

Сравнительный анализ клеточного состава крови и костного мозга белых мышей, инфицированных *Bacillus anthracis* разных генотипов

Дубровина В.И., Старовойтова Т.П., Кравец Е.В., Иванова Т.А., Дугаржапова З.Ф., Гаврилова О.В., Юрьева О.В., Шкаруба Т.Т., Балахонов В.С.

ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дубровина Валентина Ивановна, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

Резюме

Обоснование. Одним из актуальных направлений в изучении возбудителя сибирской язвы остаётся исследование его факторов патогенности, к которым, прежде всего, относятся трёхкомпонентный токсин, капсула и связанные с ними структурные и регуляторные гены. Наличие или отсутствие этих факторов влияет на структурные изменения как в клеточном составе крови, так и в иммунокомпетентных органах макроорганизма.

Цель исследования: сравнительный анализ популяционного состава клеток костного мозга и периферической крови экспериментальных животных, инфицированных *Bacillus anthracis* разных генотипов.

Методы. Было проведено сравнительное исследование популяционного состава клеток красного костного мозга и периферической крови белых мышей в динамике инфекционного процесса, вызванного возбудителем *B. anthracis* разных генотипов. В красном костном мозге определяли индекс созревания нейтрофилов и лейко-эритроцитарное соотношение. В мазках периферической крови, окрашенных по методу Фрейфельда, выявляли степень выраженности патологической зернистости нейтрофилов. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью компьютерной программы «Статистика», версия 6 (Новосибирск). Достоверными считались результаты, если вероятность ошибки была меньше 0,05 ($p < 0,05$) по отношению к контролю.

Результаты. Выявлены различия в популяционном составе клеток костного мозга и периферической крови экспериментальных животных, инфицированных возбудителем *B. anthracis*, которые зависят от плазмидного состава исследованных штаммов.

Заключение. Полученные данные дают основания предположить, что выявленные различия изменений периферической крови и красного костного мозга экспериментальных животных могут быть связаны не только с плазмидным профилем исследованных штаммов, но и с особенностями их ферментативной активности, способности к адгезии и другим факторам.

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, кровь, костный мозг, плазмидный профиль

Для цитирования: Дубровина В.И., Старовойтова Т.П., Кравец Е.В., Иванова Т.А., Дугаржапова З.Ф., Гаврилова О.В., Юрьева О.В., Шкаруба Т.Т., Балахонов В.С. Сравнительный анализ клеточного состава крови и костного мозга белых мышей, инфицированных *Bacillus anthracis* разных генотипов. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(1): 72-77. doi: 10.29413/ABS.2020-5.1.10

Comparative Analysis of Blood and Marrow Cellular Structure of White Mice Infected With *Bacillus Anthracis* Different Genotypes

Dubrovina V.I., Starovoitova T.P., Kravets E.V., Ivanova T.A., Dugarzhapova Z.F., Gavrilova O.V., Yur'eva O.V., Shkaruba T.T., Balakhonov S.V.

Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor (Trilissera str. 78, 664047 Irkutsk, Russian Federation)

Corresponding author: Valentina I. Dubrovina, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

Abstract

Background. Detection of the pathogenicity factors is one of the actual directions in studying of the anthrax causative agent. First of all, it includes the presence of tripartite toxin, capsule and the related structural and regulatory genes. Their presence or absence is defined by structural changes in cellular structure of blood and immunocomplex organs of a macroorganism.

Objective: To conduct a comparative analysis of subpopulational structure of marrow and peripheral blood cells at anthrax infection in experimental animals and to trace dynamics of the infectious process caused by *Bacillus anthracis* of different genotypes.

Methods. Comparative examination of subpopulational structure of red marrow and peripheral blood cells of white mice in dynamics of the infectious process caused by *B. anthracis* of different genotypes was conducted. Also, neutrophil maturing index and leucoerythrocytic correlation were calculated in red marrow. Degree of manifestation of neutrophil pathological granularity was revealed in peripheral blood smears stained by the Freifeld's method. Statistical processing of the received data was conducted using the computer program "Statistics", version 6 (Novosibirsk). Authentic results were considered if the error probability was less than 0.05 ($p < 0.05$) in relation to the control.

Results. It is revealed that alterations in white mice infected by *B. anthracis* strains with the same set of plasmids are significantly various.

Conclusion. The resulted data permit to assume that the distinction of pathological alterations in peripheral blood and red marrow is probably connected with the other factors of the pathogen invasiveness like enzymatic activity, ability to adhesion and many others.

