

УДК 579.62

Габалов К.П., Видягина О.С., Рюмина М.В., Тарасенко Т.Н., Староверов С.А., Волков А.А., Енгашев С.В., Малинин М.Л.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА В КАЧЕСТВЕ НАНОНОСИТЕЛЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ И АНТИГЕНОВ НА ПРИМЕРЕ АДЬЮВАНТА ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ЖИВОТНЫХ ПРОТИВ КОЛИБАКТЕРИОЗА

Работа выполнена в рамках программы ФНИ  
(государственное задание № 0755-2015-0002)

**Ключевые слова:** *Escherichiacoli*, антиген, коллоидный селен, протективность

**Резюме:** Данная научно-исследовательская работа посвящена изучению возможности использования наночастиц селена в качестве наноносителя лекарственных веществ и антигенов на примере создания адьюванта при иммунизации животных против колибактериоза. В работе было выполнено конструирование иммунизирующих конструкций на основе селеновых коллоидов экстрацеллюлярных и цельноклеточных антигенов вакцинного штамма *Escherichiacoli* Б-5 и проведено изучение протективности иммунизации данными препаратами на лабораторных животных. Для иммунизации использовали нелинейных белых мышей и морских свинок. Иммунизировали внутривентриально, двукратно, с интервалом в 1 неделю. Через неделю после второй иммунизации животным вводили LD 100 *E.coli* Б-5, смертность в группах учитывали в течение 5 дней. Опыт по иммунизации проводили в 4-х повторениях. По итогам проведённой работы было выяснено, что коллоидный селен, как адьювант, стимулирует антителиобразование против компонентов бактериальной клетки (липопротеидов внешних мембран, жгутиков, живых клеток *E.coli*) и против гемолизина её культуральной жидкости. Сыворотка крови после иммунизации теряет свои ростовые свойства. Также достоверно установлено, что иммунизированные селеновыми конструкциями животные показывают более высокую выживаемость по сравнению с контрольной группой, вакцинированной убитой культурой при заражении летальной дозой для интактных животных.

### Введение

Коллибактериоз – остро протекающая инфекционная болезнь молодняка сельскохозяйственных животных и птицы, представляет серьёзную эпизоотологическую проблему [1]. Вирулентные *E. coli* вызывают тяжёлые, часто необратимые изменения в организме хозяина, часто приводящие к летальному исходу [2,3].

Вирулентность кишечной палочки связана, прежде всего, с наличием у нее эндо- и экзотоксинов, обуславливающих сильную интоксикацию макроорганизма, и адгезинов, способствующих успешной колонизации тканей [4,5]. Способность *Escherichia coli* вызывать тяжёлые генерализованные формы инфекции создает необходимость разработки эффективных и безопасных профилактических вакцинных препаратов. Усилению иммуногенности вакцин способствует применение адьювантов [6]. На данный момент известно несколько адьювантных препаратов про-

тив различных инфекционных заболеваний животных и человека, но ни один из них не обеспечивает 100% защиты [78].

В настоящее время в качестве адьювантов используются наночастицы серебра, золота и другие вещества различной химической природы, однако проведённые нами исследования и полученные нами научные данные позволяют утверждать, что наночастицы селена также обладают хорошими адьювантными свойствами. Также имеются работы, которые рассматривают возможность использования наночастиц Se (SeNPs) как потенциальных перевозчиков биоактивных веществ и антигенов из-за хорошо «настраиваемой» поливалентной структуры их поверхности [9, 10].

На сегодняшний день коллоидный селен используется в ветеринарии в основном лишь в качестве кормовой добавки для профилактики и лечения микроэлементозов [11, 12]. Поэтому, конструиру-

вание и применение новых адъювантных вакцин на основе наночастиц коллоидного селена, обеспечивающих нейтрализацию токсинов эшерихий, является одним из наиболее актуальных и перспективных научных направлений в аспекте предупреждения и ликвидации заболевания.

Целью данной работы было получение иммунизирующих препаратов на основе целых клеток, экстрацеллюлярных антигенов вакцинного штамма *Escherichiacoli* Б-5 и его поверхностных структур, связанных с наночастицами селена и исследование протективного эффекта данных препаратов при внутрибрюшинной иммунизации животных.

