

Научная статья

УДК 619:576.895.1

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2025-19-4-471-479>

Метод времяпролетной масс-спектрометрии с лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF) для исследования белкового профиля гельминтов промысловых рыб

Аввакумова Ольга Вячеславовна¹, Скоморина Юлия Александровна²

^{1,2} Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» (ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), Москва, Россия

² Федеральный центр охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), Владимир, Россия

¹ avvakumova@vniigis.ru; <https://orcid.org/0009-0007-8137-7721>

² skomorina@arriah.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3529-809X>

Аннотация

Цель исследований – отработать метод пробоподготовки, используя расходные материалы (лизис-буферы) российского производства, для изучения белкового профиля санитарно-значимых гельминтов промысловых рыб методом времяпролетной масс-спектрометрии с лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF).

Материалы и методы. Для работы были отобраны 98 экз. гельминтов от трех видов рыб: половозрелые цестоды *Triaenophorus nodulosus* из кишечника щуки (*Esox lucius*), плероцеркоиды (личинки) цестод *Diphyllobothrium ditremum* из стенки желудка и кишечника ряпушки европейской (*Coregonus albula*), личинки нематод *Eustrongylides excisus* из мышечной ткани и печени окуня обыкновенного (*Perca fluviatilis*). Ихтиологический материал был получен с помощью пассивных орудий лова (сети) в период с января по август 2025 года и доставлен в лабораторию в замороженном виде. В лабораторных условиях проводили вскрытие рыб, осмотр мышечной ткани и внутренних органов под бинокулярным микроскопом Motic SMZ-171T. Для видовой идентификации паразитов использовали определители паразитов пресноводных рыб фауны СССР Гусева (1985) и Авдеева (1987). Фотодокументацию выполняли на микроскопе Zeiss AxioImager Z.1. Пробоподготовку (экстракцию) гельминтов проводили согласно патенту N RU 2768162 C1 «Способ подготовки половозрелых особей нематод для идентификации методом MALDI TOF масс-спектрометрии» (2022). Масс-спектрометрию гельминтов выполняли на масс-спектрометре MALDI (Microflex, Bruker Germany).

Результаты и обсуждение. На сегодняшний день в Российской Федерации имеется необходимость в разработке, верификации и внедрении в практическую деятельность испытательных лабораторий рабочих протоколов метода MALDI-TOF MS для диагностики инвазий рыб, используемых для пищевых целей, и создания единой референс-библиотеки спектров белков гельминтов, встречающихся на территории России. Однако, метод пробоподготовки (экстракции) гельминтов не отработан и не разработан стандартный операционный протокол для проведения диагностического исследования гельминтов методом времяпролетной масс-спектрометрии. Нами предприняты исследования по отработке метода пробоподготовки (экстракции) гельминтов с использованием расходных материалов и реагентов российского производства. В результате проведенных нами исследований был отработан протокол пробоподготовки и получен 41 масс-спектр.

Ключевые слова: протеомный анализ, масс-спектрометрия, MALDI-TOF масс-спектрометрия, паразиты, гельминты, нематоды, цестоды

Благодарность. Работа по видовой идентификации паразитов выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках государственного задания № FGUG-2025-0008 без привлечения дополнительных источников финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Для цитирования: Аввакумова О. В., Скоморина Ю. А. Метод временипролетной масс-спектрометрии с лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF) для исследования белкового профиля гельминтов промысловых рыб // Российский паразитологический журнал. 2025. Т. 19. № 4. С. 471–479.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2025-19-4-471-479>

© Аввакумова О. В., Скоморина Ю. А., 2025

Original article

Method of time-of-flight mass spectrometry with laser desorption/ionization (MALDI-TOF) for studying the protein profile of helminths of commercial fish

Olga V. Avvakumova¹, Julia A. Skomorina²

^{1,2} All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV", Moscow, Russia

² Federal Centre for Animal Health (FGBI «ARRIAH»), Vladimir, Russia

¹ avvakumova@vniigis.ru; <https://orcid.org/0009-0007-8137-7721>

² skomorina@arriah.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3529-809X>

Abstract

The purpose of the research is to develop a method of sample preparation using reagents and materials of Russian production to study the protein profile of sanitary-significant helminths of commercial fish using the method of time-of-flight mass spectrometry with laser desorption/ionization (MALDI-TOF).