Key words: *Bacillus anthracis*, blood, marrow, plasmid profile

For citation: Dubrovina V.I., Starovoitova T.P., Kravets E.V., Ivanova T.A., Dugarzhapova Z.F., Gavrilova O.V., Yur'eva O.V., Shkaruba T.T., Balakhonov S.V. Comparative Analysis of Blood and Marrow Cellular Structure of White Mice Infected With *Bacillus Anthracis* Different Genotypes. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(1): 72-77. doi: 10.29413/ABS.2020-5.1.10

ВЕДЕНИЕ

Несмотря на многочисленные исследования, связанные с разработкой методов диагностики и созданием средств специфической профилактики, проблема борьбы с сибирской язвой для медицины и ветеринарии остаётся актуальной [1, 2]. Известно, что патогенность *B. anthracis* в основном связана с наличием таких факторов, как трёхкомпонентный токсин и капсула, структурные и регуляторные гены синтеза которых находятся в составе высокомолекулярных плазмид рХ01 и рХ02. Продуцирование капсульной субстанции детерминируется структурными генами (сарА, сарВ, сарС), локализованными на плазмиде рХ02. Именно капсула предохраняет *B. anthracis* от фагоцитоза. Штаммы, утратившие плазмиду рХ02, снижают свою вирулентность, сохраняя иммуногенность [3]. Другим важным фактором патогенности является экзотоксин, состоящий из протективного антигена (ПА), двух эффекторных субъединиц отёчного фактора (ОФ) и летального фактора (ЛФ), детерминанты которых расположены на плазмиде рХ01 – раg, суа и lef, соответственно [9]. На начальных этапах инфекции ПА связывается с толл-подобными рецепторами (TLR) на клеточной мембране и обеспечивает транспорт ЛФ и ОФ во внутриклеточные компартменты. ПА, участвуя в реализации вирулентных свойств, в то же время является основным иммуногенным компонентом ОФ является кальмодулин-зависимая аденилатциклаза, которая увеличивает внутриклеточный уровень циклического аденозин-3', 5'-монофосфата (цАМФ), что приводит к нарушению водного гомеостаза и как результат – к образованию массивных отёков и потере жидкости. Другим важным аспектом токсичного действия ОФ является его способность связывать один из ключевых внутриклеточных белков – кальмодулин, вовлечённый в запускаемый кальцием сигнальный путь, повреждая его и используя для стимуляции собственной активности. Эта активность ингибирует иммунный ответ, позволяя инфекции развиваться [6]. ЛФ представляет собой протеазу, которая нарушает структуру митоген-активируемых протеинкиназ (МАП), блокируя таким образом многофункциональные внутриклеточные сигнальные пути. Показано, что ЛФ угнетает пролиферацию иммунокомпетентных клеток, продукцию цитокинов и иммуноглобулинов, стимулирует продукцию провоспалительных цитокинов, что приводит к повреждению и апоптозу клеток. Однако детальный механизм гибели клеток в результате нарушения структуры МАП неясен [7]. Все три компонента токсина действуют синергидно. К настоящему времени все факторы хорошо изучены и показана их роль в патогенезе заболевания и стимуляции иммунного ответа [8]. Отсутствие одной из плазмид приводит к снижению или полной утрате вирулентности для лабораторных животных.

Патогенетическая роль сибиреязвенного токсина в развитии сибиреязвенной инфекции в настоящее время до конца не выяснена. Большинство учёных считают, что сибиреязвенный токсин вызывает бактериально-токсический шок, что и приводит к гибели макроорганизма. Однако существуют и другие мнения: отсутствие почечных

нарушений после введения токсина приматам даёт основание для отказа от предположения о вторичном шоке, как причине гибели при сибирской язве. Большинство изменений, выявленных при летальных случаях, позволяет заключить, что основным проявлением патологического процесса является специфическая интоксикация, для которой характерны повышенная проницаемость кровеносных сосудов и нарушения гемодинамики. Изменения при сибиреязвенной инфекции затрагивают и красный костный мозг, который является центральным гемопоэтическим органом, обеспечивающим поддержание процессов кроветворения и иммунной защиты. При патологических процессах изменяется характер нейрогуморального влияния на кроветворение. Токсины, продукты распада и метаболизма бактерий, специфические антитела воздействуют на гемопоэтическую систему [9, 10].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Сравнительный анализ популяционного состава клеток костного мозга и периферической крови экспериментальных животных, инфицированных *B. anthracis* с разным плазмидным профилем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали четыре штамма *B. anthracis* из музея живых культур ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора: *B. anthracis* И-275 (рХ01-/рХ02⁻), *B. anthracis* И-323 (рХ01-/рХ02⁻), *B. anthracis* И-217 (рХ01+/рХ02⁻) и вакцинный аттенуированный штамм *B. anthracis* 34F₂ Stern (рХ01+/рХ02⁻) [10].

