

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Казюлина А.А., Панова А.Е., Винокуров А.С., Байбеков К.С., Байракова А.Л.,  
Самойлова А.Г., Васильева И.А.



EDN: XOYBGD

## ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ НЕТУБЕРКУЛЁЗНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ И ПОЛНОГЕНОМНОГО NGS СЕКВЕНИРОВАНИЯ: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний»  
Минздрава России, 127473, Москва, Россия

*Цель исследования – провести сравнительный анализ результатов видовой идентификации нетуберкулезных микобактерий, полученных разными методами – MALDI-TOF масс-спектрометрии и полногеномного секвенирования на платформе NGS (WGS).*

*Изоляты нетуберкулезных микобактерий (НТМ) выделены из образцов клинического материала, полученного от 94 пациентов, проходивших дифференциальную диагностику туберкулеза и других заболеваний органов дыхания в ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России. Культуральное исследование и пробоподготовка проводились согласно стандартным методикам. Видовую идентификацию изолятов НТМ проводили с помощью методов MALDI-TOF масс-спектрометрии, с помощью анализатора Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия) и WGS на приборе MGISEQ-200RS (BGI, Китай) согласно инструкциям производителей. Обработка данных секвенирования проводилась пакетом программ – basecalling, FastQC, FastP, Kraken2, BWA MEM, Samtools, Snippy, snpEff, Clustal Omega, iTOL.*

*Полное совпадение результатов видовой идентификации НТМ методами MALDI-TOF масс-спектрометрии и WGS было выявлено для 88 из 94 изолятов. Расхождение при видовой идентификации НТМ методом MALDI-TOF масс-спектрометрии в сравнении с методом секвенирования, как «золотого» стандарта низкая и составила 6,38%.*

**Ключевые слова:** Нетуберкулезные микобактерии; MALDI-TOF MS; полногеномное секвенирование; NGS; видовая идентификация

**Для цитирования:** Казюлина А.А., Панова А.Е., Винокуров А.С., Байбеков К.С., Байракова А.Л., Самойлова А.Г., Васильева И.А. Видовая идентификация нетуберкулезных микобактерий с использованием методов MALDI-TOF масс-спектрометрии и полногеномного NGS секвенирования: сравнительный анализ. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29; 4: 217-221.

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-4-217-221>

EDN: XOYBGD

**Для корреспонденции:** Казюлина Анастасия Александровна, и.о. заведующего научной лабораторией микробиологии, вирусологии, молекулярно-биологических методов исследования, научный сотрудник, 127473, г. Москва, ул. Достоевского д. 4 к.2, e-mail: nastellka@bk.ru

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело финансовой поддержки.

Поступила 28.10.2024

Принята к печати 07.12.2024

*Kazyulina A.A., Panova A.E., Vinokurov A.S., Baybekov K.S., Bayrakova A.L., Samoylova A.G., Vasilyeva I.A.*

## SPECIES IDENTIFICATION OF NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA USING MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY AND FULL-GENOME NGS SEQUENCING: A COMPARATIVE ANALYSIS

FSBI "National Medical Research Center for Phthisiopulmonology and Infectious Diseases" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127473, Moscow, Russia

*Comparatively analyze the results of species identification of nontuberculosis mycobacteria obtained by different methods - MALDI-TOF mass spectrometry and whole-genome sequencing on the NGS (WGS) platform.*

*Isolates of nontuberculosis mycobacteria (NTM) were isolated from samples of clinical material obtained from 94 patients undergoing differential diagnosis of tuberculosis and other respiratory diseases in FGBU "NMRC FPI" of the Ministry of Health of the Russian Federation. Culture and sample preparation were performed according to standard methods. Species identification of NTM isolates was performed by MALDI-TOF mass spectrometry, using Microflex LT (Bruker Daltonics, Germany) and WGS on MGISEQ-200RS (BGI, China) according to the manufacturer's instructions. Sequencing data processing was performed with a package of programs - basecalling, FastQC, FastP, Kraken2, BWA MEM, Samtools, Snippy, snpEff, Clustal Omega, iTOL.*