В задачи исследования входило:

1. Получить селеновые коллоиды клеток и белков культуральной жидкости вакцинного штамма *Escherichiacoli* Б-5 в процессе его культивирования на среде 199 и на селенитовом бульоне в присутствии селенита натрия.

2. Провести внутрибрюшинную иммунизацию лабораторных животных (белых мышей и морских свинок) данными препаратами в сравнении с иммунизацией убитой прогреванием культурой кишечной палочки.

3. Исследовать иммунологические показатели сыворотки крови экспериментальных животных, оценить адъювантные свойства коллоидного селена и протективность иммунизации в модели летального для интактных животных заражения.

#### Материалы и методы исследований

В экспериментах использовали вакцинный штамм *Escherichiacoli* Б-5. В качестве иммунизирующих конструкций применяли селеновые коллоиды антигенов кишечной палочки, культивируемой на среде 199 и на селенитовом бульоне в сравнении с убитой прогреванием культурой *E.coli* Б-5. Животные контрольных групп получали физиологический раствор.

Клетки от культуральной жидкости (КЖ) кишечной палочки отделяли центрифугированием (4000 г, 15 мин). Спектрофотометрически определяли концентрацию общего белка КЖ (при 340 нм) и концентрацию колониеобразующих единиц (КОЕ) в культуре (при 600 нм) [13, 14].

Для иммунизации брали нелинейных белых мышей и морских свинок. Иммунизировали внутрибрюшинно, двукратно, с интервалом в 1 неделю. Через неделю после второй иммунизации животным вводили LD 100 *E.coli* Б-5, смертность в группах

учитывали в течение 5 дней. Опыт по иммунизации проводили в 4-х повторениях.

Предварительно от белых мышей, схожих с экспериментальными по половозрастной категории, но не участвовавших в исследованиях, и от подопытных морских свинок получали сыворотку крови, определяли ее иммунологические свойства в отношении различных антигенов *E. coli* Б-5 (липопротеиды внешних мембран, жгутики, белки культуральной жидкости, живые клетки *E.coli* Б-5).

Белки КЖ получали методом осаждения 96° этиловым спиртом; жгутики – центрифугированием суспензии клеток кишечной палочки при 3000 об. в течение 15 мин; липопротеиды внешних мембран выделяли по стандартной методике [15].

Наличие антител к экстрацеллюлярным антигенам определяли методом преципитации: к 10 мкл антигена добавляли 90 мкл буферного разведения исследуемой сыворотки крови (60 мкл декомплементированной при температуре +56°С в течение 10 мин сыворотки крови разведено в 480 мкл буфера), измеряли ОП 340 нм немедленно и через 10 мин инкубации при комнатной температуре.

Концентрацию антител определяли по формуле, г/л:

$$[AT] = ((6084,9 * (ОП340_{10 \text{ минут}} - ОП340_{исходная}) - 16,135) / 1000) * 10$$

Определение агглютининов против клеток *E.coli* Б-5 проводили по следующей методике: к аликвотам иммунной сыворотки крови подопытных животных на предметном стекле добавляли равный объем суспензии клеток *E.coli* Б-5 (100 млн./мл) со свежей агаровой культуры, инкубировали при комнатной температуре 3 минуты, учет преципитации вели микроскопически при 100х, реакцию оценивали в крестах.

Определение антител, инактивирующих гемолизины кишечной палочки, проводили путём суспендирования 1% суспензии эритроцитов кролика на физиологическом растворе в декомплементированной сыворотке крови в присутствии культуральной жидкости кишечной палочки. Инкубировали 30 мин при температуре +37°С, осаждали эритроциты центрифугированием (1,4 г, 15 мин), определяли ОП (541) супернатантов. В качестве контроля полного гемолиза использовали разрушенные замораживанием/оттаиванием эритроциты кролика в соответствующей культуральной жидкости.

Также оценивали ростовые свойства сыворотки крови иммунизированных жи-

вотных в сравнении с интактными по схеме: образцы сыворотки крови инокулировали клетками *E. coli* Б-5 до конечной плотности 50 млн КОЕ/мл, полученные культуры инкубировали 6 ч при 37°C. Скорость роста культур определяли как превышение оптической плотности при 600 нм (ОП600) каждый час над исходной ОП600 в течение 6 часов.

