



Научная статья/Research Article

УДК 579.62

DOI: 10.36718/1819-4036-2024-4-53-60

Елизавета Алексеевна Анисимова<sup>1✉</sup>, Екатерина Алексеевна Додонова<sup>2</sup>,  
Динис Анатолиевич Миргазов<sup>3</sup>, Ленар Ильгизарович Зайнуллин<sup>4</sup>,  
Константин Анатольевич Осянин<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4,5</sup>Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Россия

<sup>1</sup>elizaveta-real@mail.ru

<sup>2</sup>dodonovaekaterina82@gmail.com

<sup>3</sup>mirgazov.96@mail.ru

<sup>4</sup>lenarilgizayn@mail.ru

<sup>5</sup>kostja-2003@yandex.ru

### ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ШТАММОВ БРУЦЕЛЛ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ВАРИАБЕЛЬНОСТИ VNTR-ЛОКУСОВ

Цель исследования – оценка эффективности применения разработанного протокола проведения MLVA для дифференциации штаммов возбудителя бруцеллеза. Данный протокол включает в себя анализ 15 VNTR-локусов с использованием модифицированных MLVA-праймеров. Для *in vitro* апробации предложенной MLVA схемы использовали выделенную нами ранее ДНК штаммов *B. canis* RM 6/66, *B. suis* 1330, *B. suis* 183-L, *B. melitensis* 1565. MLVA проводили методом ПЦР с последующим разделением ампликонов в агарозном геле. Положительная амплификация наблюдалась для 10 из 15 VNTR-локусов, а именно Bru6, Bru7, Bru9, Bru16 и Bru18, Bru19, Bru21, Bru30, Bru43 и Bru45. Молекулярный размер данных локусов для референтных штаммов *B. canis* RM 6/66 и *B. suis* 1330 подтвердили *in silico*. Также представлены результаты MLVA для штаммов, представленных в базе данных GenBank. Путем поисковых запросов баз данных ресурсов NCBI нами были получены геномные последовательности 49 штаммов бруцелл видов *B. canis*, *B. suis*, *B. abortus*, *B. melitensis*. С помощью биоинформационного анализа для данных штаммов определили молекулярную массу каждого из десяти VNTR-локуса и количество повторов в нем. По результатам проведенного MLVA построили дендрограмму. На основании филогенетического анализа последовательностей десяти переменных локусов установлено, что большинство исследуемых штаммов бруцелл распределились на дендрограмме в соответствии с их таксономическим положением. Таким образом заключили, что предложенный нами MLVA-протокол имеет потенциал использования для дифференциации штаммов бруцелл.

**Ключевые слова:** *Brucella*, MLVA, ПЦР, филогенетический анализ, tandemные повторы, бруцеллез

**Для цитирования:** Дифференциация штаммов бруцелл на основе анализа переменности VNTR-локусов / Е.А. Анисимова [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2024. № 4. С. 53–60. DOI: 10.36718/1819-4036-2024-4-53-60.

Elizaveta Alekseevna Anisimova<sup>1✉</sup>, Ekaterina Alekseevna Dodonova<sup>2</sup>,  
Dinis Anatolyevich Mirgazov<sup>3</sup>, Lenar Ilgizarovich Zainullin<sup>4</sup>, Konstantin Anatolyevich Osyanin<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4,5</sup>Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russia