*Complete concordance of NTM species identification by MALDI-TOF mass spectrometry and WGS was found for 88 out of 94 isolates. The discrepancy in NTM species identification by MALDI-TOF mass spectrometry compared to sequencing as the "gold" standard is low and amounted to 6.38%*

**Key words:** Non-tuberculosis mycobacteria; MALDI-TOF MS; whole-genome sequencing, NGS; species identification

**For citation:** Kazyulina A.A., Panova A.E., Vinokurov A.S., Baybekov K.S., Bayrakova A.L., Samoylova A.G., Vasilyeva I.A. Species identification of nontuberculosis mycobacteria using maldi-tof mass spectrometry and full-genome NGS sequencing: a comparative analysis. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2024; 29; 4: 217-221 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-4-217-221>

EDN: XOYBGD

**For correspondence:** Anastasia A. Casulina, Acting Head of the Scientific Laboratory of Microbiology, Virology, Molecular and Biological Methods of Research, Researcher, 127473, Moscow, Dostoevskogo Str. 4 k.2, e-mail: nastellka@bk.ru

**Information about authors:**

Kazyulina A.A., <https://orcid.org/0000-0003-3116-0616>;

Panova A.E., <https://orcid.org/0000-0001-9380-8727>;

Vinokurov A.S., <https://orcid.org/0000-0001-6848-3609>;

Baybekov K.S., <https://orcid.org/0009-0006-8603-0287>;

Bayrakova A.L., <https://orcid.org/0000-0002-7040-7768>;

Samoylova A.G., <https://orcid.org/0000-0001-6596-9777>;

Vasilyeva I.A., <https://orcid.org/0000-0002-0637-7955>.

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

**Funding.** The study had no financial support.

Received 28.10.2024

Accepted 07.12.2024

**Введение.** Нетуберкулезные микобактерии (НТМ) широко распространены в окружающей среде и могут вызывать микобактериозы различных локализаций.

Микобактериозы часто маскируются под туберкулез по своим симптомам, но вместе с тем лечение больных туберкулезом и микобактериозом отличается, т.к. НТМ обладают природной резистентностью ко многим противотуберкулезным препаратам. Кроме этого, отличаются и схемы проведения лечения антимикробными препаратами для разных видов НТМ. Для правильного установления диагноза и назначения адекватного лечения при микобактериозах, при получении культуры НТМ в ходе лабораторного исследования, необходимо проведение видовой идентификации [1].

Видовая принадлежность НТМ устанавливается с помощью комплекса методов, включающих в себя культуральные, биохимические, хроматографические, в том числе иммунохроматографические, а также молекулярно-генетические (включая секвенирование) методы идентификации [2, 3]. Одним из наиболее быстрых и точных методов видовой идентификации микобактерий по литературным данным является метод матричной лазерной десорбционной ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF-MS) [4, 12]. Однако метод секвенирования является «золотым стандартом» при определении видовой принадлежности микроорганизмов, что отражено в современной классификация микроорганизмов LPSN [5], которая основана на универсальной таксономической системе бактерий – анализе нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК [6]. В связи с этим, особый интерес представляет проведение сравнительного анализа результатов 2-х методов видовой идентификации нетуберкулезных микобактерий – MALDI-TOF масс-спектрометрии и полногеномного секвенирования на платформе NGS (WGS).

**Цель исследования** – провести сравнительный анализ результатов методов видовой идентификации нетуберкулезных микобактерий – MALDI-TOF масс-спектрометрии и полногеномного секвенирования.

**Материалы и методы.** 94 изолята НТМ выделены из образцов клинического материала (мокрота, жидкость бронхоальвеолярного лаважа, операционный материал, кровь, моча, кал), полученного от 94 пациентов, проходивших дифференциальную диагностику

туберкулеза и других заболеваний органов дыхания в ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России.

