



Асланова М.М.<sup>1</sup>, Ракитина Д.В.<sup>1</sup>, Мания Т.Р.<sup>1</sup>, Абрамов И.А.<sup>1</sup>, Сергиев В.П.<sup>2</sup>

## MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ возбудителей паразитарных болезней: современное состояние и перспективы

<sup>1</sup>ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства, 119121, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», 119991, Москва, Россия

**Введение.** Рассматриваются общие вопросы методологии и технологии в лабораторной диагностике паразитарных инфекций: MALDI-ToF MS-анализа (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry; матрично-активированная лазерная десорбционно-ионизационная времяпролётная масс-спектрометрия), а также ряд частных вопросов, касающихся актуальности и своевременного применения данной высокоспецифичной технологии в идентификации и типировании возбудителей паразитарных болезней. Важной и практически нерешённой проблемой в паразитологии является качественная, высокоэффективная, высокочувствительная лабораторная диагностика паразитозов. **Цель исследования** — анализ и оценка современного состояния и перспектив дальнейшего применения метода MALDI-TOF MS для идентификации и выделения из различных проб/объектов возбудителей паразитарных болезней.

**Материалы и методы.** Данные федеральной статистики об инфекционной и паразитарной заболеваемости, собственные экспериментальные исследования, проанализированные литературные данные зарубежных и российских авторов.

**Результаты.** Устойчивый спад выявляемости случаев паразитарных инвазий связан с отсутствием высокоэффективных и чувствительных методов диагностики.

**Ограничения исследования.** В процессе изучения эффективности применения метода MALDI-TOF MS в паразитологических лабораториях (подразделениях) анализировали собственные экспериментальные данные (пробы с искусственным внесением паразитарных патогенов) и проанализированные данные по основным циркулирующим на территории Российской Федерации паразитарным нозологиям за три года (2017–2019 гг.), которые отражены в государственных докладах Роспотребнадзора, что представляет собой достаточно референтную выборку.

**Заключение.** Перспективными представляются исследования по сравнению результатов масс-спектрометрического типирования и традиционных методов диагностики, необходимые для уточнения возможностей метода и определения его места в лабораторной диагностике инфекций, вызываемых паразитарными патогенами.

**Ключевые слова:** MALDI масс-спектрометрия; MALDI-TOF MS-идентификация; паразитарный патоген; паразитарные инфекции; пробоподготовка образцов; высокоспецифичная диагностика; гельминтозы и протозоозы

**Соблюдение этических стандартов:** заключение комитета по биомедицинской этике не требуется, так как авторы брали модельные образцы и вносили в них искусственно патогены. Все работы проводили непосредственно в лаборатории без использования материала, полученного от людей и животных.

**Для цитирования:** Асланова М.М., Ракитина Д.В., Мания Т.Р., Абрамов И.А., Сергиев В.П. MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ возбудителей паразитарных болезней: современное состояние и перспективы. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(5): 583–588. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-5-583-588>

**Для корреспонденции:** Мания Тамари Резоевна, науч. сотр. лаб. микробиологии и паразитологии ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва. E-mail: TManiya@csp.mz.ru

**Участие авторов:** Асланова М.М. — концепция и дизайн исследования, статистическая обработка, написание текста, редактирование; Ракитина Д.В. — концепция и дизайн исследования, статистическая обработка; Абрамов И.А. — сбор и обработка материала; Мания Т.Р. — сбор и обработка материала, статистическая обработка; Сергиев В.П. — концепция и дизайн исследования. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 01.03.2022 / Принята к печати: 12.04.2022 / Опубликовано: 31.05.2022

Mariya M. Aslanova<sup>1</sup>, Darya V. Rakitina<sup>1</sup>, Tamari R. Maniya<sup>1</sup>, Ivan A. Abramov<sup>1</sup>, Vladimir P. Sergiev<sup>2</sup>.

## MALDI-TOF mass spectrometric analysis for identification of parasitic disease causes: current status and prospects

<sup>1</sup>Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation;

<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, 119991, Russian Federation

**Introduction.** The general issues of methodology, approaches and technologies in laboratory diagnostics of parasitic infections include MALDI-ToF MS-analysis (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry; matrix-activated laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry), as well as a number of specific issues related to the relevance and timely application of this highly specific technologies in identification and typing of pathogens of parasitic diseases. An important and practically unsolved problem in parasitology is high-quality, highly effective, highly sensitive laboratory diagnostics of parasitoses.

**The object of this study** is to analyze and evaluate the current state and perspectives of MALDI-TOF as an instrument of identification of diverse parasites in various samples and objects.

**Materials and methods.** Federal statistics data on infectious and parasitic morbidity, own experimental studies, retrospectively analyzed literary data of foreign and Russian authors.

**Results.** A steady decline in the detection of cases of parasitic invasions is associated with the lack of highly effective and sensitive diagnostic methods.

