. pestis* subsp. *microti*). Кластер В состоит из штаммов *Y. pestis* основного подвида, изолированных в очагах Северо-Кавказского и Южного федеральных округов.

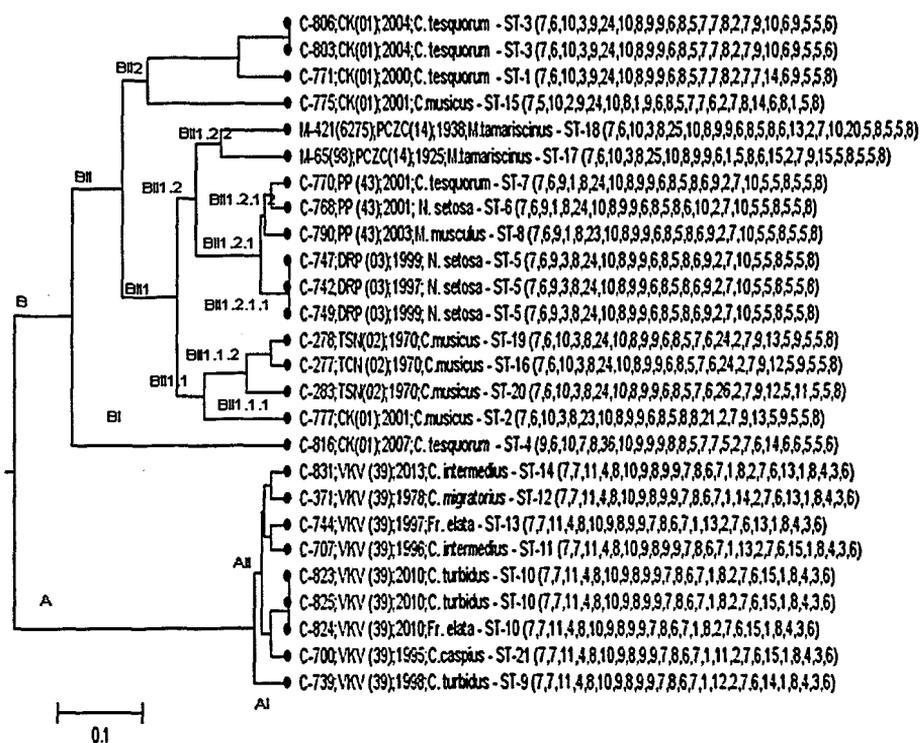
Кластер А образован двумя ветвями. Первая ветвь А1 представлена изолятом С-739, выделенным в Кулинском районе недалеко от села Хосрех в 1998 г.

от блох (*M. turbidus*), добытых из гнезд обыкновенной полевки. Вторая ветвь АII представлена восемью штаммами, образующими четыре подгруппы, изолированными в Кулинском и Агульском районах от разных носителей и их блох в течение 1995 — 2013 гг. Обращает на себя внимание MLVA25-тип, который состоит из трех штаммов С-823, С-824 и С-825, выделенных от блох разных видов на территории Кулинского района в 2010 г., что свидетельствует о циркуляции на этой территории в 2010 г. генетически однотипных штаммов.

Кластер В включает штаммы основного подвида *Y. pestis* subsp. *pestis* из Центрально-Кавказского высокогорного, Дагестанского равнинно-предгорного, Прикаспийского песчаного, Терско-Сунженского низкогорного и Прикаспийского Северо-Западного степного природных очагов. Данный кластер образован двумя группами VI и VII.

Ветви VI, VII1 и VII2 формируют группу типичных штаммов основного подвида из очагов сусликового типа: восточной части Центрально-Кавказского высокогорного и Терско-Сунженского низкогорного.

Следующая группа организована ветвями VII1.2.1.1, VII1.2.1.2 и VII1.2.2. Это штаммы из Дагестанского равнинно-предгорного, Прикаспийского песчаного очагов и Прикаспийского Северо-Западного степного очага. В данных очагах носителями чумы являются как малые суслики, так и песчанки. Каждый из указанных очагов формирует в пределах группы отдельную подгруппу. Обращает на себя внимание, что штаммы из Дагестанского равнинно-предгорного очага относятся к одному MLVA25-типу. Они выделены от блох (*N. setosa*), добытых из входов нор и очеса малого суслика, собранных в 1997



Дендрогрмма MLVA25-типов штаммов *Y. pestis*, выделенных из очагов Кавказа (описание в тексте).

и 1998 гг. в Бабаюртовском районе недалеко от села Герменчик Республики Дагестан.

Отдельная подгруппа ВП1.2.2 представлена штаммами, изолированными в 1925 и 1938 гг. в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге на территории Астраханской области, т.е. в период предшествующий массовому истреблению малых сусликов и выделению из состава этого очага в качестве самостоятельного Прикаспийского песчаного природного очага чумы.