Исследование проводили на 260 сертифицированных беспородных белых мышах (НПО «Вектор») обоего пола, массой 18–20 г. Работа с животными проводилась в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, и «Правил надлежащей лабораторной практики», утверждённых приказом Министерства здравоохранения № 199н от 01.04.2016 г. Животные были разделены на четыре опытных группы (по 60 особей) и контрольную (20 особей). Белых мышей опытных групп инфицировали спорами культур *B. anthracis* однократно подкожно в область правого бедра в объёме 0,5 мл в дозе ЛД₅₀. Контрольной группе животных в том же объёме вводили изотонический раствор хлорида натрия, рН 7,2. Мышей выводили из эксперимента под наркозом на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки с момента заражения.

Показатель бактериемии оценивали посевом материала (кровь из сердца) на мясопептонном агаре с последующей идентификацией выделенной культуры. Кровь прижизненно забирали из хвостовой вены. Для исследования миелограммы костный мозг извлекали их проксимального отдела бедренной кости. Приготовленные мазки крови и костного мозга фиксировали 30 минут в 96%-ном спирте, содержащем 3 % H₂O₂. Фиксированные мазки костного мозга окрашивали по Романовскому – Гимзе [11]. Мазки крови окрашивали по Романовскому – Гимзе и по методу Фрейфельда

(выявление токсической зернистости). Степень выраженности патологической зернистости определяли у 100 нейтрофилов и выражали в процентном соотношении. При подсчёте не менее 500 клеток в мазках красного костного мозга определяли их процентное содержание. Отдельно считались клетки эритро- и лейкопоэза, гранулоцитарного и моноцитарного ростков. Рассчитывали индекс созревания нейтрофилов (ИСН) [11]. Автоматический анализ изображения производили с помощью светового микроскопа «Zeiss» (Германия) с видеокамерой «Levenhuk». С помощью компьютерных программ «Motic Images Plus» (версия 2) и «AxioVision Rel. 4,8» (при увеличении окуляра – 10, объектива – 10). Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью компьютерной программы «Статистика», версия 6 (Новосибирск) с использованием t-Стьюдента с поправкой Бонферрони, достоверными различиями считали при уровне значимости $p < 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При сравнении показателей миелограммы животных, инфицированных *B. anthracis* 34F₂ Stern (pXO1⁺/pXO2⁻), установлено, что на 3-и сутки исследования отмечалось увеличение числа бластных клеток в 1,8 раза и увеличение молодых форм гранулоцитарного ростка: миелоцитов – в 1,5 раза, метамиелоцитов – в 1,4 раза по сравнению с контролем. Отношение процентного содержания молодых клеток гранулоцитарного ряда к процентному содержанию зрелых гранулоцитов в контрольной группе – $0,51 \pm 0,03$ у.е.

Отмечено снижение показателя содержания сегментоядерных нейтрофилов, а ИСН в этом случае составил $1,06 \pm 0,05$ у.е., что в 2,0 раза выше данного показателя у животных контрольной группы (рис. 1). Установлено статистически значимое повышение ИСН у животных, инфицированных *B. anthracis* И-217, на 7-е и 14-е сутки при сравнении с другими штаммами *B. anthracis* ($p < 0,01$). Также показано, что уровень этого показателя в группе животных, инфицированных *B. anthracis* И-323, во все сроки наблюдения был достоверно ниже, чем в случае применения *B. anthracis* И-217 ($p < 0,01$).

Кроме того, количество зрелых лимфоцитов по сравнению с контролем также уменьшилось в 1,5 раза, что возможно связано с усилением оттока клеток в

иммунокомпетентные органы как ответной реакцией организма на введение культуры. Выявлена клеточная пролиферация моноцитарного ростка костномозгового пула (рис. 2), в основном за счёт моноцитов, количество которых превышало показатели в контроле в 1,9 раза.

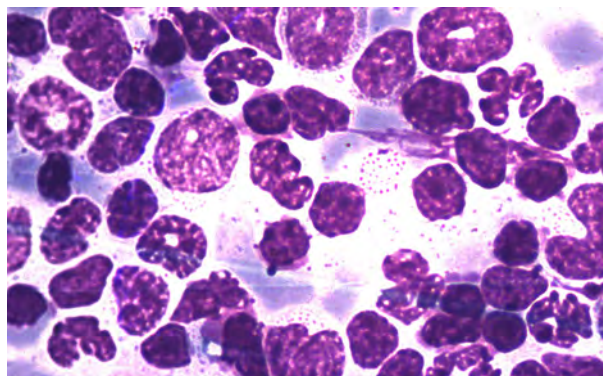


Рис. 2. Клетки моноцитарного ростка. Красный костный мозг белой мыши, инфицированной *B. anthracis* 34F₂ Stern (3-и сутки). Окраска по Романовскому – Гимзе. Увеличение окуляра – 100, увеличение объектива – 10.