**Limitations.** In the process of studying the effectiveness of the MALDI-TOF MS method in parasitological laboratories (departments), we analyzed our own experimental data (samples with artificial introduction of parasitic pathogens) and analyzed data on the main parasitic nosologies circulating in the territory of the Russian Federation for three years from 2017–2019, which are reflected in the state reports of the Federal Service for Supervision in Protection of the Rights of Consumer and Man Wellbeing, which is a fairly reference sample.

**Conclusions.** Studies comparing the results of mass spectrometric typing and traditional diagnostic methods are promising, which are necessary to clarify the capabilities of the method and determine its place in the laboratory diagnosis of infections caused by parasitic pathogens.

**Keywords:** MALDI mass-spectrometry; MALDI-TOF-MS identification; parasitic pathogen; parasitic infections; MALDI-TOF sample preparation; highly specific diagnostic test; helminths; protozoa

**Compliance with ethical standards.** The opinion of the biomedical ethics committee is not required, since the authors took model samples and artificially introduced pathogens into them. All work was carried out directly in the laboratory without the use of material obtained from humans and animals.

**For citation:** Aslanova M.M., Rakitina D.V., Maniya T.R., Abramov I.A., Sergiev V.P. MALDI-TOF mass spectrometric analysis for identification of parasitic disease causes: current status and prospects. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2022; 101(5): 583-588. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-5-583-588> (In Russian)

**For correspondence:** Tamari R. Maniya, scientific researcher of Microbiology and Parasitology laboratory of the Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, 119121, Russian Federation. E-mail: TManiya@cspmrz.ru

#### Information about authors:

Aslanova M.M., <https://orcid.org/0000-0002-5282-3856> Rakitina D.V., <https://orcid.org/0000-0003-3554-7690> Maniya T.R., <https://orcid.org/0000-0002-6295-661X>  
Abramov I.A., <https://orcid.org/0000-0002-7433-7728> Sergiev V.P., <https://orcid.org/0000-0002-1163-8419>

**Contribution:** Aslanova M.M. — research concept and design, statistical processing, text writing, editing. Rakitina D.V. — research concept and design, statistical processing, text writing, editing. Maniya T.R. — collection and processing of material. Abramov I.A. — collection and processing of material, statistical processing. Sergiev V.P. — research concept and design. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

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

**Acknowledgement.** The study had no sponsorship.

Received: March 1, 2022 / Accepted: April 12, 2022 / Published: May 31, 2022

## Введение

Необходимость применения высокоэффективных технологий в лабораторной диагностике паразитозов обусловлена значительными трудностями при выявлении возбудителей паразитарных болезней. Паразитарные инвазии человека чаще всего не имеют патогномоничных симптомов и могут протекать без выраженной клинической картины. Точность воспроизведения результатов исследования зависит от диагностики, а также от неукоснительного выполнения требований выбранной методики исследования, от правильного выбора материала, знания биологии предполагаемого паразита, морфологических характеристик, размеров личинок, онкосфер, яиц гельминтов, цист и ооцист простейших [1, 2].

В связи с низкой инфицирующей дозой паразитарных патогенов чрезвычайно важными являются диагностические методы определения их в объектах окружающей среды и клиническом материале, которые позволили бы получать достоверные результаты, отличные от нуля, и прогнозировать паразитарную заболеваемость.

Применение эффективных, высокотехнологичных методов диагностики паразитарных болезней и определение их возбудителей в окружающей среде и клиническом материале является одной из актуальных задач практического здравоохранения.

Выделение паразитарного патогена из клинического материала и объектов окружающей среды на современном этапе развития лабораторной медицины возможно с применением иммунных, микроскопических, иммунохимических и высокотехнологических методов анализа, в том числе ПЦР, ИФА и комплекса цифровой и сканирующей автоматизированной микроскопии [2–4].

