



ТЕМА НОМЕРА:

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ
БЕЗОПАСНОСТЬ И ЗАЩИТА
ОТ БИОЛОГИЧЕСКИХ УГРОЗ**

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
ФГБУ «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации

ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

Том 2, № 2

2018

ISSN 2587-5728



9 772587 572003 >

В НОМЕРЕ:

- ◆ Становление и развитие 33 ЦНИИ МО РФ
- ◆ Масштабные учения войск радиационной, химической и биологической защиты под Курском

Наша замечательная Россия

Хабаровский мост или «Амурское чудо»



Этот удивительный своей красотой и заложенными техническими решениями мост через Амур, в своем первом варианте сомкнул звенья трансибирского пути 18 октября 1916 г. Его строительство заняло три года. Мост проектировал Л.Д. Проскуряков (1858–1926) – крупнейший российский специалист своего времени по мостостроению. Длина моста 2,6 тыс. м, полная высота – 60 м, пролеты моста – по 127 м, один железнодорожный путь. Окончание строительства совпало с днем рождения наследника престола, поэтому мост назвали Алексеевским, в честь сына императора Николая II. В 1980-х гг. мост по своей пропускной способности стал «слабым звеном» Транссиба. Поэтому было принято решение построить новый мост с раздельным железнодорожным двухпутным (по нижнему ярусу) и двухполосным автомобильным (по верхнему ярусу) движением. Авторы проекта нового моста: И.А. Ляпустин, Г.Н. Степанов, А.В. Батурин. Строительство началось в 1991 г. Символический «золотой болт» затянут в июле 2008 г.

На фотографии вверху вид моста с левого берега Амура. В нижнем ряду слева – так выглядит с моста Амур вверх по течению; фотография в центре – по мосту одновременно идут автомобили и грузовые составы. Фотография справа – один из пролетов Проскурякова, оставленный в качестве музейного экспоната, стал любимым местом для посещения молодоженами Хабаровска.

Фотографии М.В. Супотницкого



ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

Рецензируемый научно-практический журнал

Том 2, № 2

2018 г.



Учредитель и издатель
федеральное государственное
бюджетное учреждение
«27 Научный центр»
Министерства обороны
Российской Федерации
(27 НЦ МО РФ)

Выходит ежеквартально

Главный редактор
Петров С.В.

Заместители главного редактора
Супотницкий М.В.
Колесников Д.П.
Васько А.М.

Ответственный секретарь
Шило Н.И.

Научный редактор
Лебединская Е.В.

Редакционная коллегия

Амосов М.Ю.
Антипов В.Б.
Атланов В.П.
Бакин А.Н.
Бойко А.Ю.
Воробьев К.А.
Голипад А.Н.
Глудин В.М.
Дармов И.В.
Завьялова Н.В.
Камьянов С.С.
Клименко В.В.
Коршунов А.В.
Кутаев Д.А.
Лапшинов О.В.
Малеев В.Н.
Маньковский Г.И.
Предтеченский А.Б.
Родионов А.А.
Рыбальченко И.В.
Хурса В.И.
Шабельников М.П.

Редакционный совет
Председатель — Кириллов И.А.
Заместители председателя:
Кикоть С.Г.
Ковтун В.А.
Члены редакционного совета:
Борисевич С.В.
Варламов Д.Д.
Гладких В.Д.
Капашин В.П.
Кондратьев В.Б.
Кухоткин С.В.
Манукянц И.А.
Стяжкин К.К.
Туманов А.С.
Тырышкин С.Н.
Холстов В.И.
Щербаков М.Г.

Дизайн, верстка: Тюленева Л.М.

СОДЕРЖАНИЕ

33 Центральному научно-исследовательскому испытательному институту
Министерства обороны Российской Федерации 90 лет (1928–2018 гг.)..... 3

Химическая безопасность и защита от химического терроризма

Становление и развитие 33 Центрального научно-исследовательского
испытательного института Министерства обороны Российской Федерации
С.В. Кухоткин, В.А. Иноземцев, В.М. Рябкин. 10

Исследования в сфере перспективного использования химико-биологических
и медицинских биокаталитических технологий в интересах Вооруженных Сил
И.В. Филимонов, А.А. Янковская, С.В. Кужелко, В.В. Завьялов, Н.В. Завьялова,
А.Н. Голипад, Д.П. Колесников, В.А. Ковтун, В.И. Холстов, И.В. Лагин,
Е.Н. Ефременко. 18

Биологическая безопасность и защита от биологических угроз

Генетическое конструирование рекомбинантного штамма *Bacillus subtilis*,
продуцирующего протективный антиген сибиреязвенного микроба
Н.В. Онучина, А.В. Кузнецовский, А.А. Воробьев, А.В. Филиппов. 51

Некоторые опасные и особо опасные эмерджентные вирусные инфекции
начала XXI века: возникновение, распространение, опасность для здравоохранения
С.В. Борисевич, Т.Е. Сизикова, С.И. Сыромятникова,
В.Б. Пантюхов, В.Н. Лебедев. 61

Лекции по ключевым вопросам РХБ безопасности

Совершенствование огнемётно-зажигательного вооружения войск
радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил
Российской Федерации
М.А. Харитонов, М.А. Хоменко, А.О. Смирнов, К.В. Егоров. 70

Хроника

Войска радиационной, химической и биологической защиты на конгрессе
национального диалога Сирии. 78

16 мая 2018 года – 75 лет со дня образования войсковой части 19893. 80

Пятая Спартакиада войск РХБ защиты. 82

Военно-историческая конференция: «Войскам РХБ защиты – 100 лет. 84

Военная академия РХБ защиты в разрезе истории развития войск»
Под Курском прошли масштабные учения войск радиационной,
химической и биологической защиты. 86

Выставка к 100-летию войск РХБ защиты ВС РФ

в Центральном музее ВС РФ. 88

Лукин Евгений Павлович (к 90-летию со дня рождения). 89

Порядок рецензирования статей

в журнале «Вестник войск РХБ защиты» 90

Адрес редакции:

27 НЦ МО РФ, 105005, г. Москва, Бригадирский пер., д. 13.