Fig. 2. Monocyte lineage cells. Red marrow of a white mouse infected with *B. anthracis* 34F₂ Stern (Day 3). Romanovsky – Giemsa staining. Ocular magnification – 100, objective magnification – 10.

На 3–7-е сутки исследования отмечалось увеличение эозинофильных клеток с ярко выраженной эозинофильной грануляцией. Кроме того, на 7-е сутки их число в 2,2 раза превосходило показатель в контрольной группе, что может указывать на аллергическую реакцию организма. К 14-м суткам количество плазматических клеток в 2,5 раза превышало значения в контрольной группе. К 21-м суткам исследования миелограмма опытных мышей соответствовала показателям в контрольной группе. Показатель лейко-эритроцитарного соотношения во все сроки наблюдения не превышал контрольных (рис. 3).

У опытных животных количество клеток эритроидного ряда, созревающих до стадии эритроцита, на 3-и сутки незначительно увеличивалось и достигало максимального значения к 7-м суткам ($23,1 \pm 3,2$ %) с последующим снижением до показателей в контроле ($21,6 \pm 2,7$ %).

В лейкограмме периферической крови белых мышей, инфицированных *B. anthracis* 34F₂ Stern, на 3-и сутки

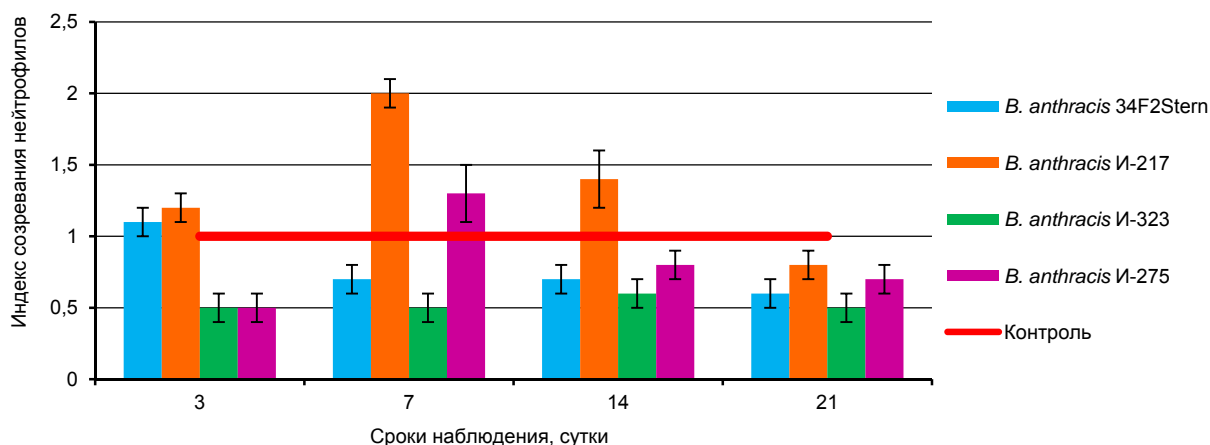


Рис. 1. Индекс созревания нейтрофилов красного костного мозга мышей, инфицированных *B. anthracis* разных генотипов.

Fig. 1. Maturation index of red marrow neutrophils of mice infected with *B. anthracis* of different genotypes.