Заключительная группа в дендрограмме, образованная ветвью ВП2, составлена штаммами из западной части Центрально-Кавказского высокогорного природного очага. Эта ветвь далеко отстоит от ветвей штаммов С-777 и С-816 (В1 и ВП1.1.1) из восточной части очага, что указывает на их значительные генетические различия, что является одним из свидетельств об эволюционной изменчивости паразитарной системы по мере продвижения носителей из зоны степей в высокогорные ландшафты. В этой группе отмечается еще один общий MLVA25-тип для двух штаммов С-806 и С-803 из западной части этого очага, изолированных в 2004 г.

Таким образом, в результате анализа филогенетического древа, построенного на основании результатов генотипирования 26 штаммов *Y. pestis* из шести природных очагов Кавказа, сформированы группы MLVA25-типов разного уровня дискриминации: кластеры, ветви, группы и подгруппы. Кластеры сформированы штаммами различной таксономической принадлежности: основным и полевочьим подвидами *Y. pestis*.

Кластер основного подвида состоит из групп и подгрупп. Группы объединяют штаммы очагов разных типов: сусликового, полевочьего и песчаночьего типов. Подгруппы составлены изолятами из отдельных очагов. Принадлежность штаммов к одному MLVA25-типу является свидетельством их генетического родства, как правило, они характеризуются общими участками и временем изоляции. Приведенная кластеризация свидетельствует о приуроченности сформированных на дендрограмме групп MLVA25-типов к определенным территориям.

Три очага — Прикаспийский Северо-Западный степной, Прикаспийский песчаный и Дагестанский равнинно-предгорный расположены в зоне степей и полупустынь Восточно-Европейской равнины, южной части Северо-Дагестанской низменности и предгорий Восточного Кавказа. Они составляют обширную и сплошную природноочаговую территорию, которая в историческом аспекте является реликтом древнего очага, занимавшего в среднем плейстоцене пространство Южной Европы. В 80-х годах прошлого столетия от Прикаспийского Северо-Западного очага отделен Прикаспийский песчаный очаг на том основании, что в результате профилактических противочумных работ численность малого суслика была резко снижена и основное эпизоотологическое значение приобрели песчанки. Южная оконечность природноочаговой территории представлена Дагестанским равнинно-предгорным очагом, который формировался в раннем голоцене в пределах ареала малого суслика. Все три очага являются полигостальными: носители чумы представлены малым сусликом, полуденными и гребенщикowymi песчанками, реже полевками и мышами разных видов.

К указанным очагам примыкает Восточно-Кавказский высокогорный природный очаг, который отделен от них географическим препятствием в виде лесистых высокогорий Восточного Кавказа. Популяции носителей существуют в виде мозаичных поселений обыкновенных и других видов полевок. Возбудитель чумы, циркулирующий здесь, имеет существенные генетические

отличия от возбудителя основного подвида, что послужило основанием выделения в отдельный кавказский подвид *Y. pestis*.

Терско-Сунженский низкогорный и Центрально-Кавказский высокогорный природные очаги эволюционировали отдельно от остальных, будучи изолированными естественными физическими преградами. Оба они являются очагами сусликового типа и моногостальными. Однако в Центрально-Кавказском очаге отмечается разнообразие генотипов возбудителя чумы. Здесь в результате проникновения сусликов в высокогорье структура паразитарной системы существенно изменилась, обусловив появление специфических для этих мест генотипов возбудителя чумы. Вместе с тем, в горной степи восточной части очага до настоящего времени сохранилась паразитарная система, присутствующая равнинным природным очагам чумы сусликового типа [3].