Селеновые коллоиды готовили двумя способам:

**А)** селеновые коллоиды антигенов клеток и КЖ *E. coli* Б-5, культивируемой на среде 199:

5 мл КЖ *E. coli* Б-5 смешивали с 3 мл 25 мМ селенистой кислоты. К смесям добавляли 120 мкл 30% тиосульфата натрия, инкубировали 3 часа при 37°C, восстанавливая селенистую кислоту в коллоид. В качестве контроля, не несущего белки, вместо КЖ использовали 199 среду, получая в ней коллоиды селена по той же схеме.

Клетки *E. coli* Б-5, связанные с коллоидами селена, получали восстановлением селенистой кислоты под воздействием тиосульфата натрия. Осадок клеток (3 млрд./мл) суспендировали в 1 мл 25 мМ селени-

стой кислоты, устанавливали рН7 с помощью 1М гидроксида натрия, добавляли 200 мкл свежей среды 199, инкубировали 3 часа при 37°C, вносили 100 мкл 30% тиосульфата натрия, инкубировали еще 1 час при 37°C. Полученные клетки и КЖ, меченные селеном, до использования хранились при температуре - 20°C.

**Б)** селеновые коллоиды антигенов *E. coli* Б-5, культивируемой на селенитовом бульоне:

10 мл селенитового бульона инокулировали 1 млрд. КОЕ *E. coli* Б-5, инкубировали (37°C, 18 часов). В культуру вносили 30% тиосульфат натрия до конечной концентрации 1,2%, дополнительно инкубировали 2-3 часа при 37°C. До использования культуру хранили при температуре - 20°C.

Для статистической обработки данных применяли t-критерий Стьюдента, коэффициент корреляции Пирсона [16].

### Результаты и обсуждение

На рисунке 1 представлена электронная микроскопия мазков из суспензии селеновых коллоидов клеток *E. coli* Б-5.

На данной электромикротографии

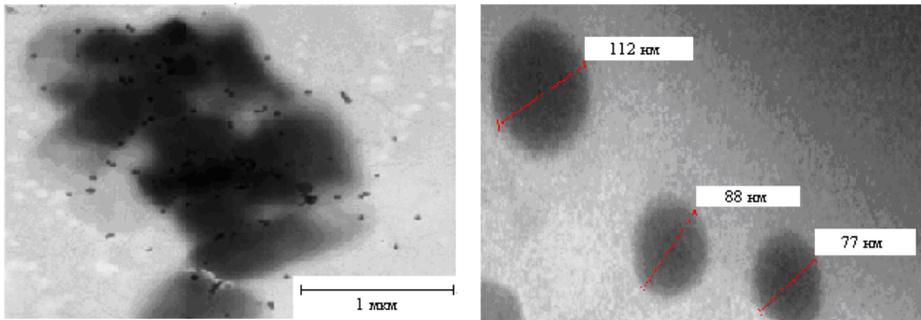


Рис. 1. Селеновые коллоиды клеток

видны множественные гранулы, расположенные вокруг клетки кишечной палочки – коллоиды селена, восстановленного на бактериальной мембране и в КЖ. Их размер составляет 77-112 нм.

Было проведено спектрофотометрическое исследование концентрации белка КЖ до и после восстановления селена, которое представлено в табл. 1.

Концентрация белка в КЖ кишечной

Таблица 1. Степень вхождения белка в коллоид

	КЖ культур со среды 199
Вошло белка в коллоид, мг/мл	0,313 ± 0,086
Содержание белка в супернатанте после осаждения коллоида, мг/мл	0,013 ± 0,023
Расчетная концентрация белка в коллоидной системе, мг/мл	0,326 ± 0,103
% вхождения белка в коллоид	96

палочки со среды 199 составила 0,326 мг/мл. После внесения в КЖ селенистой кислоты и тиосульфата натрия и центрифугирования полученной смеси концентрация свободного белка в супернатанте была равна 0,023. Значит, белок КЖ вошёл в состав коллоида на 96%.

Концентрация белка в селенитовом бульоне составила 0,50±0,190 мг/мл, в убитой прогреванием культуре 0,48±0,106 мг/мл.

Опыт по иммунизации проводили в 4-х повторениях: формировали 4 группы белых нелинейных мышей и 4 группы морских свинок, по 6, 8, 10 и 12 голов в каждой группе соответственно для каждого повторения.