Materials and methods. 98 specimens of helminths from three fish species were selected for the study: adult cestodes *Triaenophorus nodulosus* from the intestines of a pike (*Esox lucius*), plerocercoids cestodes *Diphyllobothrium ditremum* from the wall of the stomach and intestines of European vendace (*Coregonus albula*), nematode larvae *Eustrongylides excisus* from muscle tissue and liver of Common perch (*Perca fluviatilis*). Ichthyological material was obtained using passive fishing gear (nets) in the period from January to August 2025 and delivered to the laboratory in frozen form. In the laboratory, fish were dissected and muscle tissue and internal organs were examined under binocular microscope Motic SMZ-171T. For species identification of parasites, the Identifier of Parasites of Freshwater Fish Fauna of the USSR Gusev (1985), Avdeev (1987) was used. Photo documentation was performed using the microscope Zeiss AxioImager Z.1. Sample preparation (extraction) of helminths was carried out according to the patent N RU 2768162 C1 Method for preparing adult nematode specimens for identification using MALDI TOFF mass spectrometry method (2022). Mass spectrometry of helminths was performed on a mass spectrometer MALDI (Microflex, Bruker Germany).

Results and discussion. Currently, in the Russian Federation, there is a need to develop, verify, and implement into practical activities of testing laboratories the working protocols of the MALDI-TOF MS method for diagnosing infections of fish used for food purposes, and to create a unified reference library of the spectra of helminth proteins found in Russia. Also, a standard operating protocol for diagnostic testing of helminths using time-of-flight mass spectrometry has not been developed. We conducted research to refine a method for sample preparation (extraction) of helminths using Russian-made consumables and reagents. As a result of our research, we developed a sample preparation protocol and obtained 41 mass spectra.

Keywords: proteomic analysis, mass-spectrometry, MALDI-TOF mass-spectrometry, parasites, helminths, nematodes, cestodes

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

For citation: Avvakumova O. V., Skomorina Ju. A. Method of time-of-flight mass spectrometry with laser desorption/ionization (MALDI-TOF) for studying the protein profile of helminths of commercial fish. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2025;19(4):471–479. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2025-19-4-471-479>

© Avvakumova O. V., Skomorina Ju. A., 2025

Введение

В мире первые исследования метода MALDI-TOF MS с целью изучения белкового профиля нематоды *Angiostrongylus costaricensis* проведены León et al. (2007) в Бразилии [14]. Ahmad et al. (2012) в Тайване демонстрировали метод MALDI-TOF MS для дифференциации инвазионной и неинвазионной стадии нематоды *Meloidogyne incognita* [9]. Позже Avila et al. (2016) проводили сходные исследования в Бразилии, которые показали эффективность матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с времяпролётной масс-спектрометрией для обнаружения трипаносом в биожидкостях [10]. В Италии Calderaro et al. (2018) провели сравнительные исследования рутинных методов диагностики и метода MALDI-TOF MS при дифференциальной диагностике *Entamoeba histolytica* от *Entamoeba dispar* [11].

В настоящее время в мире метод MALDI-TOF MS широко применяют для идентификации гельминтов и их личинок. Были идентифицированы выделенные от улиток церкарии *Trichobilharzia anseri*, *Diplostomum pseudospathaceum*, *Alaria alata*, *Echinostoma revolutum*, *Petasiger phalacrococaris*, *Tylocephalus sp.*, *Australapateon sp.*, *Cotylurus sp.*, *Posthodiplostomum sp.*, *Parastrigea sp.*, *Echinoparyphium sp.*, *Plagiorchis sp.* [12], половозрелые *Fasciola* spp. [17], личинки нематод *Anisakis* spp. [15], личинки трихинелл, выделенные от разных хозяев и из различных географических регионов [13].