*Культуральное исследование и пробоподготовка*

Предпосевную обработку, посев, микроскопическое исследование выделенных изолятов микобактерий, осуществляли классическими методами согласно стандартным методикам [7]. Посев осадка диагностического материала произведен в жидкую питательную среду Миддлбрука 7Н9 с последующей инкубацией в автоматизированной системе Bactec MIGIT 960 (Becton Dickinson, USA) и на плотную питательную среду Левенштейна-Йенсена. При появлении роста на жидкой питательной среде производили посев культур на чашки Петри с кровяным агаром. При обнаружении микобактерий выполняли иммунохроматографический метод выявления антигена МРТ64 с помощью экспресс-теста MGIT TBc Identification Test (Becton Dickinson, США), который позволяет дифференцировать *Mycobacterium tuberculosis complex* от других кислотоустойчивых бактерий. При получении отрицательного результата выявления антигена МРТ64 видовой принадлежность выделенных изолятов кислотоустойчивых бактерий определяли с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии на анализаторе Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия), согласно инструкции производителя.

Для проведения полногеномного секвенирования ДНК НТМ экстрагировали с помощью набора Qiagen DNeasy Blood&Tissue Extraction Kit (Qiagen, ФРГ). Полученную ДНК фрагментировали ультразвуком с помощью соникатора Covaris, а затем готовили библиотеки для секвенирования с помощью набора MGI Universal Library Prep Set (BGI, Китай). Промежуточные измерения концентраций дцДНК и оцДНК проводили с помощью флуориметра Qubit (ThermoFisher, США). Распределение образцов ДНК по длине фрагмента в библиотеках анализировали на приборе Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent, США). Секвенирование библиотек проводили на приборе MGISEQ-200RS (BGI, Китай).

*Обработка данных секвенирования*

Первичная обработка данных проводилась с помощью basecalling-программы производства BGI, входящей в пакет программ, поставляемых с секвенатором.

Оценка качества секвенирования определялась с помощью пакетов FastQC и FastP.

Классификация ридов к виду НТМ проводилась с помощью пакета KRAKEN2.

Деконтаминация и выравнивание на референсный геном производились с помощью пакетов BWA MEM и Samtools.

Подобраны параметры, оптимально подходящие для субвидовой дифференциации (seed\_size=23, k=21) и сформирована база данных референсных геномов, позволяющая разделять сиквенсы близкородственных видов [8].

Был осуществлён вызов вариантов (Snippy) (минимальное покрытие - 12, минимальная частота встречаемости – 90 % [9] и их аннотация (snpEff).

Для построения филогенетического дерева был использован метод множественного локального выравнивания с помощью пакетов Clustal Omega. Визуализацию дерева осуществляли с помощью онлайн инструмента iTOL.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью прикладной программы «Microsoft Excel».

**Результаты исследований.** Результаты видовой идентификации изолятов НТМ с помощью WGS представлены на филогенетическом дереве, построенном по гену 16s, рисунок 1. Во всех образцах количество квалифицированных ридов к одному виду составляет от 91,76-98,7%

Большинство изолятов НТМ, в нашей выборке были представлены видами, входящими в *Mycobacterium avium* complex (MAC): 90 из 94 (94,7 %) изолятов. Из 12 видов, относящихся к MAC, в нашем исследовании встречались только *Mycobacterium avium* (88 из 94, 93,6 % изолятов) и *Mycobacterium intracellulare* (2 из 94, 2,1 %). Кроме MAC идентифицированы изоляты входящие в *Mycobacterium kansasii* complex и *M. chelonae* – *M. abscessus* complex: по 2 из 94, (2,1 %) изолятов.