<sup>1</sup>elizaveta-real@mail.ru

<sup>2</sup>dodonovaekaterina82@gmail.com

<sup>3</sup>mirgazov.96@mail.ru

<sup>4</sup>lenarilgizayn@mail.ru

<sup>5</sup>kostja-2003@yandex.ru

## BRUCELLA STRAINS DIFFERENTIATION BASED ON VNTR LOCI VARIABILITY ANALYSIS

The purpose of the study is to evaluate the effectiveness of using the developed MLVA protocol for differentiating strains of the causative agent of brucellosis. This protocol includes the analysis of 15 VNTR loci using modified MLVA primers. For in vitro testing of the proposed MLVA scheme, we used previously isolated DNA from strains *B. canis* RM 6/66, *B. suis* 1330, *B. suis* 183-L, *B. melitensis* 1565. MLVA was carried out by PCR followed by separation of amplicons in an agarose gel. Positive amplification was observed for 10 of the 15 VNTR loci, namely Bru6, Bru7, Bru9, Bru16 and Bru18, Bru19, Bru21, Bru30, Bru43 and Bru45. The molecular size of these loci for the reference strains *B. canis* RM 6/66 and *B. suis* 1330 was confirmed in silico. MLVA results for strains represented in the GenBank database are also presented. By searching the NCBI resource databases, we obtained the genomic sequences of 49 *Brucella* strains of the species *B. canis*, *B. suis*, *B. abortus*, and *B. melitensis*. Using bioinformatic analysis, the molecular weight of each of the ten VNTR loci and the number of repeats in it were determined for these strains. Based on the results of the MLVA, a dendrogram was constructed. Based on a phylogenetic analysis of the sequences of ten variable loci, it was established that the majority of the studied *Brucella* strains were distributed on the dendrogram in accordance with their taxonomic position. Thus, we concluded that our proposed MLVA protocol has the potential to be used for the differentiation of *Brucella* strains.

**Keywords:** *Brucella*, MLVA, PCR, phylogenetic analysis, tandem repeats, brucellosis

**For citation:** *Brucella* strains differentiation based on VNTR loci variability analysis / E.A. Anisimova [et al.] // Bulliten KrasSAU. 2024;(4): 53–60 (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2024-4-53-60.

**Введение.** Бруцеллез – опасное заболевание животных и человека, распространенное преимущественно в странах с интенсивным животноводством [1]. К бруцеллезу восприимчивы все виды теплокровных животных, но чаще всего данное заболевание встречается у крупного рогатого скота, свиней, оленей, коз, овец, лошадей и собак. В России эпидемиологическая ситуация по данному заболеванию также характеризуется как достаточно напряженная [2]. В частности, основная часть случаев заболеваемости регистрируется на территориях Северо-Кавказского, Южного и Сибирского федеральных округов, в которых отмечается самая высокая заболеваемость крупного рогатого скота (более 80 % от общего количества больных животных в РФ) и мелкого рогатого скота (более 90 %) [3]. Эпидемическую ситуацию по бруцеллезу осложняет возможность вспышечной заболеваемости людей данным заболеванием [4]. Для человека наиболее патогенными считаются

виды *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* и *B. canis*, заражение которыми может происходить при непосредственном контакте с инфицированными животными или при употреблении в пищу непастеризованных продуктов животного происхождения [5]. Необходимость применения современных молекулярно-генетических методов для проведения точной идентификации и типирования возбудителей бруцеллеза не вызывает сомнений. В частности, для молекулярного типирования возбудителей особо опасных инфекций успешно используется MLVA (Multiple Loci VNTR Analysis), представляющий собой сравнительный анализ варибельности областей генома (VNTR-локусов), содержащих tandemные повторы [6]. Что касается бруцелл, данный метод отражает генетический полиморфизм у штаммов *Brucella* sp. и позволяет не только проводить внутривидовую дифференциацию, но и группировать штаммы возбудителей бруцеллеза в соответствии с их географическим про-

исхождением [7, 8]. Ранее в качестве метода генотипирования бруцелл нами был предложен MLVA протокол, включающий в себя анализ 15 VNTR-локусов, содержащих tandemные повторы от 6 до 134 п. н. [9]. Принципиальным отличием данного подхода от других существующих схем исследования геномного полиморфизма бруцелл является использование оригинальной системы VNTR-праймеров, представляющих собой претерпевшие редизайн традиционно применяемые для MLVA олигонуклеотидные затравки. Однако отметим, что ранее нами был

выполнен только теоретический подбор праймеров и необходимых условий ПЦР.

**Цель исследования** – оценка эффективности применения разработанного протокола проведения MLVA для дифференциации штаммов возбудителя бруцеллеза.