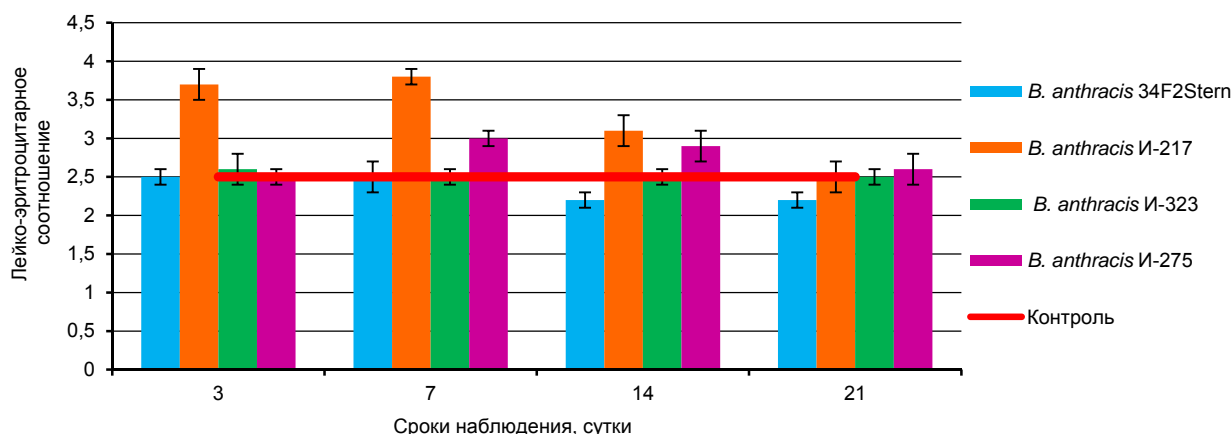


Рис. 3. Показатель лейко-эритроцитарного соотношения клеток красного костного мозга мышей, инфицированных *B. anthracis* разных генотипов.

Fig. 3. The indicator of the leuco-erythrocytic correlation of red marrow cells of mice infected with *B. anthracis* of different genotypes.

регистрировалось статистически значимое повышение содержания палочкоядерных нейтрофилов в 3,3 раза по сравнению с показателями в контрольной группе. Отмечено повышение количества клеток моноцитарного ряда в среднем 3,5 раза по сравнению с контролем за счёт снижения количества сегментоядерных нейтрофилов. Появление молодых форм клеток можно расценивать как активизацию гранулоцитарного роста гемопоэза, а увеличение моноцитов – как иммунологическую перестройку макроорганизма. На 7-е сутки сохранялось повышенное содержание моноцитов (в 2,9 раза) и незначительное увеличение сегментоядерных нейтрофилов по сравнению с контролем. На более поздние сроки исследования показатели лейкограммы опытных животных находились в пределах контрольных значений. Также можно отметить, что показатель лейко-эритроцитарного соотношения клеток красного костного мозга мышей, инфицированных *B. anthracis* И-217, на 3-и и 7-е сутки статистически значимо выше, чем в случаях с другими штаммами ($p < 0,01$).

При бактериологическом исследовании материала (кровь, лимфатические узлы, лёгкое, селезёнка, печень и головной мозг) рост *B. anthracis* наблюдался только из регионарного лимфатического узла, взятого на 3–7-е сутки исследования.

Токсическая зернистость нейтрофилов является важным прогностическим признаком в оценке инфекционного процесса как ответная реакция организма на патологический процесс. В норме нейтрофильный гранулоцит не содержит включения, при инфекционных заболеваниях происходит коагуляция белковых соединений в нейтрофиле, которые присоединяются к зёрнам клеток, что и приводит к образованию токсической зернистости нейтрофилов. В крови животных, инфицированных *B. anthracis* 34F₂, регистрировалась токсическая зернистость в 25 % случаев на 3-и и в 17 % – на 7-е сутки.

У животных, инфицированных *B. anthracis* И-217 (pXO1⁺/pXO2⁻), изменения в периферической крови носили более выраженный характер. Во все сроки исследования регистрировалась лимфопения со сдвигом лейкоцитарной формулы влево (метамиелоциты – 3–4 %, палочкоядерные нейтрофилы – 6–9 %, сегментоядерные нейтрофилы – 51–71 %, моноциты – 6–11 %, лимфоциты – 12–33 %). Следует заметить, что повышение числа

нейтрофилов и молодых форм клеток наблюдается при интоксикациях и острых воспалительных процессах. Выявлены клетки раздражения. Токсическая зернистость нейтрофилов у большинства животных имела место на 3-и сутки, а на 7-е сутки морфологические изменения выявлялись более чем у 70 % нейтрофилов. Данные изменения указывают на инфекционный процесс, что подтверждается выделением культуры из материала, взятого на бактериологическое исследование. На 21-е сутки количество нейтрофилов с токсической зернистостью уменьшалось, что свидетельствует о положительной динамике инфекционного процесса у опытных животных.

У животных, инфицированных *B. anthracis* И-217, установлено снижение в 2,0 раза в миелограмме количества бластных клеток на 3-и сутки исследования с последующим незначительным повышением. Отмечено статистически значимое увеличение количества молодых клеток гранулоцитарного роста костномозгового пула во все сроки наблюдения (промиелоциты – от 1,4 до 2,4, миелоциты – от 1,2 до 1,8, метамиелоциты – от 1,2 до 1,7 раза), что, возможно, указывает на интоксикацию (рис. 4).