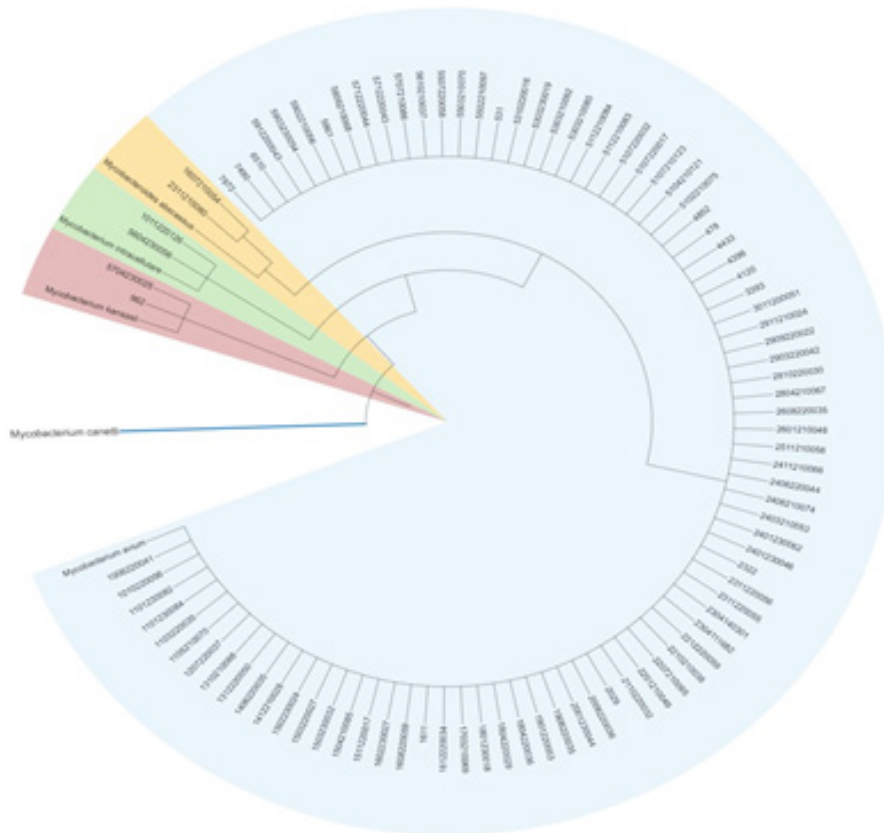


Рис. 1. Филогенетическое дерево НТМ, построенное по гену 16S рРНК, n=94

Примечание – Обозначения: красным цветом – *Mycobacterium kansasii* complex, желтым- *Mycobacteroides abscessus* complex, зеленым – *Mycobacterium intracellulare* и голубым – *Mycobacterium avium*. На вершинах дерева указаны лабораторные номера образцов.

Из 6 видов, входящих в *Mycobacterium kansasii* complex, в нашем исследовании выявлен только *Mycobacterium kansasii* (2 из 2 изолятов). Из 5 видов, входящих в *M. chelonae* – *M. abscessus* complex, выявлен только *Mycobacterium abscessus* (2 из 2 изолятов).

Идентификация методом WGS позволила определить подвиды *Mycobacterium avium* и подвиды *Mycobacterium abscessus*. Из 4 подвидов *M. avium* большинство было представлено подвидом *Mycobacte-*

*rium avium* subsp. *hominissuis* (87 из 88, 98,9 % изолятов), один изолят относится к подвиду *Mycobacterium avium* subsp. *avium* (1 из 88, 1,13 %). Из 3 подвидов *M. abscessus* был идентифицирован один подвид *M. abscessus* subsp. *abscessus* (2 из 2 изолятов)

Результаты видовой идентификации изолятов НТМ с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии и сравнительный анализ с результатами WGS представлен в таблице 1.