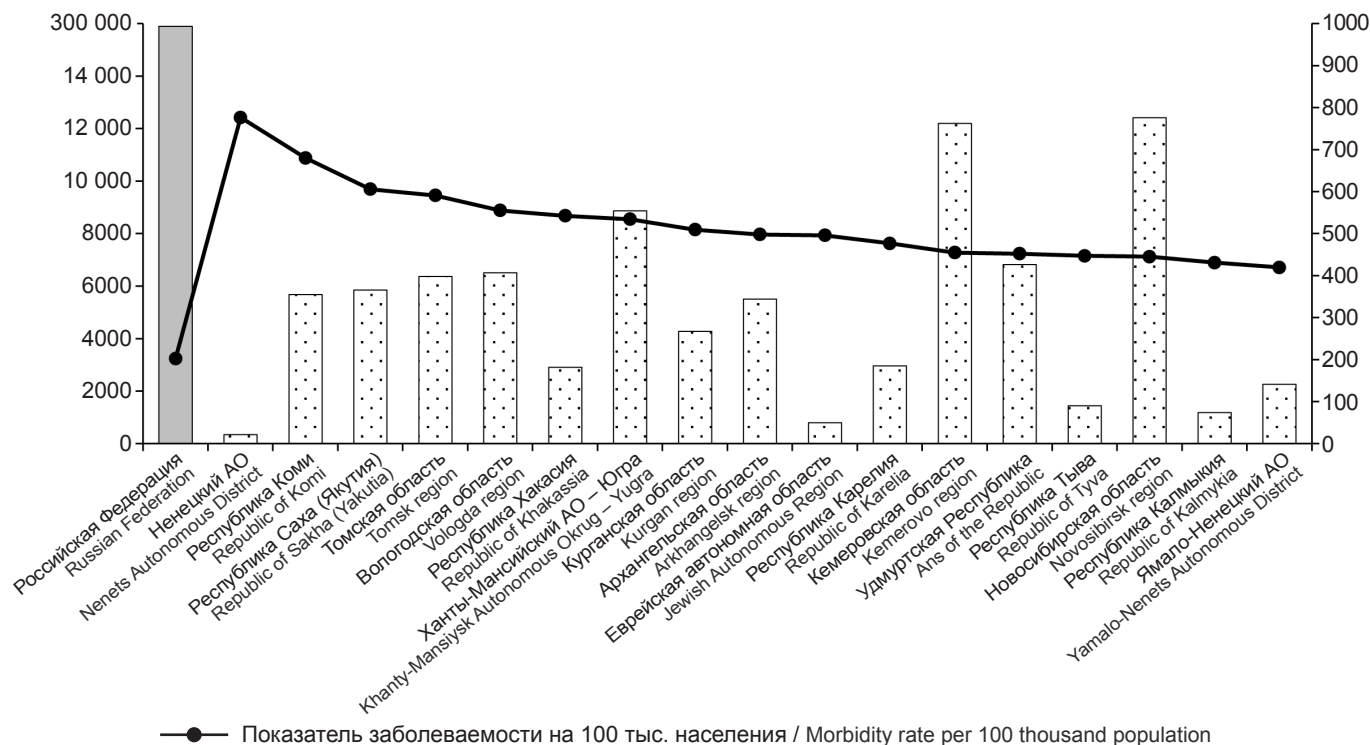
Разработано значительное количество нормативно-методических документов, регламентирующих порядок проведения клинико-диагностических и санитарно-паразитологических исследований. Детальная оценка существующей нормативно-методической базы выявила значительное отставание применяемых лабораторных технологий от современных требований из-за отсутствия стандартизированных процедур пробоподготовки, соответствующих международным критериям по воспроизводимости, точности и параллелизму исследований [2, 5, 6].

Для современных клинических лабораторий и различных испытательных лабораторных центров (ИЛЦ), выполняющих наряду с другими исследованиями (бактериологическими, микологическими, вирусологическими и т. д.) также и паразитологические, немаловажной является возможность оценить активность эпидемического процесса паразитарных болезней, что осуществимо при внедрении новых, современных технологий, оборудования, методик, диагностикумов, позволяющих определить состояние одного из ключевых элементов паразитарной подсистемы заболеваний — механизма передачи заразного начала [7–10].

Несмотря на ряд принятых в разные годы организационных и практических мероприятий, эпидемиологическая ситуация по паразитозам остаётся напряжённой. В нашей стране ежегодно регистрируется до 300 тыс. случаев паразитозов при снижении числа обследованных и неполном учёте выявленных больных [1, 2].

Увеличение среднероссийского показателя заболеваемости паразитарными болезнями в 2019 г. зарегистрировано в 38 субъектах Российской Федерации, из них на двух территориях (Кемеровская и Новосибирская области) — более чем в 3 раза; в шести регионах (Республика Саха (Якутия), Томская, Волгоградская области, Ханты-Мансийский АО, республики Коми и Удмуртская) — в 2,5–3 раза; в 9 субъектах (Ненецкий АО, Республика Хакасия, Курганская, Архангельская области, Еврейская АО, республики Карелия, Тыва, Калмыкия и Ямало-Ненецкий АО) — в 2 раза (рис. 1). Поэтому перспективными направлениями являются изучение и дальнейшая поэтапная разработка, апробация и испытание новых диагностических подходов к выявлению и идентификации основных видов паразитозов, циркулирующих на территории Российской Федерации, внедрение в работу ИЛЦ и клинических лабораторий современных методов исследований, которые бы отличались высокой специфичностью, воспроизводимостью и чувствительностью [7–9].

Идентификация микробиологических объектов современным диагностическим методом белкового фингерпринтинга, получаемого посредством матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI-TOF MS), является быстрым, точным и сравнительно недорогим методом диагностики, который уже широко применяется в клинической бактериологии и микологии [10].



**Рис. 1.** Субъекты Российской Федерации с наиболее высокими показателями суммарной заболеваемости паразитарными болезнями в 2019 г.  
**Fig. 1.** Subjects of the Russian Federation with the highest rates of total prevalence of parasitic diseases in 2019.