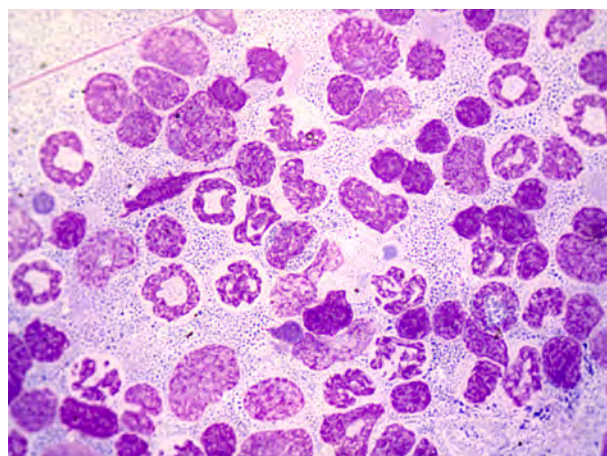


Рис. 4. Митоз. Красный костный мозг белой мыши, инфицированной *B. anthracis* И-217, (7-е сутки). Окраска по Романовскому – Гимзе. Увеличение окуляра – 100, увеличение объектива – 10.

Fig. 4. Mitosis. Red marrow of a white mouse infected with *B. anthracis* I-217 (Day 7). Romanowsky – Giemsa staining. Ocular magnification – 100, objective magnification – 10.

При этом количество зрелых клеток гранулоцитарного роста на 3–14-е сутки было в среднем в два раза меньше, чем в контроле. К 21-м суткам исследования количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов заметно увеличивалось, приближаясь к значениям в контроле. ИСН во все сроки наблюдения был выше значений в контрольной группе, а максимальное значение отмечалось на 7-е сутки, в 3,4 раза превышая значения контрольных (рис. 1). Лейко-эритроцитарное соотношение во все сроки исследования превышало значение в контроле (рис. 3), что свидетельствует о гиперплазии клеток лейкопоза, характерной при инфекционном процессе и интоксикации.

Характерной особенностью сибиреязвенной инфекции является нарушение гемодинамики (внутрисосудистый гемолиз), причиной которой является воздействие токсических факторов сибиреязвенного микроба на мембраны эритроцитов, что приводит в дальнейшем к их разрушению. Тем не менее, выраженного изменения в эритроцитарном росте костномозгового пула не выявлено. Синусоидные кровеносные капилляры расширены, кровенаполнены. У части животных на отдалённых сроках наблюдается увеличение количества адипоцитов, что указывает на гибель клеток гемоцитопоэза и замещение красного костного мозга на жёлтый (рис. 5).

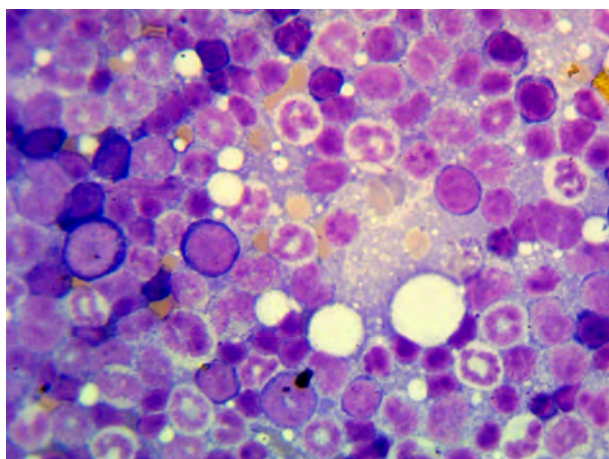


Рис. 5. Разрастание жировой ткани. Красный костный мозг белой мыши, инфицированной *B. anthracis* I-217 (21-е сутки). Окраска по Романовскому – Гимзе. Увеличение окуляра – 100, увеличение объектива – 10.

Fig. 5. Enlargement of adipose tissue. Red marrow of a white mouse infected with *B. anthracis* I-217 (Day 21). Romanowsky – Giemsa staining. Ocular magnification – 100, objective magnification – 10.

B. anthracis 34F₂ Stern (pXO1⁺/pXO2⁻) является вакцинным штаммом, обладающим остаточной вирулентностью, что при больших дозах может привести к гибели белых мышей.

Несмотря на то, что штаммы *B. anthracis* I-323 и *B. anthracis* I-275 являются бесплазмидными (pXO1⁻/pXO2⁻), тем не менее, показатели миелограммы и лейкограммы белых мышей имеют некоторые отличия между собой. Так, у белых мышей, инфицированных *B. anthracis* I-323, клеточный состав красного костного мозга и периферической крови во все сроки наблюдения не отличался от значений в контрольной группе.

У животных, инфицированных *B. anthracis* I-275, в периферической крови на 3–7-е сутки исследования выявлен моноцитоз и увеличение количества молодых форм клеток. Токсическая зернистость выявлялась на 3–7-е сутки.