Метод MALDI-TOF MS использовали как инструментальный метод диагностики половозрелых нематод *Trichuris* sp. и была создана локальная база данных для внутреннего применения для нематод *T. trichiura*, *T. vulpis*, *T. ovis* [16].

Во всех перечисленных исследованиях идентификации гельминтов методом времяпролетной масс-спектрометрии пробоподготовку осуществляли посредством экстракции гельминтов с использованием набора «Sepsityper Kit 50» (Bruker, Германия).

В Российской Федерации впервые применили метод протеомного анализа для паразитологических исследований ученые Ростовского НИИ микробиологии и паразитологии, выделив белковые профили из половозрелых особей аскариды человека и дирофилярий [7,

8]. Специалистами был запатентован метод пробоподготовки экстракта из гельминтов лизис-буфером из набора «Sepsityper Kit 50» (Bruker, Германия) [2]. Позднее с целью импортозамещения была предложена пробоподготовка с применением буфера из набора для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР) (Амплисенс, Россия). Результаты исследования показали возможность видовой дифференциации нематод методом MALDI-TOF MS с предложенной заменой лизис буферов [4].

Видманова с соавт. (2022) запатентовали способ подготовки половозрелых особей нематод для идентификации методом MALDI TOF масс-спектрометрии, где для подготовки образца применяют ацетонитрил, трифторуксусную и муравьиную кислоты, и не используют лизис буферы. Технический результат изобретения заключается в том, что заявленный способ подготовки биопроб нематод позволяет выделить достаточное количество биологической массы для получения масс-спектров методом MALDI-TOF масс-спектрометрии [5].

На сегодняшний день в Российской Федерации для рутинных исследований в испытательных лабораториях не отработан доступный метод пробоподготовки для последующего проведения диагностического исследования гельминтов рыб с расходными материалами российского производства методом времяпролетной масс-спектрометрии.

Целью нашей работы было отработать пробоподготовку с использованием расходных материалов российского производства для изучения белкового профиля санитарно-значимых гельминтов промысловых рыб методом времяпролетной масс-спектрометрии с лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF).

Материалы и методы

Исследования проводили с января 2025 по август 2025 гг. Ихтиологический материал получали с помощью пассивных орудий лова (сети), доставляли в лабораторию в замороженном виде. В лабораторных условиях проводили вскрытие рыб, осмотр мышечной ткани и внутренних органов под бинокулярным микроскопом Motic SMZ-171T. Для характеристики зараженности рыб использовали показатели экстенсивности (ЭИ, %) и интенсивности инвазии (ИИ, экз. паразитов на рыбу).

Для видовой идентификации паразитов использовали определители паразитов пресноводных рыб фауны СССР Гусева [1] и Авдеева [6]. Фотодокументацию выполняли на микроскопе Zeiss AxioImager Z.1.

Для исследований были отобраны 98 экз. гельминтов от трех видов рыб: щука (*Esox lucius* Linnaeus, 1758), улов – Топо-Пляззерское

водохранилище Республики Карелия и Слакское водохранилище Альшеевского района Республики Башкортостан; ряпушка европейская (*Coregonus albula*, Linnaeus, 1758), улов – Ондозерское водохранилище Республики Карелия; окунь обыкновенный (*Perca fluviatilis*, Linnaeus, 1758), улов – Лаганское водохранилище Лаганского района Республики Калмыкия (табл. 1).

Таблица 1

Гельминтологический материал, использованный в опыте

Table 1

Helminthological material used in experiment

Вид гельминта	Вид рыбы	Локализация	Число, экз.
<i>Triadenophorus nodulosus</i> половозрелые цестоды	Щука <i>Esox lucius</i>	Кишечник	16
<i>Diphyllobothrium ditremum</i> плероцеркоиды (личинки)	Ряпушка европейская <i>Coregonus albula</i>	Стенки желудка и кишечника	30
<i>Eustrongylides excisus</i> личинки	Окунь обыкновенный <i>Perca fluviatilis</i>	Мышечная ткань, печень	52

Метод пробоподготовки – экстракции белков гельминтов выполняли согласно запатентованному методу для половозрелых аскарид

и дирофилярий [5]. В этот метод нами были внесены изменения (табл. 2).