Мышей иммунизировали внутрибрюшинно, двукратно, с интервалом в 1 неделю, из расчета 50 мкл (1-я иммунизация) и 100мкл (2-я иммунизация) на 20 г живого веса. Доза культуры клеток *E.coli* Б-5 в препарате составляла 1 млрд. клеток/мл.

Морских свинок иммунизировали внутрибрюшинно и перорально, по 0,5 мл на 400 г живого веса, двукратно с интервалом в неделю. Доза в случае селенитовой культуры составляла 150 млн. клеток *E. coli* Б-5 в 0,5 мл среды; в случае нативной культуры – 300 млн. клеток *E. coli* Б-5 в 0,5 мл среды.

Было сформировано 4 группы животных. Животные группы 1 были иммунизированы селеновыми коллоидами антигенов кишечной палочки, культивируемой на среде 199; группа 2 – селеновыми коллоидами антигенов кишечной палочки, культивируемой на селенитовом бульоне; группа 3 – убитой прогреванием культурой *E.coli* Б-5. Животные контрольных групп получали физиологический раствор (группа 4).

Через неделю после второй иммунизации животным была введена ЛД100 *E. coli* Б-5, смертность в группах учитывали в течение 5 дней (табл. 2).

**Таблица 2. Выживаемость животных**

Показатели	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Выживаемость белых мышей, %	66	66	33	0
Выживаемость морских свинок, %	75	75	33	50

Животные опытных групп показали высокий процент выживаемости: для белых мышей она составила 66%, для морских свинок – 75%, что соответственно в 2,0 и 2,4 раза выше уровня выживаемости животных, иммунизированных убитой культурой (33% для обоих видов животных).

Через неделю после 2-ой иммунизации от животных получали сыворотку кро-

ви, определяли ее бактериостатическую и агглютинативную активность в отношении клеток *E.coli* Б-5, концентрацию антител в реакции преципитации субклеточных фракций. Исследовали наличие антител против гемолизина *E.coli* Б-5, а присутствие её культуральной жидкости на 1% суспензии эритроцитов кролика. Данные представлены в таблицах 3, 4, 5, на рисунке 2.

**Таблица 3. Агглютинация клеток Б-5 при титре плазмы 1/40**

Животные	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Белые мыши, %	++++	++++	++++	+
Морские свинки, %	++++	++++	++++	++++

Агглютинативная активность иммунных сывороток подопытных животных выросла незначительно, однако их преципитирующая способность в отношении клеточных фракций *E.coli* Б-5 показала высокие результаты.

Преципитирующая активность образцов плазмы крови лабораторных животных, вакцинированных селенистыми коллоидами, в сравнении с образцами от животных, иммунизированных инактивиро-

ванной прогреванием культурой, была значительно выше в отношении:

- липопротеидов внешних мембран бактерий (в 17,2 (Se 199) и 4,4 (Se бульон) раза).
- белков культуральной жидкости (в 2,8 (Se 199) и 1.9 (Se бульон) раза).
- жгутиков (в 4,5 (Se 199) и 2.5 (Se бульон) раза).

При проведении статистического анализа большинство полученных результатов были достоверны, была выявлена по-

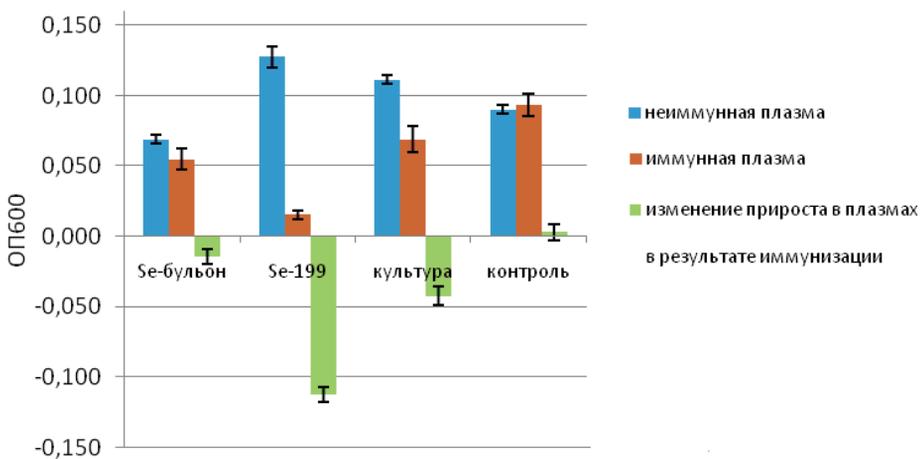
**Таблица 4. Преципитация антигенов в плазме крови иммунизированных белых мышей**