В миелограмме животных, инфицированных *B. anthracis* I-275, статистически значимые изменения отмечались на 7-е сутки исследования. ИСН превышал в 2,6 раза значения в контроле (рис. 1). Выявлено увеличение содержания плазматических клеток и уменьшение количества зрелых лимфоцитов на 14–21-е сутки. Вместе с тем, лейко-эритробластическое соотношение во все сроки наблюдения соответствовало значению в контроле (рис. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, отсутствие плазмид (pXO1⁻/pXO2⁻) у штаммов *B. anthracis* приводит к снижению или полной утрате их вирулентности для лабораторных животных. Выявленные изменения в красном костном мозге и периферической крови белых мышей, инфицированных штаммами *B. anthracis* с разным набором плазмид, существенно отличаются по ИСН и клеточному составу красного костного мозга. Полученные данные дают основания предположить, что выявленные различия изменений периферической крови и красного костного мозга экспериментальных животных могут быть связаны не только с плазмидным профилем исследованных штаммов, но и с особенностями их ферментативной активности, способности к адгезии и другими факторами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попова А.Ю., Демина Ю.В., Плоскирева А.А., Горячева Л.Г., Лапенко И.В., Малеев В.В. Клинические особенности сибирской язвы в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 году. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; (1): 77-83. doi: 10.21055/0370-1069-2017-1-77-83
2. Тайчиев И.Т., Жолдошев С.Т. Клинико-эпидемиологическая характеристика сибирской язвы в современных условиях. *Успехи современного естествознания*. 2014; (7): 20-26.
3. Онищенко Г.Г. *Сибирская язва: актуальные аспекты микробиологии, эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики*. М.: ВУН МЦ Минздрава России; 1999.
4. Triantafyllou M, Uddin A, Maher S, Charalambous N, Hamm TSC, Alsumati A, et al. Anthrax toxin evades Toll-like receptor recognition, whereas its cell wall components trigger activation via TLR2/6 heterodimers. *Cellular Microbiology*. 2007; 9(12): 2880-2892. doi: 10.1111/j.1462-5822.2007.01003.x
5. Weiss S, Levy H, Fisher M, Kobiler D, Altboum Z. Involvement of TLR2 in innate immune response to *Bacillus anthracis* infection. *Innate Immun*. 2009; 15(1): 43-51. doi: 10.1177/1753425908100379
6. Попова П.Ю., Микшис Н.И., Щуковская Т.Н., Попов Ю.А. Взаимодействие возбудителя сибирской язвы с паттерн-распознающими рецепторами врожденного и адаптивного иммунитета. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2011; 4(110): 12-17. doi: 10.21055/0370-1069-2011-4(110)-12-17
7. Zakharova MYu, Kozyr AV, Ignatova AN, Vinnikov IA, Shemyakin IG, Kolesnikov AV. Purification of filamentous bacteriophage for phage display using size-exclusion chromatography. *Biotechniques*. 2005; 38(2): 194-198. doi: 10.2144/05382BM04
8. Mock M, Fouet A. Anthrax. *Annu Rev Microbiol*. 2001; 55: 647-671. doi: 10.1146/annurev.micro.55.1.647
9. Шишкова Н.А., Тюрин Е.А., Дятлов И.А., Мокриевич А.Н. Современное состояние проблемы сибирской язвы. *Бактериология*. 2017; 2(3): С. 33-40. doi: 10.20953/2500-1027-2017-3-33-40
10. Кравец Е.В., Дугаржапова З.Ф., Такайшвили В.Е., Иванова Т.А., Чеснокова М.В., Балахонов С.В. Изучение биологических и молекулярно-генетических свойств штаммов *Bacillus anthracis*, изолированных на территории Сибири и Дальнего Востока (1959 – 2013 гг.). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; (3): 54-59. doi: 10.21055/0370-1069-2018-3-54-59
11. Меньшиков В.В. (ред.) *Лабораторные методы исследования в клинике*. Справочник. М.: Медицина; 1987.