**Материалы и методы.** В работе использовали данные о геномных последовательностях 49 штаммов бруцелл, представленных в базе данных GenBank (табл. 1). Биоинформационный анализ проводили с помощью программ Vector NTI 9.1 и онлайн-ресурсов NCBI (URL: <https://ncbi.gov>).

Таблица 1

Использованные в работе штаммы бруцелл из базы данных GenBank

Штамм	Географическое происхождение	Номер в базе данных GenBank
1	2	3
<i>Brucella canis</i> strain RM6/66	Коллекция (США)	CP007758.1, CP007759.1
<i>Brucella canis</i> strain FDAARGOS_420		CP023974.1, CP023973.1
<i>Brucella canis</i> ATCC 23365		CP000872.1, CP000873.1
<i>Brucella canis</i> str. Oliveri		HG803175.1, HG803176.1
<i>Brucella canis</i> strain 2010009751	США (Массачусетс)	CP016977.1, CP016978.1
<i>Brucella canis</i> strain 2009013648	США (Аризона)	CP016975.1, CP016976.1
<i>Brucella canis</i> strain 2009004498	США (Луизиана)	CP016973.1, CP016974.1
<i>Brucella canis</i> strain SVA13	Швеция	CP007629.1, CP007630.1
<i>Brucella canis</i> HSK A52141	Корея	CP003174.1, CP003175.1
<i>Brucella canis</i> strain GB1	Китай	CP027643.1, CP027642.1
<i>Brucella suis</i> 1330	Коллекция (США)	AE014291.4, AE014292.2
<i>Brucella suis</i> bv. 1 strain CVI_59	Хорватия	CP054959.1, CP054960.1
<i>Brucella suis</i> bv. 1 strain CVI_58		CP054961.1, CP054962.1
<i>Brucella suis</i> bv. 1 str. S2	Китай	CP006961.1, CP006962.1
<i>Brucella suis</i> bv. 2 strain CVI_50	Хорватия	CP054963.1, CP054964.1
<i>Brucella suis</i> bv. 2 strain Bs364CITA	Португалия	CP007697.1, CP007698.1
<i>Brucella suis</i> bv. 2 strain PT09172		CP007693.1, CP007694.1
<i>Brucella suis</i> bv. 3 str. 686	Коллекция (США)	CP007719.1, CP007718.1
<i>Brucella suis</i> bv. 3 strain CVI_71	Хорватия	CP054957.1, CP054958.1
<i>Brucella suis</i> bv. 4 strain CVI_72		CP054955.1, CP054956.1
<i>Brucella suis</i> bv. 5 strain CVI_73		CP054953.1, CP054954.1
<i>Brucella melitensis</i> bv. 1 str. 16M	Коллекция (США)	AE008917.1, AE008918.1
<i>Brucella melitensis</i> bv. 2 str. 63/9		CP007789.1, CP007788.1
<i>Brucella melitensis</i> strain 2008724259	США (Калифорния)	CP016983.1, CP016984.1
<i>Brucella melitensis</i> strain CIIMS-NV-1	Индия	CP029756.1, CP029757.1
<i>Brucella melitensis</i> strain BL	Китай	CP022875.1, CP022876.1
<i>Brucella melitensis</i> strain B15		CP035795.1, CP035796.1
<i>Brucella melitensis</i> M5-90		CP001851.1, CP001852.1
<i>Brucella melitensis</i> strain CIT21		CP025819.1, CP025820.1
<i>Brucella melitensis</i> strain C-573	Россия (Ставрополь)	CP019679.1, CP019680.1
<i>Brucella melitensis</i> BwIM_SYR_04	Сирия	CP018512.1, CP018513.1
<i>Brucella melitensis</i> BwIM_SYR_26		CP018526.1, CP018527.1
<i>Brucella melitensis</i> BwIM_IRN_28	Иран	CP018484.1, CP018485.1