Показатели	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Концентрация антител, преципитирующих липопротеиды внешней мембраны, г/литр	<b>7,4 ± 0,447</b>	<b>1,7 ± 0,021</b>	0,4 ± 0,040	0,3 ± 0,064
Концентрация антител, преципитирующих белки КЖ, г/литр	<b>3,2 ± 0,021</b>	<b>2,2 ± 0,082</b>	<b>1,0 ± 0,021</b>	0,8 ± 0,101
Концентрация антител, преципитирующих жгутики, г/литр	<b>0,8 ± 0,021</b>	<b>0,3 ± 0,101</b>	0,1 ± 0,010	0,1 ± 0,013

Результаты, выделенные жирным шрифтом, достоверно отличаются от контроля ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 5. Процент гемолиза эритроцитов кролика, суспендированных в сыворотке крови морских свинок в присутствии КЖ кишечной палочки**

	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Гемолиз эритроцитов, %	32	31	30	47

**Рисунок 2. ОП культуры *E.coli* Б-5 в плазме крови морских свинок за 6 ч инкубации**

ложительная корреляция выживаемости подопытных животных с преципитацией липопротеидов внешних мембран *E.coli* [4, 5]; значит, протективный эффект во многом обоснован наличием антител против мембранных бактериальных антигенов.

Степень гемолиза эритроцитов изменилась незначительно, однако существенно ухудшились ростовые свойства иммунных сывороток, что отрицательно сказалось на приросте культуры *E.coli* Б-5.

#### Выводы и заключение

Полученные селеновые конструкции обладают лучшими иммунизирующими

свойствами по сравнению с инактивированной прогреванием культурой *E. coli* Б-5. Селеновый адъювант стимулирует иммунный ответ организма, что выражается в нарастании титра антител против липопротеидов внешних бактериальных мембран (в 17,2 и 4,4 раза для 1 и 2 опытных групп), белков культуральной жидкости (в 2,8 и 1,9 раза) и жгутиков кишечной палочки (в 4,5 и 2,5 раза). Использование коллоидного селена значительно (более, чем в 2 раза) повышает выживаемость животных, что также обуславливает хороший протективный эффект вакцинного препарата.

## Библиографический список:

- Куриленко А.Н. Бактериальные и вирусные болезни молодняка сельскохозяйственных животных / А.Н. Куриленко, В.Л. Крупальник, Н.В. Пименов // – М.: Колос, 2006.
- Kaper J.B. Pathogenic *Escherichia coli* / J.B. Kaper, J.P. Nataro, H.L. Mobley // *Nature Reviews Microbiology*. – 2004. – №2(2).
- Mateus Matiuzzi da Costa Virulence factors and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from urinary tract of swine in southern of Brazil / Mateus Matiuzzi da Costa, G. Drescher, F. Maboni, S. Weber, S. nia de Avila Botton, Marilene Henning Vainstein, Irene Silveira Schrank, Agueda Castagna de Vargas. // *Brazilian Journal of Microbiology*. – 2008. – №39(4).
- Hagberg L. Adhesion, hemagglutination, and virulence of *Escherichia coli* causing urinary tract infections / L. Hagberg, U. Jodal, T.K. Korhonen // *Infection and Immunity*. – 1981. – №31(2).
- Johnson J.R. Virulence Factors in *Escherichia coli* / J.R. Johnson // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2005.
- Dykman L.A. Use of a synthetic foot-and-mouth disease virus peptide conjugated to gold nanoparticles for enhancing immunological response / L.A. Dykman, S.A. Staroverov, P.V. Mezheny et al. // *Gold Bulletin*. – 2015. – Т. 47. – № 3. – P. 25.
- Малахов Ю.А. Вакцина против колибактериоза телят / Малахов Ю.А., Тугаринов О.А. – Патент РФ №1149467, 1993.
- Спирidonov Г.Н. Вакцина, ассоциированная против анаэробной энтеротоксемии и эшерихиозной диареи телят / Спирidonov Г.Н., Иванов А.А. – Патент РФ №242820, 2011.
- Козлов С.В. Конструирование коллоидного комплекса селена с лактоферрином и изучение его биодинамических свойств / С.В. Козлов и др. // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2012. – №1. – С. 27-32.
- Исаева А.Ю. Уточнение некоторых биодинамических параметров комплекса коллоидного селена конъюгированного с лактоферрином in vitro / А.Ю. Исаева, С.А. Старoverov, А.А. Волков, А.М. Субботин, С.В. Козлов // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2012. – Т. 48. – №2-2. – С. 223-225.
- Злепкин А.Ф. Влияние органического селена на развитие внутренних органов и интенсивность роста свиней / А.Ф. Злепкин, А.С. Шперов // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – 2010. – №1.
- Никулин, В.Н. Эффективность использования лактобактерий, йода и селена в рационах цыплят-бройлеров / В.Н. Никулин, Т.В. Коткова, Е.А. Милованова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2013. – №6(44).
- Bradford M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding / M.M. Bradford // *Analytical Biochemistry*. – 1976. – №72.
- Guliy O.I. Effect of sulphanilamides on the electrophysical properties of microbial cells / O.I. Guliy, V.D. Bunin, O.V. Ignatov et al. // *Anti-Infective Agents*. – 2014.
- Rawadi G. Mycoplasma membrane lipoproteins induce proinflammatory cytokines by a mechanism distinct from that of lipopolysaccharid / G. Rawadi, S. Roman-Roman // *Infection and immunity*. – 1996. – Vol. 64. – №2. – P. 637-643.
- Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990.