Таблица 2

Метод экстракции белков гельминтов

Table 2

Method of extraction of helminth proteins

N п/п	Этап	Процедура согласно патенту N RU 2768162 C1, дата регистрации 23.03.2022г.	Предложенные изменения и дополнения
1	2	3	4
1	Подготовка гомогенизата гельминта	Отбирается головной конец гельминта или если гельминт мелкий, то целая особь. Ее однократно отмывают в растворе 0,9% NaCl.	Отбирают целую особь гельминта, даже если он большого размера. Особь трехкратно отмывают в стерильном растворе 0,9% NaCl.
		Отмытый гельминт гомогенизируют в чистой одноразовой пластиковой посуде стерильным пестиком.	Отмытый гельминт гомогенизируют в стерильной керамической ступке стерильным керамическим пестиком.
2	Подготовка суспензии	50 мкл полученной массы перемещают дозатором в пробирку типа эппendorф и частично обезвоживают путем центрифугирования в течение 11 минут в режиме RPM=13300 об/мин (RCF=9888 g)	50 мкл полученного гомогенизата помещают дозатором в пробирку типа эппendorф и частично обезвоживают путем центрифугирования в течение 10 минут в режиме RPM=13300 об/мин
		После удаления дозатором надосадочной жидкой фракции добавляют 30 мкл стандартного раствора OS.	Надосадочную жидкую фракцию удаляют автоматическим отсасывателем. Далее добавляют 30 мкл стандартного раствора OS.
		Стандартный раствор (50% ацетонитрила, 47,5% воды, 2,5% трифторуксусной кислоты).	Для приготовления раствора использовали ацетонитрил (CH3CN) 99,9% со степенью чистоты LC-MS grade и HPLC grade.
		Полученную суспензию перемешивают на Vortex 1 минуту.	Суспензию перемешивают на Vortex 30 с.
		Далее к суспензии добавляют 30 мкл 70%-ной муравьиной кислоты, суспензию повторно перемешивают на Vortex 1 минуту и центрифугируют 11 минут в режиме RPM=13300 об/мин (RCF=9888g).	К суспензии добавляют 30 мкл 70%-ной муравьиной кислоты, суспензию перемешивают на Vortex 30 с и центрифугируют 10 минут в режиме RPM=13300 об/мин.

Окончание таблицы 2

End of table 2

1	2	3	4
3	Нанесение на мишень	После удаления пипеткой жидкого супернатанта, полученный осадок наносят с помощью одноразовой петли на гладкую мишень в двух последовательностях.	Жидкий супернатант удаляют автоматическим отсасывателем. Полученный осадок наносят на мишень в пяти последовательностях дозатором, что позволяет добиться более равномерного нанесения аликвоты.
		Покрывают матрицей – цианогидроксикоричной кислотой (α -Cyano-4 hydroxycircamicacid) и сушат при комнатной температуре.	Покрывают матрицей - цианогидроксикоричной кислотой (α -Cyano-4 hydroxycircamicacid) и сушат в ламинарном боксе 2 класса защиты при температуре 25 °C.
4	Спектрометрия	После полного высыхания проводят идентификацию на MALDI TOF масс-спектрометре.	После высыхания мишени масс-спектрометрию проводят на масс-спектрометре MALDI (Microflex, Bruker Germany).

На всех этапах пробоподготовки работу проводили в ламинарном боксе 2 класса защиты TELSTAR BIO-II-A (Telstar, Испания) с целью исключения контаминации гельминтов бактериями.