Окончание табл. 1

1	2	3
<i>Brucella melitensis</i> BwIM_IRQ_32	Ирак	CP018490.1, CP018491.1
<i>Brucella melitensis</i> BwIM_TUR_38	Турция	CP018552.1, CP018553.1
<i>Brucella melitensis</i> BwIM_ITA_55	Италия	CP018496.1, CP018497.1
<i>Brucella abortus</i> 2308	Коллекция (США)	AM040264.1, AM040265.1
<i>Brucella abortus</i> biovar 1 str. 9-941		AE017223.1, AE017224.1
<i>Brucella abortus</i> bv. 2 str. 86/8/59		CP007765.1, CP007764.1
<i>Brucella abortus</i> bv. 6 str. 870		CP007709.1, CP007710.1
<i>Brucella abortus</i> 104M	Китай	CP009625.1, CP009626.1
<i>Brucella abortus</i> strain clpP		CP044338.1, CP044339.1
<i>Brucella abortus</i> strain MC		CP022879.1, CP022880.1
<i>Brucella abortus</i> strain CIIMS-NV-4	Индия	CP025743.1, CP025744.1
<i>Brucella abortus</i> strain IVRI95		CP034695.1, CP034696.1
<i>Brucella abortus</i> strain 69841	Италия	CP098117.1, CP098118.1
<i>Brucella abortus</i> strain 24157		CP098085.1, CP098086.1
<i>Brucella abortus</i> A13334	Южная Корея	CP003176.1, CP003177.1
<i>Brucella abortus</i> strain 68	Украина (Луганск)	CP066175.1, CP066176.1

Множественное выравнивание выполнили с использованием алгоритма MUSCLE в программе Mega 11. Филогенетический анализ осуществляли методом попарного невзвешенного кластирования с арифметическим усреднением (UPGMA). Для оценки достоверности филогенетических связей использовали многократную генерацию методом Bootstrap для 1000 независимых построений каждого филогенетического дерева.

Для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали выделенную нами ранее ДНК штаммов *B. canis* RM 6/66, *B. suis* 1330, *B. suis* 183-L и *B. melitensis* 1565 [10, 11]. Амплификацию VNTR-локусов проводили согласно протоколу, представленному в работе Хаммадова с соавт. [9]. Полученные ПЦР-продукты разделяли электрофорезом в 1,5 % агарозном геле с последующей окраской бромистым этидием. Визуализацию проводили с помощью UV-

трансиллюминатора. Размер полученных фрагментов определяли с использованием программы «Gel Analyzer» путем сравнения фрагмента с маркером молекулярной массы ДНК «100 + bp DNA Ladder» (ЗАО «Евроген», Москва).

**Результаты и их обсуждение.** В рамках текущего исследования провели апробацию разработанного нами ранее MLVA-подхода с использованием ДНК бактерий *B. canis* RM 6/66, *B. suis* 1330, *B. suis* 183-L и *B. melitensis* 1565, а также нуклеотидных последовательностей бруцелл, представленных в базе данных GenBank. На первом этапе работы определили размеры получаемых VNTR-локусов штаммов *B. canis* RM 6/66, *B. suis* 1330, *B. suis* 183-L и *B. melitensis* 1565 с помощью ПЦР и последующего электрофореза. Результаты проведенного молекулярно-генетического анализа представлены в таблице 2.

Таблица 2

### Характеристика VNTR-локусов исследуемых штаммов бруцелл

Локус	Молекулярный размер локуса, п.н.			
	<i>B. canis</i> RM 6/66	<i>B. suis</i> 1330	<i>B. suis</i> 183-L	<i>B. melitensis</i> 1565
1	2	3	4	4
Bru4	–	–	–	–
Bru6	273	273	273	273
Bru7	165	165	165	157
Bru8	–	–	–	–
Bru9	160	144	160	152
Bru10	–	–	–	–

1	2	3	4	5
Bru11	–	–	–	–
Bru16	168	168	160	152
Bru18	146	138	166	138
Bru19	170	164	184	178
Bru21	175	175	159	167
Bru30	129	129	121	185
Bru43	163	163	151	175
Bru43	188	188	134	152

Поскольку амплификация локусов Bru4, Bru8, Bru10, Bru11 и Bru55 для используемых штаммов была отрицательной, данные локусы были исключены из дальнейшей работы. Штаммы *B. canis* RM 6/66 и *B. suis* 1330 использовали в качестве референтных. Геном данных бактерий полностью секвенирован и представлен в базе данных GenBank, поэтому для *B. canis* RM 6/66 и *B. suis* 1330 с помощью биоинформационного анализа подтвердили размер оставшихся в работе десяти VNTR-локусов, после чего путем экстраполяции также определили точный молекулярный размер данных локусов для штаммов *B. suis* 183-L и *B. melitensis* 1565.