## References:

- Kurilenko A.N. Bakterialnyye i virusnyye bolezni molodnyaka selskokhozyaystvennykh zhivotnykh [Bacterial and viral diseases of farm animals young] / A.N. Kurilenko, V.L. Krupalnik, N.V. Pimenov // – М.: Kolos. 2006.
- 6. Vide supra.
- Malakhov Yu.A. Vaksina protiv kolibakterioza telyat [The vaccine against colibacillosis calves] / Malakhov Yu.A., Tugarinov O.A. – Patent RF №1149467, 1993.
- Spiridonov G.N. Vaksina assotsirovannaya protiv anaerobnoy enterotoksemii i esherikhioznoy diarei telyat [Vaccine associated against anaerobic enterotoxaemia and esherihioznoy diarrhea calves] / Spiridonov G.N., Ivanov A.A. – Patent RF №242820, 2011.
- Kozlov S.V. Konstruirovaniye kolloidnogo kompleksa sselena s laktoferriinom i izucheniye ego biodinamicheskikh svoystv [The construction of the complex colloidal selenium with lactoferrin and the study of its biodynamic properties] / S.V. Kozlov i dr. // Aktualnyye voprosy veterinarnoy biologii. – 2012. – №1. – С. 27-32.
- Isayeva A.Yu. Utochneniye nekotorykh biodinamicheskikh parametrov kompleksa kolloidnogo sselena konyugirovannogo s laktoferriinom in vitro [Clarification of some of the parameters of biodynamic colloidal selenium complex conjugated lactoferrin in vitro] / A.Yu. Isayeva, S.A. Staroverov, A.A. Volkov, A.M. Subbotin, S.V. Kozlov // Uchenyye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya
- Zlepkin A.F. Vliyaniye organicheskogo sselena na razvitiye vnutrennikh organov i intensivnost rosta sviney [The effect of organic selenium on the development of the internal organs and the growth rate of pigs] / A.F. Zlepkin, A.S. Shperov // *Izvestiya Nizhnevolskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vyssheye professionalnoye obrazovaniye*. – 2010. – №1.
- Nikulin, V.N. Effektivnost ispolzovaniya laktobakteriy, yoda i sselena v ratsionakh tsyplyat-broylerov [Effective use of lactic acid bacteria, iodine and selenium in the diets of broiler chickens] / V.N. Nikulin, T.V. Kotkova, E.A. Milovanova // *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. – 2013. – №6(44).
- 15. Vide supra.
- Lakin G.F. Biometriya [Biometrics] / G.F. Lakin. – М.: Vysshaya shkola. 1990.