На втором этапе готовили 10 мл стандартного раствора из расчета: 5 мл ацетонитрила + 4,75 мл дейонизованной воды + 0,25 мл трифтормукусной кислоты. В патенте Видманова с соавт. [5] при изготовлении стандартного раствора с использованием 99,9 % ацетонитрила не конкретизирована степень чистоты реагента. В масс-спектрометрии используют 99,9% ацетонитрил (CH3CN) со степенью чистоты LC-MS grade и HPLC grade.

На третьем этапе нанесение осадка на мишень проводили не бактериологической петлей, а автоматическим пипеточным дозатором, что позволяло добиться более равномерного нанесения аликвоты. Высушивали мишень в ламинарном шкафу при комнатной температуре.

Загрузку мишени в прибор и спектрометрию проводили в масс-спектрометре MALDI Biotyper в соответствии с инструкцией к прибору.

Результаты и обсуждение

При отработке протокола пробоподготовки согласно запатентованной методике Видманова с соавт. [5] нам удалось получить 6 белковых профилей из 16 половозрелых цестод, 5 белковых профилей из 30 плероцеркоидов (личинок) цестод и 30 белковых профилей из 52 личинок нематод.

На втором этапе пробоподготовки проведено сравнение применения 99,9% ацетонитрила (CH3CN) со степенью чистоты LC-MS grade и HPLC grade. В результате с 99,9% ацетонитрилом LC-MS grade не получали информативных спектров ни у цестод, ни у нематод. Используя 99,9% ацетонитрил HPLC grade, нам удалось добиться устойчивого массива масс-спектров и в дальнейшей работе использовали ацетонитрил HPLC grade.

Исследования показали, что оптимизированная нами и отработанная подготовка проб для метода времяпролетной масс-спектрометрии с лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF) обеспечила получение 41 валидного масс-спектра гельминтов и личинок гельминтов, что составило 41,8% от общего числа спектров, полученных от 98 экз. гельминтов. (табл. 3).

При разработке стандартного операционного протокола для проведения диагностического исследования гельминтов у исследователя в рутинной работе появится возможность провести анализ образца, отобранного в минимальном объёме и в короткий срок. Полученные данные позволяют постепенно сформировать доступную базу данных масс-спектров гельминтов, содержащую эталонные профили, которая требуется исследователям для окончательной идентификации гельминтов или их личинок.

Метод время-пролётной MALDI-TOF масс-спектрометрии является инновационной технологией в лабораторной диагностике

Таблица 3

Полученные белковые профили гельминтов промысловых рыб методом
времяпролетной масс-спектрометрии

Table 3

Obtained protein profiles of helminths of commercial fish using the time-of-flight mass spectrometry method

Вид рыб	Вид гельминтов	Число полученных масс-спектров
Щука (<i>Esox lucius</i>)	<i>Triaenophorus nodulosus</i> половозрелые цестоды (рис. 1)	6
Ряпушка европейская (<i>Coregonus albula</i>)	<i>Diphyllobothrium ditremum</i> плероцеркоиды (личинки) цестод (рис. 2)	5
Окунь обыкновенный (<i>Perca fluviatilis</i>)	<i>Eustrongylides excisus</i> личинки нематод (рис. 3)	30
Всего:		41



Рис. 1. Головной конец цестоды *Triaenophorus nodulosus* (× 100)

Fig. 1. Head end of the cestode *Triaenophorus nodulosus* (× 100)



Рис. 2. Капсулы, содержащие плероцеркоиды *Diphyllobothrium ditremum* в стенке желудка ряпушки

Fig. 2. Capsules containing plerocercoids of *Diphyllobothrium ditremum* in the stomach wall of vendace



Рис. 3. Капсулы, содержащие личинки нематод *Eustrongylides excisus* в печени окуня

Fig. 3. Capsules containing larvae of the nematode *Eustrongylides excisus* in the liver of a perch

ке и предоставляет исследователю широкие возможности для идентификации возбудителей. Наряду с классическим микроскопическим методом идентификации и дифференциации гельминтов метод времяпролетной масс-спектрометрии с лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF) может служить потенциальным современным инструментом протеомного анализа.