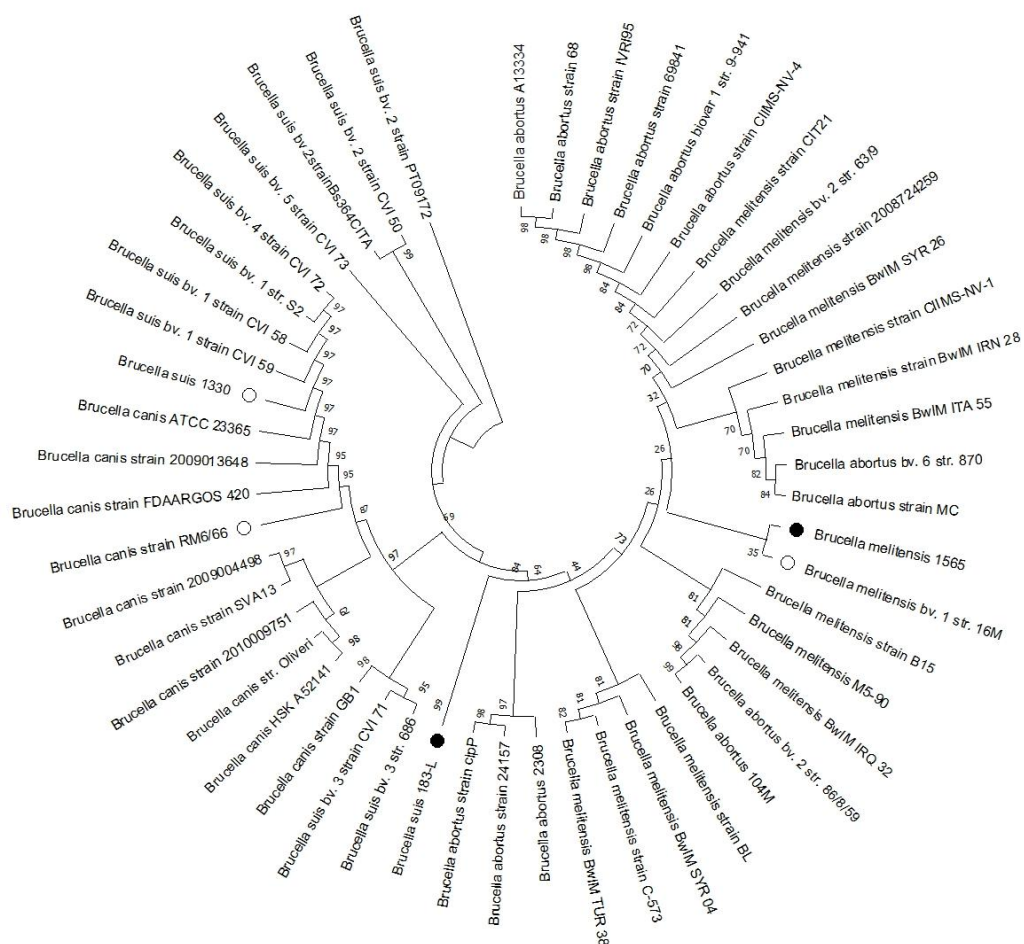
На следующем этапе работы провели MLVA для 49 штаммов бруцелл, представленных в базе данных GenBank (см. табл. 1). Для этого с помощью программы Vector NTI 9.1 нуклеотидные последовательности I и II хромосом бруцелл ограничили разработанными для амплификации VNTR-локусов праймерами, после чего определили молекулярный размер соответствующего VNTR-локуса и количество повторов в нем. Далее построили дендрограмму, представленную на рисунке.