Результаты видовой идентификации НТМ методами MALDI-TOF MS и WGS, n=94

Результаты идентификации		Количество образцов	%
MALDI-TOF масс-спектрометрия	WGS		
<b>Идентичные результаты идентификации, n=88</b>			
<i>M. avium</i>	<i>M. avium subsp. hominissuis</i>	86	93,62
<i>M. avium</i>	<i>M. avium subsp. avium</i>	1	
<i>M. kansasii</i>	<i>M. kansasii</i>	1	
<b>Расходящиеся результаты идентификации, n=6</b>			
<i>M. lentiflavum</i>	<i>M. abscessus subsp. abscessus</i>	2	6,38
<i>M. avium</i>	<i>M. kansasii</i>	1	
<i>M. avium</i>	<i>M. intracellulare</i>	1	
<i>M. conspicuum</i>	<i>M. intracellulare</i>	1	
<i>M. murale/tokaiense</i>	<i>M. avium subsp. hominissuis</i>	1	

При сравнительном анализе результатов видовой идентификации изолятов НТМ, полученных методами MALDI-TOF масс-спектрометрии и WGS, полное совпадение было выявлено для 88 изолятов, что соответствует 93,6 %. Расхождения результатов идентификации по видам микобактерий было выявлено для 6 изолятов НТМ (6,38 %). По данным других исследовательских работ, расхождение в результатах идентификации НТМ методами MALDI-TOF масс-спектрометрии и секвенирования не превышает 10% [11; 12]. В нашем исследовании расхождения результатов идентификации видов НТМ были выявлены для двух изолятов идентифицированных методом MALDI-TOF масс-спектрометрии как *M. lentiflavum*, но по методу полногеномного секвенирования изоляты были идентифицированы как *M. abscessus subsp. abscessus*. Два изолята методом MALDI-TOF масс-спектрометрии определены как *M. avium*, но по методу полногеномного секвенирования – как *M. kansasii* и *M. intracellulare*. Также расхождения были выявлены для изолятов НТМ идентифицированных MALDI-TOF, как редко встречающиеся виды – *M. conspicuum* и *M. murale/tokaiense*, по методу секвенирования они являлись *M. intracellulare* и *M. avium subsp. hominissuis*, соответственно. Такого рода расхождения могут возникнуть в следствие особенностей строения микобактерий, а именно их клеточной стенки. Еще одной причиной может быть соответствие масс-спектров анализируемых изолятов сразу двум видоспецифичным профилям одного рода, или по причине атипичного масс-спектра, или из-за неудовлетворительного качества полученного масс-спектра.

В целом, хотя эти наблюдения и иллюстрируют ограничения MALDI-TOF MS, данный метод остается точным методом идентификации и/или скрининга патогенных микроорганизмов. А преимущества в скорости получения результата и простоты проведения анализа делают его незаменимым в клинико-лабораторной практике [12; 13]. Кроме того, специфичность метода довольно высока и составляет 93,6 % относительно полногеномного секвенирования.

**Заключение.** Метод полногеномного секвенирования позволил провести идентификацию не только на уровне вида НТМ, но и идентифицировать подвиды, которые могут иметь клиническое значение. Из 4 подвидов *M. avium* в нашем исследовании наиболее часто встречался подвид *Mycobacterium avium subsp.*