**Gabalov K.P., Vidyagina O.S., Ryumina M.V., Tarasenko T.N., Staroverov S.A., Volkov A.A., Engashev S.V., Malinin M.L.**

**USING OF SELEN NANOPARTICLES AS CARRIER OF DRUGS AND ANTIGENS ON EXAMPLE OF ADJUVANT IN IMMUNIZATION ANIMAL AGAINST COLIBACILLOSIS**

**Key Words:** *Escherichia Coli*, antigen, colloidal selenium, protective.

**Abstract:** The work was carried out construction of immunizing designs based on selenium colloids extracellular antigens and whole cell vaccine strain *Escherichiacoli* B-5 and studied the protective immunization of these drugs in laboratory animals. For immunization using nonlinear white mice and guinea pigs. Immunized intraperitoneally twice at an interval of 1 week. After the second immunization, animals were injected with LD 100 *E.coli* B-5 mortality rate in the Group accounts for 5 days. Previous immunization was carried out in 4 repetitions. As a result of carried out work, it was found that the selenium colloid, as an adjuvant to stimulate antibody production against the components of bacterial cells (the outer membrane lipoproteins, flagella, live *E.coli* cells) against hemolysin and its culture medium. Serum after immunization loses their growth properties. Immunized animals by selenium constructs show higher survival in comparison the control group vaccinated with the killed culture after infection with a lethal dose for intact animals.

#### Сведения об авторах:

**Габалов Константин Павлович**, зав. лабораторией иммунологии ФГБНУ «Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт»; д. 6, ул. 53-й Стрелковой дивизии, г. Саратов, Россия, 6410028; тел/факс: (8452)20-08-30; e-mail: gabalov\_konstantin@mail.ru

**Видягина О.С.** аспирант ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»; д. 1, Театральная площадь, г. Саратов, Россия, 410012; e-mail: vosvosvos@mail.ru, младший научный сотрудник ФГБНУ «Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт»; д. 6, ул. 53-й Стрелковой дивизии, г. Саратов, Россия, 6410028; тел/факс: (8452)20-08-30

**Рюмина Марина Викторовна**, научный сотрудник ФГБНУ «Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт»; д. 6, ул. 53-й Стрелковой дивизии, г. Саратов, Россия, 6410028; тел/факс: (8452)20-08-30; e-mail: ryum2007@mail.ru

**Тарасенко Татьяна Николаевна**, научный сотрудник ФГБНУ «Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт»; д. 6, ул. 53-й Стрелковой дивизии, г. Саратов, Россия, 6410028; тел/факс: (8452)20-08-30; e-mail: sarnivi@mail.ru

**Староверов Сергей Александрович**, доктор биологических наук, директор ФГБНУ «Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт»; д. 6, ул. 53-й Стрелковой дивизии, г. Саратов, Россия, 6410028; тел/факс: (8452)20-08-30, тел. 8-937-251-05-09; e-mail: staroverovsergey@me.com, старший научный сотрудник института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН; д. 13, просп. Энтузиастов, г. Саратов, 410049

**Волков Алексей Анатольевич**, доктор ветеринарных наук, зам. директора по науке ФГБНУ «Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт»; д. 6, ул. 53-й Стрелковой дивизии, г. Саратов, Россия, 410028; тел/факс: (8452)20-08-30, тел. 8-917-313-11-21, e-mail: volkov-aleksei@yandex.ru, профессор ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»; д. 1, Театральная площадь, г. Саратов, 410012

**Енгашев Сергей Владимирович**, доктор ветеринарных наук, член-корреспондент РАСХН, профессор ФГБОУ ВПО «Нижегородская ГСХА»; д. 97, проспект Гагарина, г. Нижний Новгород, Россия, 603107; e-mail: sengashev@vetmag.ru

**Малинин Михаил Леонидович**, доктор биологических наук, старший научный сотрудник ФГБНУ «Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт»; д. 6, ул. 53-й Стрелковой дивизии, г. Саратов, Россия, 6410028; тел/факс: (8452)20-08-30; e-mail: sarnivi@mail.ru

#### Author affiliation:

**Gabalov Konstantin Pavlovich**, Head. Laboratory of Immunology of FSBSI «Saratov Scientific and Research Veterinary Institute» of the Russian Academy of Sciences; h. 6, 53rd Infantry Division str., Saratov city, Russia, 410028; phone/fax: (8452) 20-08-30; e-mail: gabalov\_konstantin@mail.ru