Установили, что штаммы *B. canis* распределились на дендрограмме по трем близкородственным кластерам, два из которых являются общими с представителями вида *B. suis*. В частности, самый большой кластер сформирован штаммами *B. canis* и *B. suis* (I, IV биовара), располагающимися на соседних ветках, но выходящими из разных узлов. Штамм *B. canis* GB1, в свою очередь, сгруппировался вместе с кладой, состоящей из двух штаммов *B. suis* III биовара. Данный факт свидетельствует о генетическом родстве видов *B. canis* и *B. suis*, что находит

подтверждение в исследованиях отечественных и зарубежных авторов [8, 11, 12]. Что касается остальных использованных штаммов *B. suis*, представители II биовара данного вида сгруппировались на дендрограмме в виде клады и близкородственной к ней ветви филогенетического древа. Обособленное положение также занял штамм *B. suis* V биовара, что согласуется с данными литературы о таксономии бруцелл [8]. Также родственную, но удаленную от других штаммов *B. suis* ветвь образует штамм *B. suis* 183-L, использованный в исследовании для апробации MLVA-подхода.

Другой тест-штамм – *B. melitensis* 1565 – сгруппировался в отдельную кладу с референтным штаммом *B. melitensis* 16M. Штаммы *B. melitensis* из базы данных GenBank образуют на дендрограмме три общих с представителями вида *B. abortus* кластера и группируются согласно их видовой принадлежности. В частности, штаммы *B. abortus* A13334, 68, IVRI95, 69841, 9-941 и CIIMS-NV-4 объединены в одну подгруппу внутри самого большого кластера, остальная часть которого представлена штаммами *B. melitensis* различного географического происхождения.

Штаммы *B. abortus* 86/8/59 и 104M образуют самостоятельную кладу, выходящую из общего узла со штаммами *B. melitensis* B15, M5-90, BwI V IRQ 32. Аналогичным образом в другом кластере расположились штаммы *B. abortus* 870 и MC. Отдельно расположился кластер, сформированный коллекционным штаммом *B. abortus* 2308 и кладой, представленной изолятами из Китая (*B. abortus* cIP) и Италии (*B. abortus* 24157).



Дендрограмма, иллюстрирующая кластеризацию исследованных штаммов бруцелл на основании проведенного MLVA-анализа (черными кругами обозначены штаммы, для которых VNTR-профиль определен *in vitro*; белыми – референтные штаммы)

**Заключение.** Проведенный по десяти вариабельным локусам MLVA-анализ позволяет систематизировать большинство использованных из базы данных GenBank штаммов бруцелл в соответствии с их таксономическим положением. Из чего можно сделать вывод, что данный подход к MLVA-типированию может быть использован для дифференциации представителей рода *Brucella* при проведении эпизоотологических исследований вспышек бруцеллеза.

#### Список источников

1. Анализ заболеваемости людей бруцеллезом и молекулярно-биологическая характеристика изолятов *Brucella melitensis* на длительно неблагополучных по бруцеллезу территориях юга европейской части России / А.А. Хачатурова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2022. 99(1). С. 63–74. DOI: 10.36233/0372-9311-185.
2. Салмаков К.М., Косарев М.А. Совершенствование системы специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота с применением вакцины из штамма *B. abortus* 82 и препарата из штамма *B. abortus* R-1096 // Ветеринария. 2023. № 8. С. 9–13. DOI: 10.30896/0042-4846.2023.26.8.09-13.
3. Прошлое, настоящее, перспективы и проблемы совершенствования специфической профилактики бруцеллеза / В.А. Коршенко [и др.] // Медицинский вестник Юга России. 2021. № 12 (3). С. 12–21. DOI: 10.21886/2219-8075-2021-12-3-12-21.
4. Анализ заболеваемости бруцеллезом и молекулярно-генетическая характеристика популяции бруцелл на территории Российской Федерации / Д.Г. Пономаренко [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. 2023. № 2.