*hominissuis* (87 из 88, 98,9 % изолятов), один изолят относился к подвиду *Mycobacterium avium subsp. avium* (1 из 88, 1,13 %). Из 3 подвидов *M. abscessus* был идентифицирован один подвид *M. abscessus subsp. Abscessus* (2 из 2 изолятов). Расхождение при видовой идентификации НТМ методом MALDI-TOF масс-спектрометрии в сравнении с методом секвенирования, как «золотого» стандарта было низким и составило 6,38 %.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Лямин А.В., Жестков А.В., Исмагуллин Д.Д., Ковалев А.М.. Лабораторная диагностика микобактериозов. *Вестник современной клинической медицины*. 2017; 10; 1: 29-35. DOI 10.20969/VSKM.2017.10(1).29-35. EDN XWZECX
2. Ndanga MED, Abdul JBAAA, Edoa JR, Ibinda GARM, Adegbite BR, Mevyan RC, Biyogho CM, Mahoumbou J, Manguinga S, Roguet NM, Lell B, Kremsner PG, Alabi AS, Grobusch MP, Adegnika AA. Species identification and drug susceptibility testing of non-tuberculous mycobacteria by Line Probe Assay in Lambaréné, Gabon-a cross-sectional study. *BMC Infect Dis*. 2023; 3; 23(1): 651. doi: 10.1186/s12879-023-08617-x. PMID: 37789292; PMCID: PMC10548664.
3. Фазылов В.Х., Петров И.В., Петрова Л.В., Петрова Ф.С., Амирова Т.Х. Проблемы лабораторной диагностики и идентификации видов микобактерий. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2021; 10; 3: 118-126. DOI: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-3-118-126>
4. Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д., Жестков А.В., Ковалев А.М., Барышникова Л.А., Ненякин С.С. Сравнительный анализ методов идентификации нетуберкулезных микобактерий, выделенных из клинического материала. *Инфекция и иммунитет*. 2017; 7; 3: 285-291. doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-285-291
5. Современная таксономия и классификация бактерий. <https://www.slideshare.net/slideshow/modern-taxonomy-and-classification-of-bacteria-rus/203538186>
6. Shin J. I., Shin S. J., Shin M. K. Differential genotyping of *Mycobacterium avium* complex and its implications in clinical and environmental epidemiology. *Microorganisms*. 2020; 8; 1: 98.
7. Клинические рекомендации туберкулез у взрослых, 2024. [https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/16\\_3](https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/16_3)
8. Robinson KM, Hawkins AS, Santana-Cruz I, Adkins RS, Shetty AC, Nagaraj S, Sadzewicz L, Tallon LJ, Rasko DA, Fraser CM, Mahurkar A, Silva JC, Dunning Hotopp JC. 2017. Aligner optimization increases accuracy and decreases compute times in multi-species sequence data. *Microbial Genomics* 3
9. Hasan NA, Norton GJ, Virdi R, Epperson LE, Vang CK, Hellbusch B, Bai X, Chan ED, Strong M, Honda JR. Measurable genomic changes in *Mycobacterium avium subsp. Hominissuis* after long-term adaptation in *Acanthamoeba entolacteum* and reduced persistence in macrophages. *J Bacteriol*. 2021; 15; 203(6): e00257-20. Doi: 10.1128/JB.00257-20. Epub 2021 Jan 11. PMID: 33431432; PMCID: PMC8095452
10. Nakanaga K., Sekizuka T., Fukano H., Sakakibara Y., Takeuchi F.,