Заключение

Внедрение масс-спектрометрического анализа в практическую, рутинную работу паразитологических лабораторий федерального уровня даст возможность в будущем проводить высоко результативную диагностику основных циркулирующих на территории Российской Федерации инвазий, в том числе неустановленной этиологии и атипичных форм.

Список источников

1. Авдеев В. В., Бауэр О. Н., Быховская-Павловская И. Е., Вайнштейн Б. А., Висманис К. О., Гусев А. В., Дубинина М. Н., Кулакова А. П., Ломакин В. В., Ройтман В. А., Семенова М. К., Скрябина Е. С., Старобогатов Я. И., Трофименко В. Я., Эпштейн В. М. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. В 3 т. Паразитические многоклеточные. Ч. 2. Т. 3. Л.: Наука, 1987. 583 с.
2. Алешикунина А. В., Алешикунина И. С., Ермакова Л. А., Нагорный С. А., Пищеничная Н. Ю., Криворотова Е. Ю. Способ подготовки проб материала для идентификации вида нематод методом MALDI TOF Biotyper. Патент № RU 2703280 C1. Опубликовано: 16.10.2019. Бюл. № 29
3. 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. Т. 101. № 5. С. 583-588. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-5-583-588>
4. Березинская И. С., Алешикунина А. В., Нагорный С. А. Современный способ пробоподготовки для идентификации аскарид на базе масс-спектрометрии // «Проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены»: материалы XV всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора. Нижний Новгород, 2023. С. 241-244.
5. Видманова М. В., Лямин А. В., Казаков В. С., Исматуллин Д. Д. Способ подготовки половозрелых особей нематод для идентификации методом MALDI TOF масс-спектрометрии. Патент № RU 2768162 C1. Опубликовано: 23.03.2022 Бюл. № 9.
6. Гусев А. В., Дубинина М. Н., Пугачев О. Н., Райкова Е. В., Хотеновский И. А., Эргенс Р. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. В 3 т. Паразитические многоклеточные, ч. 1. Т. 2. Л.: Наука, 1985. 425 с.
7. Нагорный С. А., Алешикунина А. В., Алешикунина И. С., Ермакова Л. А., Пищеничная Н. Ю. Перспектива применения протеомного анализа на основе MALDI-TOF MS для дифференциации нематод на примере изучения белковых профилей аскарид и дирофилярий // Паразитология. 2019. 53 (2). С. 136-44. <https://doi.org/10.1134/S0031184719020054>
8. Нагорный С. А., Алешикунина А. В., Алешикунина И. С., Ермакова Л. А. Использование метода MALDI-TOF MS для видовой дифференциации нематод (на примере изучения белковых профилей аскарид и дирофилярий) // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: сборник научных статей по материалам международной научной конференции. 2020. Вып. 21. С. 267-275. <https://doi.org/10.31016/978-5-9902341-5-4.2020.21.267-275>
9. Ahmad F., Gopal J., Wu H. Rapid and highly sensitive detection of single nematode via direct MALDI Mass Spectrometry. *Talanta*. 2012; 93: 182-185.
10. 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). *Journal of Mass Spectrometry*. 2016; 51 (8): 549-557.
11. Calderaro A., Buttrini M., Montecchini S., Rossi S., Piccolo G., Arcangeletti M. C., Medici M. C., Chezzi C., De Conto F. MALDI-TOF MS as a new tool for the identification of *Dientamoeba fragilis*. *Parasites & Vectors*. 2018; 11: 11. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2597-3>
12. Huguenin A., Depaquit J., Villena I.; Ferté H. MALDI-TOF mass spectrometry: a new tool for rapid identification of cercariae (*Trematoda*, *Digenea*). *Parasite*. 2019; 26: 11-13. <https://doi.org/10.1051/parasite/2019011>
13. Karadjian G., Bilska-Zaja E., Bahn P., Py J.-S., John A., Gassiloud B., Róz'yci M., Cencek T., Mayer-Scholl A., Vallée I. Species identification of *Trichinella* originated from various host and different geographical location by MALDI-TOF. *Experimental Parasitology*. 2020; 213: 107890. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107890>