Выделенные на этапе исследования видоспецифичные белковые паттерны сравниваются с базой данных MALDI Biotyper (Bruker), и на основании этого определяется видовая принадлежность исследуемого микроорганизма. Данный вид диагностического исследования (MALDI-TOF MS) при применении его в бактериологии и микологии отличают простота выполнения, не требующая специфической подготовки исследователя на научно-образовательных базах, низкая себестоимость расходных материалов, высокая диагностическая чувствительность и видоспецифичность. Это делает метод весьма перспективным для скрининговых исследований большого объёма клинического материала и объектов окружающей среды [10, 12].

Времяпролётная MALDI-TOF MS является новой технологией в клинической диагностике, предоставляет исследователю возможность проводить идентификацию микроорганизмов, определять таксономическое положение неизвестных возбудителей. Этот метод включает прямой масс-спектрометрический анализ белковой фракции лизата микробной клетки («прямое белковое профилирование»), предметом которого служат преимущественно рибосомальные белки, являющиеся консервативными в пределах вида микроорганизма [11, 13].

Первые исследования потенциала MALDI-TOF MS для изучения белкового профиля нематод с неустановленным геномом были проведены в 2007 г. специалистами Федеративной Республики Бразилия. В дальнейшем этот метод применён с целью дифференциации белков протосколексов многокамерного эхинококка [11, 12].

В университете города г. Парма (Италия) проводились сравнительные исследования рутинных методов диагностики и MALDI-TOF MS при дифференциации *Entamoeba histolytica* от *Entamoeba dispar* для оценки эффективности методов [16, 17].

Национальным университетом имени Сунь Ятсена (Тайвань) в 2012 г. демонстрировался метод MALDI-TOF MS для дифференциации инфекционной и неинфекционной стадии

нематоды и была подтверждена его чувствительность [14].

Аналогичные исследования проведены в университете Сан-Паулу отделением паразитологии и показано, что матрично-ассистированная лазерная десорбционная ионизация / масс-спектрометрия времени полёта (MALDI-TOF MS) в будущем откроет новые возможности для обнаружения паразитов (трипаносом) на основе масс-спектрометрии в биожидкостях [15].

Несмотря на то что MALDI-TOF MS остаётся относительно новым для России способом диагностики и с точки зрения материальных затрат и обслуживания прибора не является легкодоступным и малобюджетным, он применяется на протяжении ряда лет для создания персональных релевантных баз данных спектров *Vibrio cholerae* разных биоваров, серологических групп и токсигенности, которые позволяют идентифицировать, дифференцировать и сравнивать микробные изоляты на основе анализа фингерпринтов рибосомальных белковых клеток холерных вибрионов [19].

Научным центром здоровья детей (Москва) в 2014 г. проводились сравнительные исследования двух способов идентификации микроорганизмов в крови детей с подозрением на инфекцию кровотока – рутинного микробиологического исследования и MALDI-TOF-масс-спектрометрии, причём последний показал свою высокую эффективность [13].

Методы протеомного анализа в паразитологических исследованиях на территории Российской Федерации для изучения белковых профилей нематод, актуальных для юга страны, впервые применили специалисты ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, выделяя белковые профили непосредственно из взрослых особей гельминтов рода нематод [11, 12].

Из вышеизложенного следует, что внедрение масс-спектрометрического анализа в практическую, рутинную работу паразитологических лабораторий федерального уровня даст возможность в будущем проводить высокорезультативную диагностику основных циркулирующих на территории нашей страны инфекций паразитарного генеза,