- Wada S. et al. Discrimination of Mycobacterium abscessus subsp. Massiliense from Mycobacterium abscessus subsp. Abscessus in clinical isolates by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(1): 251-259. Doi: 10.1128/JCM.01327-13.
11. Buchan B. W. Et al. Comparison of MALDI-TOF MS with HPLC and nucleic acid sequencing for the identification of Mycobacterium species in cultures using solid medium and broth. *American journal of clinical pathology.* 2014; 141; 1: 25-34.
  12. Rodriguez-Temporal D. et al. Impact of updating the MALDI-TOF MS database on the identification of nontuberculous mycobacteria. *Journal of Mass Spectrometry.* 2017; 52; 9: 597-602.
  13. Патель Р. MALDI-TOFF-масс-спектрометрия: трансформативная протеомика для клинической микробиологии. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2014; 11: 8-10.
  14. Останкова Ю.В., Семенов А. В., Зуева Е. В., Вашукова М. А., Тотолян А. А. Идентификация *Stenotrophomonas maltophilia* с использованием методов прямого секвенирования 16s рРНК и MALDI-ToF масс-спектрометрии. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017; 62; 3: 165-170. doi: 10.18821/0869-2084-2017-62-3-165-170
- 
- REFERENCES
1. Lyamin A.V., Zhestkov A.V., Ismatullin D.D., Kovalev A.M. Laboratory diagnostics of mycobacterioses. *Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsiny.* 2017; 10; 1: 29-35. DOI 10.20969/VSKM.2017.10(1).29-35. EDN XWZECX (in Russian)
  2. Ndanga MED, Abdul JBPA, Edoa JR, Ibinda GARM, Adegbite BR, Mevyann RC, Biyogho CM, Mahoumbou J, Manguinga S, Roguet NM, Lell B, Kreamsner PG, Alabi AS, Grobusch MP, Adegnika AA. Species identification and drug susceptibility testing of non-tuberculous mycobacteria by Line Probe Assay in Lambaréné, Gabon—a cross-sectional study. *BMC Infect Dis.* 2023; 3; 23(1): 651. doi: 10.1186/s12879-023-08617-x. PMID: 37789292; PMCID: PMC10548664.
  3. Fazylov V.H., Petrov I.V., Petrova L.V., Petrova F.S., Amirova T.H. Problems of laboratory diagnostics and identification of mycobacterium species. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie.* 2021; 10; 3: 118-126. DOI: https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-3-118-126 (in Russian)
  4. Lyamin A.V., Ismatullin D.D., Zhestkov A.V., Kovalev A.M., Baryshnikova L.A., Nenyaykin S.S. Comparative analysis of methods for identifying non-tuberculous mycobacteria isolated from clinical material. *Infektsiya i immunitet.* 2017; 7; 3: 285-291. doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-285-291. (in Russian)
  5. Modern taxonomy and classification of bacteria. <https://www.slideshare.net/slideshow/modern-taxonomy-and-classification-of-bacteria-rus/203538186> (in Russian)
  6. Shin J. I., Shin S. J., Shin M. K. Differential genotyping of Mycobacterium avium complex and its implications in clinical and environmental epidemiology. *Microorganisms.* 2020; 8; 1: 98.
  7. Clinical recommendations tuberculosis in adults, 2024 [https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/16\\_3](https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/16_3) (in Russian)
  8. Robinson KM, Hawkins AS, Santana-Cruz I, Adkins RS, Shetty AC, Nagaraj S, Sadzewicz L, Tallon LJ, Rasko DA, Fraser CM, Mahurkar A, Silva JC, Dunning Hotopp JC. 2017. Aligner optimization increases accuracy and decreases compute times in multi-species sequence data. *Microbial Genomics* 3
  9. Hasan NA, Norton GJ, Virdi R, Epperson LE, Vang CK, Hellbusch B, Bai X, Chan ED, Strong M, Honda JR. Measurable genomic changes in Mycobacterium avium subsp. Hominissuis after long-term adaptation in Acanthamoeba enticulate and reduced persistence in macrophages. *J Bacteriol.* 2021; 15; 203(6): e00257-20. Doi: 10.1128/JB.00257-20. Epub 2021 Jan 11. PMID: 33431432; PMCID: PMC8095452
  10. Nakanaga K., Sekizuka T., Fukano H., Sakakibara Y., Takeuchi F., Wada S. et al. Discrimination of Mycobacterium abscessus subsp. Massiliense from Mycobacterium abscessus subsp. Abscessus in clinical isolates by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(1): 251-259. Doi: 10.1128/JCM.01327-13.
  11. Buchan B. W. Et al. Comparison of MALDI-TOF MS with HPLC and nucleic acid sequencing for the identification of Mycobacterium species in cultures using solid medium and broth. *American journal of clinical pathology.* 2014; 141; 1: 25-34.
  12. Rodriguez-Temporal D. et al. Impact of updating the MALDI-TOF MS database on the identification of nontuberculous mycobacteria. *Journal of Mass Spectrometry.* 2017; 52; 9: 597-602.
  13. Patel R. MALDI-TOF-mass spectrometry: transformative proteomics for clinical microbiology. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2014; 11: 8-10. (in Russian)
  14. Ostanкова Y.V., Semyonov A. V., Zueva E. V., Vashukova MA, Totolyan AA Identification of *Stenotrophomonas maltophilia* using direct sequencing of 16s rRNA and MALDI-ToF mass spectrometry. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2017; 62; 3: 165-170. doi: 10.18821/0869-2084-2017-62-3-165-170 (in Russian)