14. León I. R., Neves-Ferreira A. G. C., Valente R. H., Mota E. M., Lenzi H. L., Perales J. Improved protein identification efficiency by mass spectrometry using N-terminal chemical derivatization of peptides from *Angiostrongylus costaricensis*, a nematode with unknown genome. *Journal of Mass Spectrometry*. 2007; 42 (6): 781-792
15. Marzano V., Pane S., Foglietta G., Levi Mortera S., Vernocchi P., Onetti Muda A., Putignani L. Mass spectrometry based-proteomic analysis of *Anisakis* spp.: a preliminary study towards a new diagnostic tool. *Genes*. 2020; 11. 693. <https://doi.org/10.3390/genes11060693>
16. Rivero J., Zurita A., Cutillas C., Callejón R. The use of MALDI-TOF MS as a diagnostic tool for adult *Trichuris* species. *Frontiers in Veterinary Sciense*. 2022; 9. 867919. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.867919>
17. Sy I., Margardt L., Ngede E. O., Adah M. I., Yusuf S. T., Keiser J., Rehner J., Utzinger J., Poppert S., Becker S. L. Identification of adult *Fasciola* spp. using matrix-assisted laser/desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. *Microorganisms*. 2020; 9. 82. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010082>

Статья поступила в редакцию 08.10.25; одобрена после рецензирования 20.10.25; принята к публикации 10.11.25

Об авторах:

Аввакумова Ольга Вячеславовна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории ихтиопаразитологии, SPIN-код: 5295-9382

Скоморина Юлия Александровна, соискатель лаборатории биологии и биологических основ профилактики, заместитель директора ВНИИЭЖ, SPIN-код: 6469-8763

Вклад авторов:

Аввакумова О. В. – разработка дизайна опытов, исследование материала, анализ полученных данных, написание текста рукописи.

Скоморина Ю. А. – отбор проб, исследование материала, анализ полученных данных.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Avdeev V. V., Bauer O. N., Bykhovskaya-Pavlovskaya I. E., Vainstein B. A., Vismanis K. O., Gusev A. V., Dubinina M. N., Kulakova A. P., Lomakin V. V., Roitman V. A., Semenova M. K., Scryabina E.S., Starobogatov Ya. I., Trofimenko V. Ya., Epstein V. M. The Identifier of Parasites of Freshwater Fish Fauna of the USSR in 3 volumes. Parasitic multicellular organisms. Part 2. Vol. 3. Leningrad: Nauka, 1987; 583. (In Russ.)
2. Aleshukina A. V., Aleshukina I. S., Ermakova L. A., Nagornyy S. A., Pshenichnaya N. Y., Krivorotova E. Y. Method for preparing material samples for identification of nematode species using MALDI TOFF Biotype method. Patent № RU 2703280 C1. Published: 16.10.2019, Bulletin № 29.
3. 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*. 2022; 101 (5): 583-588. (In Russ.) <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-5-583-588>
4. Berezinskaya I. S., Aleshukina A. V., Nagornyy S. A. A modern method of sample preparation for the identification of ascarides based on mass spectrometry. «*Problemy epidemiologii, mikrobiologii i gigiyeny*»: materialy KHV Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchenykh i spetsialistov Rospotrebnadzora = «*Problems of epidemiology, microbiology and hygiene*»: materials of the XV All-Russian Scientific and Practical Conference of young scientists and specialists. Nijnii Novgorod, 2023; 241-244. (In Russ.)
5. Vidmanova M. V., Lyamin A. V., Kazakov V. S., Ismatullin D. D. Method for preparing adult nematode specimens for identification using MALDI TOFF mass spectrometry method. Patent № RU 2768162 C1 Published: 23.03.2022, Bulletin № 9.
6. Gusev A. V., Dubinina M. N., Pugachev O. N., Raikova E. V., Khotenovsky I. A., Ergens R. The Identifier of Parasites of Freshwater Fish Fauna of the USSR in 3 volumes. Parasitic multicellular organisms. Part 1. Vol. 2. Leningrad: Nauka, 1985; 425. (In Russ.)