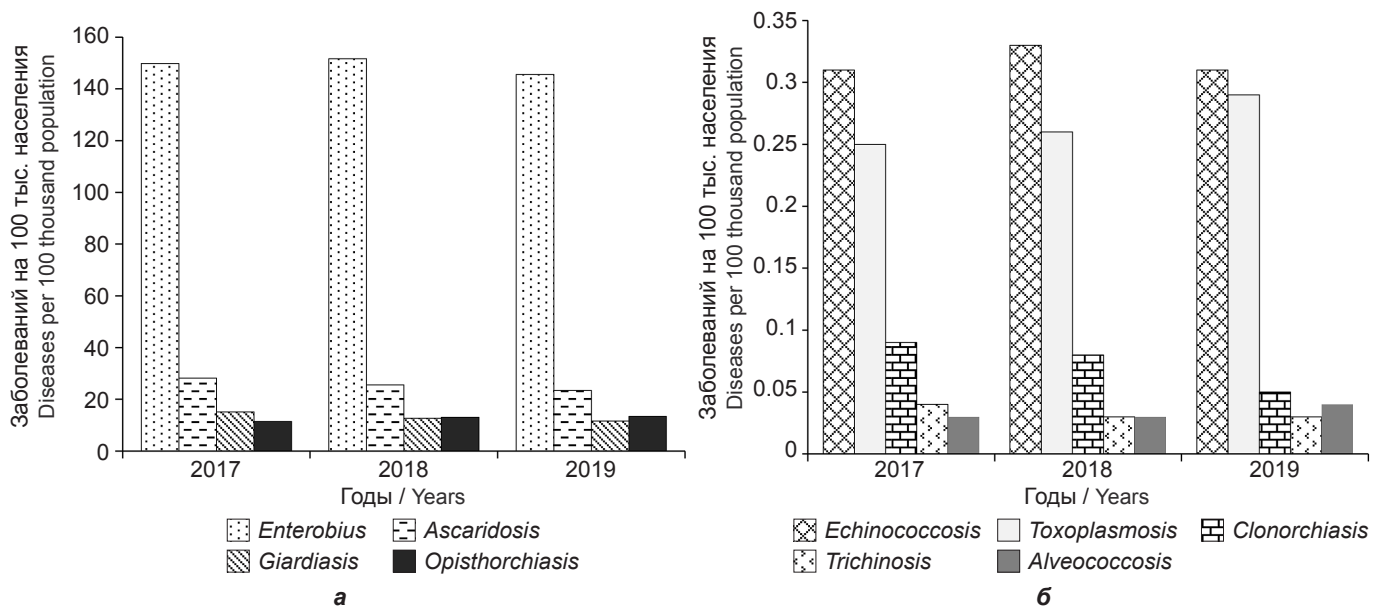


Рис. 2. Данные паразитарной заболеваемости с 2017 по 2019 г.

Fig. 2. Parasitic morbidity data from 2017 to 2019.

в том числе неустановленной этиологии и атипичных форм. При этом не потребуется для идентификации паразитарных объектов в различных образцах (пробах) методом масс-спектрометрического анализа применять дополнительные биохимические тесты и рутинную микроскопию. Предполагается, что в будущем у исследователя появится возможность провести анализ образца, отобранного в минимальном объёме, в течение 1–2 мин [11–13, 19].

Конструкция масс-спектрометров серии Microflex адаптирована для достижения максимальной производительности и надёжности:

- уникальный ионный источник с ИК-лазером для автоматической очистки;
- безмасляная вакуумная система;
- самодиагностика основных блоков;
- возможность менять конфигурацию прибора под определённые задачи;
- простота использования;
- компактный размер, позволяющий установить прибор на лабораторный стол.

База данных MALDI Biotyper содержит референс-библиотеку масс-спектров с данными нескольких тысяч микроорганизмов. Референс-библиотека постоянно пополняется при участии микробиологических лабораторий по всему миру [14, 18, 19].

*Цель исследований* – анализ и оценка современного состояния и перспектив дальнейшего применения метода MALDI-TOF MS для идентификации и выделения из различных проб и объектов возбудителей паразитарных болезней.

## Материалы и методы

Материалом для исследования послужили данные государственных докладов «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации» за 2017–2019 гг.; собственные экспериментальные исследования объектов окружающей среды и клинического материала с искусственным внесением некоторых видов яиц гельминтов, взрослых особей *Ascaris lumbricoides* и *Diphyllobothrium latum* и цист патогенных простейших, а так-

же ретроспективно проанализированные литературные данные зарубежных и российских авторов, отражающие опыт внедрения метода MALDI-TOF MS в практику паразитологических лабораторий.

Литературный поиск осуществляли по запросам «MALDI» или «mass-spectrometry», «proteome», «proteomic analysis» и т. д. в сочетаниях со следующими запросами: «parasite», «helminths», «nematodes», «trematodes», «protozoa» и латинскими названиями отдельных представителей гельминтозов и протозоозов, циркулирующих на территории Российской Федерации. Поиск проводили в базах данных научных публикаций Scopus, Web of Science, Pubmed и РИНЦ.

## Результаты

Проанализировав данные статистики паразитарной заболеваемости в Российской Федерации за три года (2017–2019 гг.), выявили, что паразитозы по-прежнему ежегодно продолжают занимать одно из ведущих мест в структуре инфекционной патологии, несмотря на некоторую тенденцию к снижению числа выявленных случаев на протяжении ряда лет (рис. 2) [1].

Биогельминтозы, такие как описторхоз, дифиллоботриоз, эхинококкоз, трихинеллез и др., наносят немалый ущерб здоровью населения. Течение болезни при данных нозологиях нередко сопровождается хронизацией процесса и необратимыми осложнениями, а в ряде случаев заканчивается летальными исходами.

Устойчивый спад выявляемости случаев паразитозов связан с отсутствием в крупных региональных лабораториях и референс-центрах Минздрава и Роспотребнадзора специалистов, владеющих современными, эффективными и высокочувствительными методами диагностики, практически повсеместным использованием устаревших, малоэффективных методов диагностики с низкой чувствительностью (Фюллеборна, Калантарян, Като и Миура), а также со слабой материально-технической базой паразитологических лабораторий (подразделений).