В целом, полученные с помощью MLVA25-типов генетические «портреты» культур возбудителя чумы, циркулирующих на разных природноочаговых территориях, позволяют решать задачи как теоретического, так и практического характера: от трактовки процессов микроэволюции до поиска источника инфекции и путей ее распространения при возможных эпидемических осложнениях.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарева О.С., Савченко С.С., Ткаченко Г.А., Абуева А.И., Муратова Ю.О., Антонов В.А. Современные подходы к генотипированию возбудителей особо опасных инфекций. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2014, 1: 34-43.
2. Евсеева В.В., Платонов М.Е., Говорунов И.Г., Ефременко Д.В., Кузнецова И.В., Дентовская С.В., Куличенко А.Н., Анисимов А.П. Сравнительный анализ MLVA25- и MLVA7-типирования по способности определять очаговую принадлежность штаммов *Yersinia pestis* на примере изолятов из Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2016, 1: 37-40.
3. Евченко, Ю.М., Ефременко Д.В., Кузнецова И.В., Мезенцев В.М., Белявцева Л.И., Платонов М.Е. и др. Изучение генетического разнообразия штаммов *Yersinia pestis* из Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы. Проблемы особо опасных инфекций. 2013, 4: 51-55.
4. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М., Медицина, 2004.
5. Павлова А.И., Ерошенко Г.А., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Краснов Я.М., Кутырев В.В. Анализ генетической изменчивости штаммов *Yersinia pestis* средневекового био-вара из природных очагов чумы России и Монголии. Проблемы особо опасных инфекций. 2012, 4: 49-53.
6. Платонов М.Е. Молекулярно-генетическое изучение разнообразия и микроэволюции *Yersinia pestis*. Автореф. дис. канд. биол. наук. Оболенск, 2010.
7. Платонов М.Е., Евсеева В.В., Светоч Т.Э., Ефременко Д.В., Кузнецова И.В., Дентовская С.В., Куличенко А.Н., Анисимов А.П. Филогеография полевоцых штаммов *Yersinia pestis* из природных очагов Кавказа и Закавказья. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2012, 3: 18-21.
8. Платонов М.Е., Евсеева В.В., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Молекулярное типирование *Yersinia pestis*. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2013, 2: 3-12.
9. Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Матросов А.Н., Немченко Л.С., Вержуцкий Д.Б., Малецкая О.В., Горшенко В.В., Попов В.П., Топорков В.П., Топорков А.В., Кутырев В.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2010 г. и прогноз на 2011 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2011, 1: 7-31.

*Поступила 10.08.16*

Контактная информация: Сердюк Наталия Сергеевна, к.б.н., 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15, р.т. (8652)26-48-19

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ СЕРОВАРОВ LEPTOSPIRA МЕТОДОМ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

<sup>1</sup>НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, С.-Петербург, <sup>2</sup>Первый С.-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П.Павлова

*Цель.* Попытка использования метода MALDI-TOF масс-спектрометрии для идентификации изолятов лептоспир на уровне сероваров. *Материалы и методы.* В исследование были включены 8 референсных штаммов *Leptospira* spp. и 11 штаммов лептоспир, выделенных от больных лептоспирозом и инфицированных животных в Северо-Западном регионе России. Масс-спектры всех исследуемых штаммов получали прямым профилированием клеточных экстрактов. Созданные главные спектральные профили (MSP) референсных штаммов использовали для идентификации изолятов. Оценку идентификации осуществляли путем вычисления коэффициентов совпадения отдельных спектров каждого изолята с MSP всех референсных штаммов. *Результаты.* Результаты идентификации показали схожесть спектров изолятов, относящихся к серогруппам *Pomona*, *Icterohaemorrhagiae* и *Canicola*, с MSP сапрофитного штамма *L. biflexa* Patoc I. Предполагается, что спектры исследуемых штаммов содержали в своем составе пики полисахаридных O-антигенов. При этом максимальные средние значения коэффициентов совпадения между спектрами изолятов и MSP патогенных референсных штаммов лептоспир правильно совпадали с типом серовара изолята. *Заключение.* Дальнейшие расширенные исследования могут быть положены в основу разработки быстрого и простого метода типирования возбудителей лептоспироза на уровне сероваров с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии.

Журн. микробиол., 2017, № 1, С. 42—49

Ключевые слова: *Leptospira* spp., серотипирование, серовары, MALDI-TOF масс-спектрометрия

Е.В.Зуева<sup>1</sup>, Н.А.Стоянова<sup>1</sup>, Н.К.Токаревич<sup>1</sup>, Арег А.Тотолян<sup>1,2</sup>

## IDENTIFICATION OF LEPTOSPIRA SEROVARS BY MALDI-TOF MASS-SPECTROMETRY

<sup>1</sup>Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, <sup>2</sup>Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Russia

*Aim.* An attempt to use MALDI-TOF mass-spectrometry method for identification of leptospiral isolates on the serovar level. *Materials and methods.* 8 reference *Leptospira* spp. and 11 leptospira strains isolated from leptospiral patients and infected animals in the North-Western region of Russia were included into the study. Mass-spectra of all the studied strains were obtained by direct profiling of cell extracts. The created main spectral profiles (MSP) of reference strains were used for identification of isolates. Evaluation of identification was carried out by calculating coefficients of matching rate of separate spectra of each isolate with MSP of all the reference strains. *Results.* Results of identification have shown the similarity of spectra of isolates belonging to *Pomona*, *Icterohaemorrhagiae* and *Canicola* serogroups, with MSP of saprophyte strain *L. biflexa* Patoc I. It is assumed that spectra of the studied strains contained peaks of polysaccharide O-antigens. Wherein maximum mean values of matching rate coefficients between spectra of isolates and MSP of pathogenic reference strains of leptospira correctly matched serovar type of the isolate. *Conclusion.* Further extended studies may form the base of development of a simple and rapid method of typing of leptospirosis causative agents on the level of serovars using MALDI-TOF mass-spectrometry.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 1, P. 42—49