REFERENCES

1. Popova AYu, Demina YuV, Ploskireva AA, Goryacheva LG, Lapenko IV, Maleev VV. Clinical features of anthrax manifestations in Yamalo-Nenets autonomous district in 2016. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2017; (1): 77-83. doi: 10.21055/0370-1069-2017-1-77-83 (In Russ.)
2. Taichiev IT, Ioldoshev ST. Clinico-epidemiological characteristics of anthrax in modern conditions. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2014; (7): 20-26. (In Russ.)
3. Onishchenko GG. *Anthrax: modern aspects of microbiology, epidemiology, clinics, diagnostics, treatment and prophylaxis*. Moscow: VU MC Minzdrava Rossii; 1999. (In Russ.)
4. Triantafyllou M, Uddin A, Maher S, Charalambous N, Hamm TSC, Alsumati A, et al. Anthrax toxin evades Toll-like receptor recognition, whereas its cell wall components trigger activation via TLR2/6 heterodimers. *Cellular Microbiology*. 2007; 9(12): 2880-2892. doi: 10.1111/j.1462-5822.2007.01003.x
5. Weiss S, Levy H, Fisher M, Kobiler D, Altboum Z. Involvement of TLR2 in innate immune response to Bacillus anthracis infection. *Innate Immun*. 2009; 15(1): 43-51. doi: 10.1177/1753425908100379
6. Popova PYu, Mikshis NI, Shchukovskaya TN, Popov YuA. Interaction between Bacillus anthracis and Pattern-Recognizing Receptors of Innate and Adaptive Immunity. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2011; 4(110): 12-17. doi: 10.21055/0370-1069-2011-4(110)-12-17 (In Russ.)
7. Zakharova MYu, Kozyr AV, Ignatova AN, Vinnikov IA, Shemyakin IG, Kolesnikov AV. Purification of filamentous bacteriophage for phage display using size-exclusion chromatography. *Biotechniques*. 2005; 38(2): 194-198. doi: 10.2144/05382BM04
8. Mock M, Fouet A. Anthrax. *Annu Rev Microbiol*. 2001; 55: 647-671. doi: 10.1146/annurev.micro.55.1.647
9. Shishkova NA, Tiurin EA, Dyatlov IA, Mokrievich AN. Current state of the anthrax problem. *Bakteriologiya*. 2017; 2(3): 33-40. doi: 10.20953/2500-1027-2017-3-33-40. (In Russ.)
10. Kravets EV, Dugarzhapova ZF, Takaishvili VE, Ivanova TA, Chesnokova MV, Balakhonov SV. Biological and molecular-genetic properties of Bacillus anthracis strains in Siberia and Far East regions (1959–2013). *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2018; (3): 54-59. doi: 10.21055/0370-1069-2018-3-54-59 (In Russ.)
11. Menshikov VV (ed.). *Laboratory methods of testing in clinic. A guide book*. Moscow: Meditsina; 1987. (In Russ.)

Сведения об авторах

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Старовойтова Татьяна Пантелеевна – научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0952-8755>

Кравец Елена Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории сибирской язвы отдела эпидемиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7194-6413>, Scopus ID: 56245849700

Иванова Татьяна Александровна – заведующая лабораторией экспериментальных животных, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6016-9610>

Дугаржапова Зоригма Фёдоровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории сибирской язвы отдела эпидемиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5315-479>, Researcher ID: H-5562-2018, Scopus ID: 56245282700

Гаврилова Ольга Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8349-2431>

Шкаруба Татьяна Тимофеевна – научный сотрудник отдела научного и учебно-методического обеспечения, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3795-3687>

Балахонov Сергей Владимирович – доктор медицинских наук профессор, директор, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора. e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>, Scopus ID: 6602291694

Information about the authors

Valentina I. Dubrovina – Dr. Sc. (Biol.), Head of Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадzor, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Tatyana P. Starovoitova – Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0952-8755>

Elena V. Kravets – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer of the Epidemiology Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7194-6413>, Scopus ID: 56245849700

Tatyana A. Ivanova – Head of the Laboratory of Experimental Animals, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6017-9610>

Zorigma F. Dugarzhapova – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer of the Epidemiology Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5315-479>, Researcher ID: H-5562-2018, Scopus ID: 56245282700

Gavrilova Olga Vladimirovna – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer of the Department of the Specialists' Advanced Training, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8349-2431>

Tatyana T. Shkaruba – Research Officer of the Department of Scientific and Educational-Methodical Support, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3795-3687>

Sergey V. Balakhonov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>, Scopus ID: 6602291694

Вклад авторов

Дубровина Валентина Ивановна – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи.

Старовойтова Татьяна Пантелеевна – проведение эксперимента, постановка реакций, учёт и анализ результатов.

Кравец Елена Владимировна – моделирование экспериментальной сибирской язвы на лабораторных животных Ивановна Татьяна Александровна – планирование эксперимента, инфицирование животных, учёт и анализ результатов.

Дугаржапова Зоригма Фёдоровна – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи.

Гаврилова Ольга Владимировна – постановка реакций, учёт результатов.

Шкаруба Татьяна Тимофеевна – планирование эксперимента, анализ результатов, оформление статьи.

Балахонov Сергей Владимирович – анализ полученных данных, перевод отдельных разделов статьи на английский язык.

Балахонov Сергей Владимирович – планирование научной темы, оформление статьи.

Статья получена: 05.11.2019. Статья принята: 23.01.2020. Статья опубликована: 26.02.2020.

Received: 05.11.2019. Accepted: 23.01.2020. Published: 26.02.2020.