Собственные экспериментальные исследования проводили путём искусственного внесения в различные образ-

цы (сточная вода, почва, клинический материал (кал)) яиц гельминтов и цист патогенных простейших, в двух случаях брали взрослые особи гельминтов *Ascaris lumbricoides* и *Diphyllobothrium latum*.

Коллекционные препараты (яйца гельминтов, взрослые особи некоторых видов гельминтов, цисты патогенных простейших) получены из собственной коллекции, которая поддерживается и пополняется в лаборатории микробиологии и паразитологии ФГБУ «ЦСП» ФМБА России.

После искусственного внесения возбудителей гельминтозов и протозоозов в пробы почв и сточных вод их исследовали классическими, разрешёнными на территории Российской Федерации методами в соответствии с МУК 4.2.2661-10 «Методы санитарно-паразитологических исследований» (пп. 4.2, 4.7, 6.2, 6.3), а клинический материал (кал) – в соответствии с МУК 4.2.3145-13 «Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов» (п. 4.2.1.2), после чего приступали к исследованиям методом MALDI-TOF MS.

Яйца гельминтов, части взрослых особей и цисты патогенных простейших предварительно выделяли из проб и отмывали в физиологическом растворе, затем перед проведением исследования обрабатывали антибиотиками для удаления бактериальной микрофлоры (стрептомицин (100 мкг/мл) и пенициллин (100 ед./мл) при экспозиции 24 ч), после чего подвергали механическому разрушению стеклянными шариками в гомогенизаторе TissueLyser II (Qiagen). Затем проводили экстрагирование белков с помощью 70%-й муравьиной кислоты и ацетонитрила (по протоколу Bruker).

Первые пробные попытки провести исследования разнообразных по составу и физико-химическим свойствам образцов (объектов окружающей среды и фекалий) с паразитарными патогенами выявили ряд трудностей, с которыми столкнулись не только авторы при проведении своей экспериментальной работы, но и исследователи, публиковавшие свои данные в открытых источниках:

- отсутствие возможности проведения анализа сложносоставных образцов (проб) с паразитарными патогенами, для которых не имеется ни одного эталона в базе данных MALDI Biotyper (Bruker);
- сложные этапы пробоподготовки образцов (отмывки, замачивание в антибиотиках, механическое разрушение);
- отсутствие коммерческих систем MALDI-TOF MS с готовой базой данных и протоколов для проведения диагностического анализа паразитарных инвазий;
- сложная смесь биологических образцов продуцирует множество накладывающихся друг на друга белковых наборов (спектров), что не даёт возможности достоверно идентифицировать паразитологические объекты в пробе;
- отсутствие на территории Российской Федерации чистой паразитарной культуры (зарегистрированного эталонного образца) без различных примесей и взвесей, который мог бы выступать в качестве контрольного образца;
- в России не существует стандартизированных методов с чётким описанием этапов очистки патогена от различных примесей, описанных в нормативных документах о получении чистой паразитарной культуры;
- у ряда паразитарных объектов (яйца гельминтов, онкосферы тениид, цисты простейших, ооцисты криптоспоридий, личинки гельминтов) достаточно плотные, многоконтурные поверхностные оболочки и ткани;
- отсутствие данных о сроках и условиях хранения (температура, среда), при которых паразитарный объект будет жизнеспособен;
- наличие в циклах паразита нескольких стадий развития (взрослая особь, онкосферы, яйца, вегетативная или цистная формы) затрудняет и осложняет путь получения контрольного образца (эталона) в короткие сроки;

- следует учитывать, что паразит – многоклеточный организм, состоящий из клеток и тканей, различающихся по своим функциям, следовательно, и по белковому составу и профилю;
- многоклеточный организм может нести на себе бактериальные загрязнения, вносящие свой вклад в белковый профиль и приводящие к искажению результатов или ошибке.

Большим препятствием лабораторной видовой и внутриродовой дифференциации паразитарных патогенов является наличие общих биохимических свойств, морфологических, тинкториальных характеристик, а также наличие родоспецифических и перекрёстно реагирующих антигенов. Перечисленные проблемы существуют при лабораторной диагностике возбудителей паразитарных болезней на всех этапах проведения исследований, что затрудняет возможности проведения и внедрения в работу метода MALDI-TOF MS в кратчайшие сроки.

## Обсуждение

На протяжении последних десятилетий для научного медицинского сообщества актуально получение репрезентативных данных о загрязнении окружающей среды возбудителями паразитарных болезней и заболеваемости населения паразитами. Материалы федеральной статистической отчетности о санитарном состоянии объектов окружающей среды и заболеваемости не отражают в полной мере масштабов паразитарного загрязнения, поскольку эти данные получены в результате применения архаичных, малочувствительных, морально устаревших методов паразитологических исследований.