**Vidyagina O.S.**, graduate student of FSBEI HPE «Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov»; h. 1, Theatre Square, Saratov city, Russia, 410012; e-mail: vosvosvos@mail.ru, junior Researcher of FSBSI «Saratov Scientific and Research Veterinary Institute» of the Russian Academy of Sciences; h. 6, 53rd Infantry Division str., Saratov city, Russia, 410028;

phone/fax: (8452) 20-08-30

**Ryumina Marina Viktorovna**, Researcher of FSBSI «Saratov Scientific and Research Veterinary Institute» of the Russian Academy of Sciences; h. 6, 53rd Infantry Division str., Saratov city, Russia, 410028; phone/fax: (8452) 20-08-30; e-mail: ryum2007@mail.ru

**Tarassenko Tat'ana Nikolaeвна**, Researcher of FSBSI «Saratov Scientific and Research Veterinary Institute» of the Russian Academy of Sciences; h. 6, 53rd Infantry Division str., Saratov city, Russia, 410028; phone/fax: (8452) 20-08-30; e-mail: sarnivi@mail.ru

**Staroverov Sergey Alexandrovich**, D. Sc in Biology, Director of FSBSI «Saratov Scientific and Research Veterinary Institute» of the Russian Academy of Sciences; h. 6, 53rd Infantry Division str., Saratov city, Russia, 410028; phone/fax: (8452) 20-08-30, phone: 8-937-251-05-09; e-mail: staroverovsergey@me.com, Senior Research of the Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences; d. 13, ave. Enthusiasts, Saratov city, 410049

**Volkov Alexey Anatol'evich**, D. Sc in Veterinary Medicine, Deputy Director for Science of FSBSI «Saratov Scientific and Research Veterinary Institute» of the Russian Academy of Sciences; h. 6, 53rd Infantry Division str., Saratov city, Russia, 410028; phone/fax: (8452) 20-08-30, phone: 8-917-313-11-21, e-mail: volkov-aleksei@yandex.ru, professor of FSBEI HPE «Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov»; h. 1, Theatre Square, Saratov city, 410012

**Engashev Sergey Vladimirovich**, D. Sc in Veterinary Medicine, Corresponding Member of the Academy of Agricultural Sciences, Professor of Nizhny Novgorod State Agricultural Academy of FSBEI HPE; h. 97, Gagarin Avenue, Nizhny Novgorod city, Russia, 603107; e-mail: sengashev@vetmag.ru

**Malinin Mikhail Leonidovich**, D. Sc in Biology, Senior Researcher of FSBSI «Saratov Scientific and Research Veterinary Institute» of the Russian Academy of Sciences; h. 6, 53rd Infantry Division str., Saratov city, Russia, 410028; phone/fax: (8452) 20-08-30; e-mail: sarnivi@mail.ru

УДК 579.62

**Староверов С.А., Волков А.А., Ласкавый В.Н., Енгашев С.В., Меженный П.В., Фомин А.С., Козлов С.В.**

## **ИЗУЧЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЕЙ ДЛЯ АНТИГЕНА ВИРУСА ЯЩУРА**

*Работа выполнена в рамках программы ФНИ  
(государственное задание № 0755-2015-0002)*

**Ключевые слова:** вирус ящура, синтетические пептидные вакцины, наночастица селена, адъювант

**Резюме:** Ящур – острое высоко-контагиозное инфекционное заболевание домашних и диких парнокопытных животных, которое может передаваться человеку. Существующие вакцины во многих случаях не вполне эффективны. Целью настоящего исследования была оценка возможности использования наночастиц селена в качестве носителя антигена и адъюванта. Для оценки иммуногенных свойств наночастиц селена был синтезирован конъюгат наночастиц селена с синтетическим пептидом белка VP1 капсида вируса ящура. В качестве антигена для иммунизации использовали лиофилизированный коммерческий синтетический пептид 135-159 белка VP1 капсида вируса ящура (Сytokine, Russia). Пептид содержал 25 аминокислотных остатков. В качестве контроля использовали коммерческую противоящурную вакцину: «Вакцина противоящурная культуральная эмульгированная инактивированная» (ARRIAH, Russia). В экспери-