7. 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 dirofillarias. *Parazitologiya = Parazitology*. 2019; 53 (2): 136–144. (In Russ.) <https://doi.org/10.1134/S0031184719020054>
8. 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 ascaride and dirofilaria). «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»: sbornik nauchnykh statey po materialam mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii = "Theory and Practice of Combating Parasitic Diseases": a collection of scientific articles based on the materials of an international scientific conference. 2020; 21: 267–275. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/978-5-9902341-5-4.2020.21.267-275>
9. Ahmad F., Gopal J., Wu H. Rapid and highly sensitive detection of single nematode via direct MALDI Mass Spectrometry. *Talanta*. 2012; 93: 182–185.
10. 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). *Journal of Mass Spectrometry*. 2016; 51 (8): 549–557.
11. Calderaro A., Buttrini M., Montecchini S., Rossi S., Piccolo G., Arcangeletti M. C., Medici M. C., Chezzi C., De Conto F. MALDI-TOF MS as a new tool for the identification of *Dientamoeba fragilis*. *Parasites & Vectors*. 2018; 11: 11. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2597-3>
12. Huguenin A., Depaquit J., Villena I.; Ferté H. MALDI-TOF mass spectrometry: a new tool for rapid identification of cercariae (*Trematoda, Digenea*). *Parasite*. 2019; 26: 11–13. <https://doi.org/10.1051/parasite/2019011>
13. Karadjian G., Bilska-Zaja E., Bahn P., Py J.-S., Johne A., Gassilloud B., Różycki M., Cencek T., Mayer-Scholl A., Vallée I. Species identification of *Trichinella* originated from various host and different geographical location by MALDI-TOF. *Experimental Parasitology*. 2020; 213: 107890. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107890>
14. León I. R., Neves-Ferreira A. G. C., Valente R. H., Mota E. M., Lenzi H. L., Perales J. Improved protein identification efficiency by mass spectrometry using N-terminal chemical derivatization of peptides from *Angiostrongylus costaricensis*, a nematode with unknown genome. *Journal of Mass Spectrometry*. 2007; 42 (6): 781–792.
15. Marzano V., Pane S., Foglietta G., Levi Mortera S., Vernocchi P., Onetti Muda A., Putignani L. Mass spectrometry based-proteomic analysis of *Anisakis* spp.: a preliminary study towards a new diagnostic tool. *Genes*. 2020; 11: 693. <https://doi.org/10.3390/genes11060693>
16. Rivero J., Zurita A., Cutillas C., Callejón R. The use of MALDI-TOF MS as a diagnostic tool for adult *Trichuris* species. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022; 9: 867919. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.867919>
17. Sy I., Margardt L., Ngbede E. O., Adah M. I., Yusuf S. T., Keiser J., Rehner J., Utzinger J., Poppert S., Becker S. L. Identification of adult *Fasciola* spp. using matrix-assisted laser/desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. *Microorganisms*. 2020; 9: 82. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010082>

The article was submitted 08.10.2025; approved after reviewing 20.10.2025; accepted for publication 10.11.2025

About the authors:

Avvakumova Olga V., PhD in Biology, Junior Researcher in the Ichthyoparasitology Laboratory, SPIN: 5295-9382.

Skomorina Yulia A., Postgraduate Student in the Biology and Biological Foundations of Prevention Laboratory, Deputy Director of the All-Russian Research Institute of Animal Health, SPIN: 6469-8763.

Contribution of the authors:

Avvakumova O. V. – development of experiment design, researching the material, analysis of the data obtained, writing the text of the manuscript.

Skomorina Ju. A. – collection of samples, researching the material, analysis of the data obtained.

All authors have read and approved the final manuscript.