Соответственно существует острая необходимость разработки, апробации и последующего внедрения в практическую деятельность крупных испытательных лабораторных центров рабочих протоколов применения метода MALDI-TOF MS для диагностики паразитарных инвазий и создания единой референс-библиотеки паразитозов, постоянно циркулирующих на территории Российской Федерации. Это существенно повысит уровень выявляемости возбудителей паразитарных болезней и позволит приблизиться к решению одной из основных задач, обозначенных в отраслевых научно-исследовательских программах Роспотребнадзора и Минздрава, – минимизации рисков для здоровья населения России, а также даст возможность осуществлять контроль за распространённостью гельминтозов и протозоозов на уровне мировых стандартов лабораторных технологий по чувствительности, комплексности и интенсификации применяемых процедур.

## Заключение

1. Высокоперспективными являются исследования по сравнению результатов масс-спектрометрического типирования и традиционных методов диагностики (эфир-формалиновое/уксусное осаждение, ИФА, ИМС-ИФМ, ПЦР и др.) для уточнения возможностей метода MALDI-TOF MS и определения его места в лабораторной диагностике гельминтозов и протозоозов.
2. Необходимо описать единые алгоритмы (подходы) к идентификации полученных из различных образцов (почва, вода, клинический материал (кал) и др.) возбудителей различных паразитарных инфекций методом MALDI-TOF MS для стандартизации данного метода при проведении паразитологических исследований.
3. Следует разработать эффективные стандартные процедуры получения из клинического материала и объектов окружающей среды паразитарного патогена с последующими этапами его очистки и режимов хранения для последующего использования в качестве контрольного материала.

## Литература

(п.п. 10, 14–18 см. References)

1. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году». М.; 2019.
2. Асланова М.М., Кузнецова К.Ю., Морозов Е.Н. Эффективная лабораторная диагностика — основа мониторинга паразитарных болезней. *Здоровье населения и среда обитания*. 2016; (1): 34–7.
3. Сергиев В.П., Успенский А.В., Романенко Н.А., Горохов В.В., Супруга В.Г., Старкова Т.В. и др. Новые и возвращающиеся гельминтозы как потенциальный фактор социально-эпидемических осложнений в России. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2005; (4): 6–8.
4. Сергиев В.П., Малышев Н.А., Дрынов И.Д. Значение паразитарных болезней в патологии человека. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 1999; (4): 4–6.
5. Сергиев В.П., Малышев Н.А., Дрынов И.Д. Человек и паразиты: пример сочетанной эволюции. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2000; (11): 15–7.
6. Дзюба Г.Т., Макшанцева С.Н., Кандюрина В.В. Оценка состояния инфекционной и паразитарной заболеваемости во Владивостоке. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2009; (3): 68–70.
7. Лабинская А.С., Костюкова Н.Н. *Руководство по медицинской микробиологии. Опортунистические инфекции: клинико-эпидемиологические аспекты*. М.: Медицина; 632–3.
8. Романенко Н.А. Новые подходы к профилактике паразитарных болезней человека. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1993; (4): 51–4.
9. Кадочникова Г.В., Мерзлова Н.Б., Колесник Н.В. Новые возможности диагностики кишечных гельминтозов у детей. В кн.: *Труды III Международной научно-профилактической конференции «Эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика паразитарных заболеваний человека»*. Витебск; 2002: 164–7.
11. Нагорный С.А., Алешукина А.В., Алешукина И.С., Ермакова Л.А., Пшеничная Н.Ю. Перспектива применения протеомного анализа на основе MALDI-TOF MS для дифференциации нематод на примере изучения белковых профилей аскарид и дифилярий. *Паразитология*. 2019; 53(2): 136–44. <https://doi.org/10.1134/S0031184719020054>
12. Нагорный С.А., Алешукина А.В., Алешукина И.С., Ермакова Л.А. Использование метода MALDI-TOF MS для видовой дифференциации нематод (на примере изучения белковых профилей аскарид и дифилярий). *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями*. 2020; (21): 267–75. <https://doi.org/10.31016/978-5-9902341-5-4.2020.21.267-275>
13. Крыжановская О.А., Лазарева А.В., Пономаренко О.А., Катосова Л.К., Тепаев Р.Ф., Карасева О.В. и др. Масс-спектрометрическая идентификация возбудителей инфекций кровотока: опыт в педиатрической практике. *Российский педиатрический журнал*. 2014; 17(5): 4–9.
19. Телесманич Н.Р., Чайка И.А., Агафонова В.В., Сейна 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. В кн.: *Холера патогенные для человека вибрионы. Материалы Совещания специалистов Роспотребнадзора в г. Ростове-на-Дону*. Ростов-на-Дону: Дониздат; 2013: 143–8.