- C. 61–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-61-74.
5. In vitro antimicrobial susceptibility testing of human *Brucella melitensis* isolates from Qatar between 2014-2015 / A. *Deshmukh* [et al.] // BMC Microbiol. 2015. № 15 (121). DOI: 10.1186/s12866-015-0458-9.
  6. Дифференциация штаммов *Bacillus anthracis* методом анализа температур плавления продуктов ПЦР, полученных после амплификации VNTR локусов / Н.А. *Фахрутдинов* [и др.] // Ветеринарный врач. 2023. № 2. С. 41–46. DOI: 10.33632/1998-698X\_2023\_2\_41.
  7. Изучение генетического разнообразия штаммов бруцелл, выделенных в Северо-Кавказском федеральном округе / И.В. *Кузнецова* [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. 2017. № 3. С. 58–62. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-3-58-62.
  8. *Кулаков Ю.К., Цирельсон Л.Е., Желудков М.М.* Молекулярно-генетическая характеристика изолятов бруцелл, выделенных от собак и оленей в различных регионах России // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2012. № 4. С. 28–33. DOI: 10.3103/S0891416812040052.
  9. Маркерные локусы генома бруцелл для дифференциальной ПЦР индикации патогенных штаммов / Н.И. *Хаммадов* [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. 2018. № 3. С. 88–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-88-93.
  10. Использование кривых плавления ампликонов VNTR-локусов для идентификации бруцелл / Е.А. *Анисимова* [и др.] // Перспективы развития современной ветеринарной науки: сб. науч. тр. по итогам Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 55-летию Прикаспийского зонального научно-исследовательского ветеринар. ин-та – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД» (22–23 сентября 2022 г.). Махачкала: Алеф, 2022. С. 22–26.
  11. Применение HRM-анализа кривых плавления, полученных после амплификации VNTR-локусов, для идентификации и дифференциации штаммов бруцелл / Е.А. *Анисимова* [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. 2023. № 4. С. 42–49. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-42-49.
  12. Genetic and Phenotypic Characterization of the Etiological Agent of Canine Orchiepididymitis Smooth *Brucella* sp. BCCN84.3 / C. *Guzmán-Verri* [et al.] // Front. Vet. Sci. 2019. № 6 (175). DOI: 10.3389/fvets.2019.00175.

## References

1. Analiz zaboлеваemosti lyudej brucellezom i molekulyarno-biologicheskaya harakteristika izolyatov *Brucella melitensis* na dlitel'no neblagopoluchnyh po brucellezu territoriyah yuga evropejskoj chasti Rossii / A.A. *Hachaturova* [i dr.] // Zhurnal mikrobiologii, `epidemiologii i immunobiologii. 2022. 99(1). S. 63–74. DOI: 10.36233/0372-9311-185.
2. *Salmakov K.M., Kosarev M.A.* Sovershenstvovanie sistemy specificheskoy profilaktiki brucelleza krupnogo rogatogo skota s primeneniem vakciny iz shtamma *B. abortus* 82 i preparata iz shtamma *B. abortus* R-1096 // Veterinariya. 2023. № 8. S. 9–13. DOI: 10.30896/0042-4846.2023.26.8.09-13.
3. Proshloe, nastoyaschee, perspektivy i problemy sovershenstvovaniya specificheskoy profilaktiki brucelleza / V.A. *Korshenko* [i dr.] // Medicinskij vestnik Yuga Rossii. 2021. № 12 (3). S. 12–21. DOI: 10.21886/2219-8075-2021-12-3-12-21.
4. Analiz zabolevaemosti brucellezom i molekulyarno-geneticheskaya harakteristika populyacii brucell na territorii Rossijskoj Federacii / D.G. *Ponomarenko* [i dr.] // Problemy osobo opasnyh infekcij. 2023. № 2. S. 61–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-61-74.
5. In vitro antimicrobial susceptibility testing of human *Brucella melitensis* isolates from Qatar between 2014-2015 / A. *Deshmukh* [et al.] // BMC Microbiol. 2015. № 15 (121). DOI: 10.1186/s12866-015-0458-9.
6. Differenciaciya shtammov *Bacillus anthracis* metodom analiza temperatur plavljeniya produktov PCR, poluchennyh posle amplifikacii VNTR lokusov / N.A. *Fahrutdinov* [i dr.] // Veterinarnyj vrach. 2023. № 2. S. 41–46. DOI: 10.33632/1998-698X\_2023\_2\_41.
7. Izuchenie geneticheskogo raznoobraziya shtammov brucell, vydelennyh v Severo-Kavkazskom federal'nom okruge / I.V. *Kuznetsova* [i dr.] // Problemy osobo opasnyh infekcij.

2017. № 3. С. 58–62. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-3-58-62.
8. *Kulakov Yu.K., Cirel'son L.E., Zheludkov M.M.* Molekulyarno-geneticheskaya harakteristika izolyatov brucell, vydelennyh ot sobak i olnej v razlichnyh regionah Rossii // Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya. 2012. № 4. С. 28–33. DOI: 10.3103/S0891416812040052.
  9. Markernye lokusy genoma brucell dlya differencial'noj PCR indikacii patogennyh shtammov / *N.I. Hammadov* [i dr.] // Problemy osobo opasnyh infekcij. 2018. № 3. С. 88–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-88-93.
  10. Ispol'zovanie krivyh plavleniya amplikonov VNTR-lokusov dlya identifikacii brucell / *E.A. Anisimova* [i dr.] // Perspektivy razvitiya sovremennoj veterinarnoj nauki: sb. nauch. tr. po itogam Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem, posvyasch. 55-letiyu Prikaspijskogo zonal'nogo nauchno-issledovatel'skogo veterinar. in-ta – filiala FGBNU «FANC RD» (22–23 sentyabrya 2022 g.). Mahachkala: Alef, 2022. S. 22–26.
  11. Primenenie HRM-analiza krivyh plavleniya, poluchennyh posle amplifikacii VNTR-lokusov, dlya identifikacii i differenciacii shtammov brucell / *E.A. Anisimova* [i dr.] // Problemy osobo opasnyh infekcij. 2023. № 4. С. 42–49. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-42-49.
  12. Genetic and Phenotypic Characterization of the Etiological Agent of Canine Orchiopididymitis Smooth Brucella sp. BCCN84.3 / *C. Guzmán-Verri* [et al.] // Front. Vet. Sci. 2019. № 6 (175). DOI: 10.3389/fvets.2019.00175.

Статья принята к публикации 20.11.2023 / The article accepted for publication 20.11.2023.

Информация об авторах:

**Елизавета Алексеевна Анисимова**<sup>1</sup>, исполняющая обязанности старшего научного сотрудника лаборатории генотипирования и паспортизации штаммов, кандидат биологических наук

**Екатерина Алексеевна Додонова**<sup>2</sup>, младший научный сотрудник лаборатории генотипирования и паспортизации штаммов

**Динис Анатолиевич Миргазов**<sup>3</sup>, младший научный сотрудник лаборатории генотипирования и паспортизации штаммов

**Ленар Ильгизарович Зайнуллин**<sup>4</sup>, ведущий научный сотрудник лаборатории генотипирования и паспортизации штаммов, кандидат биологических наук

**Константин Анатольевич Осянин**<sup>5</sup>, ведущий научный сотрудник лаборатории генотипирования и паспортизации штаммов, кандидат биологических наук

Information about the authors:

**Elizaveta Alekseevna Anisimova**<sup>1</sup>, Acting Senior Researcher at the Laboratory of Genotyping and Strain Certification, Candidate of Biological Sciences

**Ekaterina Alekseevna Dodonova**<sup>2</sup>, Junior Researcher, Laboratory of Genotyping and Strain Certification

**Dinis Anatolyevich Mirgazov**<sup>3</sup>, Junior Researcher, Laboratory of Genotyping and Strain Certification

**Lenar Ilgizarovich Zainullin**<sup>4</sup>, Leading Researcher at the Laboratory of Genotyping and Strain Certification, Candidate of Biological Sciences

**Konstantin Anatolyevich Osyenin**<sup>5</sup>, Leading Researcher at the Laboratory of Genotyping and Strain Certification, Candidate of Biological Sciences