## References

1. State report «On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2018». Moscow; 2019. (in Russian)
2. Aslanova M.M., Kuznetsova K.Yu., Morozov E.N. Effective laboratory testing is a basis of monitoring parasitic diseases. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2016; (1): 34–7. (in Russian)
3. Sergiev V.P., Uspenskiy A.V., Romanenko N.A., Gorokhov V.V., Supryaga V.G., Starkova T.V., et al. New and returning helminthiasis as a potential factor in social epidemic complications in Russia. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*. 2005; (4): 6–8. (in Russian)
4. Sergiev V.P., Malyshev N.A., Drynov I.D. Importance of parasitic diseases in human pathology. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 1999; (4): 4–6. (in Russian)
5. Sergiev V.P., Malyshev N.A., Drynov I.D. Man and parasites: an example of combined evolution. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2000; (11): 15–7. (in Russian)
6. Dzyuba G.T., Makshantseva S.N., Kandyurina V.V. Assessment of the state of infectious and parasitic morbidity in Vladivostok. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka*. 2009; (3): 68–70. (in Russian)
7. Labinskaya A.S., Kostyukova N.N. *Guide to Medical Microbiology. Opportunistic Infections: Clinical and Epidemiological Aspects [Rukovodstvo po meditsinskoy mikrobiologii. Opportunisticheskie infektsii: kliniko-epidemiologicheskie aspekty]*. Moscow: Meditsina; 2013. (in Russian)
8. Romanenko N.A. New approaches to the prevention of human parasitic diseases. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*. 1993; (4): 51–4. (in Russian)
9. Kadochnikova G.V., Merzlova N.B., Kolesnik N.V. New possibilities for diagnosing intestinal helminthiasis in children. In: *Proceedings of the III International Scientific and Preventive Conference «Epidemiology, Diagnosis, Treatment and Prevention of Human Parasitic Diseases» [Trudy III Mezhdunarodnoy nauchno-profilakticheskoy konferentsii «Epidemiologiya, diagnostika, lechenie i profilaktika parazitarnykh zabolevaniy cheloveka»]*. Vitebsk; 2002: 164–7. (in Russian)
10. Bredtmann C.M., Krücken J., Murugaiyan J., Kuzmina T., von Samson-Himmelstjerna G. Nematode species identification—current status, challenges and future perspectives for Cyathostomins. *Front. Cell Infect. Microbiol*. 2017; 7: 283. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00283>
11. Nagornyy S.A., Aleshukina A.V., Aleshukina I.S., Ermakova L.A., Pshenichnaya N.Yu. Prospect of the use of proteomic analysis on the base of MALDI-TOF MS for differentiation of nematodes with an example of protein profiles of ascarides and difiellarians. *Parazitologiya*. 2019; 53(2): 136–44. <https://doi.org/10.1134/S0031184719020054> (in Russian)
12. Nagornyy S.A., Aleshukina A.V., Aleshukina I.S., Ermakova L.A. Use of MALDI-TOF MS method for species differentiation of nematodes (by example of studying protein profiles of ascarid and difiellaria). *Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami*. 2020; (21): 267–75. <https://doi.org/10.31016/978-5-9902341-5-4.2020.21.267-275> (in Russian)
13. Kryzhanovskaya O.A., Lazareva A.V., Ponomarenko O.A., Katosova L.K., Tepaev R.F., Karaseva O.V. Mass spectrometric identification of causative pathogens of bloodstream infections: experience in pediatric practice. *Rossiyskiy pediatricheskii zhurnal*. 2014; 17(5): 4–9. (in Russian)
14. Ahmad F., Gopal J., Wu H.F. Rapid and highly sensitive detection of single nematode via direct MALDI Mass Spectrometry. *Talanta*. 2012; 93: 182–5. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.02.009>
15. Avila C.C., Almeida F.G., Palmisano G. Direct identification of trypanosomatids by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (DIT MALDI-TOF MS). *J. Mass Spectrom*. 2016; 51(8): 549–57. <https://doi.org/10.1002/jms.3763>
16. Calderaro A., Buttrini M., Sara Montecchini S., Rossi S., Piccolo S., Arcangeletti M.C., et al. MALDI-TOF mass spectrometry applied as new diagnostic tool in parasitology and virology. In: *28<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Madrid; 2018.
17. Calderaro A., Piergianni M., Buttrini M., Montecchini S., Piccolo G., Gorrini C., et al. MALDI-TOF mass spectrometry for the detection and differentiation of Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar. *PLoS One*. 2015; 10(4): e0122448. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122448>
18. Calderaro A., Piergianni M., Montecchini S., Buttrini M., Piccolo G., Rossi S., et al. MALDI-TOF mass spectrometry as a potential tool for Trichomonas vaginalis identification. *BMC Infect. Dis*. 2016; 16: 261. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1594-z>
19. Telesmanich N.R., Chayka I.A., Agafonova V.V., Seina S.O., Chemisova O.S., Goncharenko E.V., et al. MALDI mass-spectrometric analysis in typing and intraspecific differentiation of V. cholerae based on the creation of a reference library of proteomic profiles. In: *Cholera and Pathogens Vibrios in Rostov-on-Don [Kholera patogennye dlya cheloveka vibriony. Materialy Soveshchaniya spetsialistov Rospotrebнадзора v g. Rostove-na-Donu]*. Rostov-na-Donu: Donizdat; 2013: 143–8. (in Russian)