Тел.: 8 (499) 265-42-90, e-mail: 27nc@mail.ru.

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Свидетельство о регистрации средства массовой информации
ПИ № ФС 77-69472 от 25.04.2017 г.

Все права защищены. При перепечатке материалов и размещении их на
интернет-ресурсах ссылка на журнал обязательна.

Подписано в печать: 14.06.2018 г.

Тираж 500 экз.

Отпечатано в типографии: ФГУП «ЦНИИХМ им. Д.И. Менделеева»,
115487, г. Москва, ул. Нагатинская, д. 16 А.

Тел.: 8 (499) 661-80-46, e-mail: ntrved@cniihm.ru.

**К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии
с «Правилами направления и опубликования научных статей в журнале
«Вестник войск РХБ защиты».**

**Все статьи проходят рецензирование не менее чем двумя рецензентами.
Используются модели двойного слепого рецензирования либо открытого
рецензирования (по выбору авторов). Плата за публикацию статьи
и рецензирование рукописей не взимается, ускоренная публикация не
допускается. Труды заочных конференций не публикуются.**



JOURNAL OF NBC PROTECTION CORPS

Peer Reviewed Scientific and Practical Journal



Vol. 2 No 2
2018

Founder and Publisher

Federal State Budgetary Establishment
«27 Scientific Centre» of the Ministry of
Defence of the Russian Federation

Quarterly Edition

Editor-in-Chief

Petrov S. V.

Deputy Editors-in-Chief

Supotnitskiy M. V.

Kolesnikov D. P.

Vasko A. M.

Executive Secretary

Shilo N. I.

Science Editor

Lebedinskaya E. V.

Editorial Board

Amosov M. Yu.

Antipov V. B.

Atlanov V. P.

Bakin A. N.

Boyko A. Yu.

Vorobyov K. A.

Golipad A. N.

Gludin V. M.

Darmov I. V.

Zavyalova N. V.

Kamyaynov S. S.

Klimenko V. V.

Korshunov A. V.

Kutaev D. A.

Lapshinov O. V.

Maleev V. N.

Mankovskiy G. I.

Predtechenskiy A. B.

Rodionov A. A.

Rybalchenko I. V.

Khursa V. I.

Shabelnikov M. P.

Editorial Council

Chairman – Kirillov I. A.

Vice-Chairmen:

Kikot S. G.

Kovtun V. A.

Members:

Borisevich S. V.

Varlamov D. D.

Gladikh V. D.

Kapashin V. P.

Kondratyev V. B.

Kukhotkin S. V.

Manukyants I. A.

Styazhkin K. K.

Tumanov A. S.

Tyryshkin S. N.

Kholstov V. I.

Shcherbakov M. G.

CRC preparation: Tyuleneva L. M.

Contents

33 Central Scientific Research Test Institute 90 Years Anniversary (1928–2018) 3

Chemical Security and Protection against Chemical Terrorism

Foundation and Development of 33 Central Scientific Research Test Institute of the
Ministry of Defence of the Russian Federation

S.V. Kukhotkin, V.A. Inozemtsev, V.M. Ryabkin 10

Research in the Sphere of Perspective Use of Biochemical and Medical Biocatalytic
Technologies in the Interests of Armed Forces

I.V. Filimonov, A.A. Yankovskaya, S.V. Kuzhelko, V.V. Zavyalov, N.V. Zavyalova,
A.N. Golipad, D.P. Kolesnikov, V.A. Kovtun, V.I. Kholstov, I.V. Lyagin,
E.N. Efremenko 18

Biological Security and Protection against Biological Threats

Genetic Construction of *Bacillus subtilis* Recombinant Strain, Producing Protective
Antigen of Anthrax Microbe

N.V. Onuchina, A.V. Kuznetsovsky, A.A. Vorobyov, A.V. Filippov 51

Hazardous and Extremely Hazardous Emergent Viral Infections of the Beginning of
XXI Century: Rise, Spread, Hazard for Public Health

S.V. Borisevich, T.E. Sizikova, S.I. Syromyatnikova, V.B. Pantukhov, V.N. Lebedev 61

Key Issues of NBC Security. Lectures

Improvement of Flamethrower-Incendiary Weapons of the Troops of Radiological,
Chemical and Biological Protection of the Russian Federation Armed Forces

M.A. Kharitonov, M.A. Khomenko, A.O. Smirnov, K.V. Egorov 70

Cronicle

NBC Troops at the Syrian National Dialogue Conference 78

16 May 2018 – 75 Years from the Date of Formation of Military Unit 19893 80

NBC Troops Fifth Spartakiad 82

Military History Conference: «NBC Troops – 100 Years. NBC Military Academy
and History of NBC Troops» 84

NBC Troops Large Scale Exercise Training at Kursk 86

«NBC Troops – 100 Years» Exhibition at the Central Armed Forces Museum 88

Lukin Eugeny Pavlovich, 90-th Birth Anniversary 89

The Order of Peer Reviewing of the Articles in the «Journal of NBC Protection Corps» 90

Address of the Editorial Office

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of
the Russian Federation. Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation.

Tel.: 8 (499) 265-42-90, e-mail: 27nc@mil.ru.

Publication is registered by the Federal Service for Supervision in the Sphere of Telecom,
Information Technologies and Mass Communications. Certification of the Mass Media
ПН № ФС 77-69472, April 25, 2017.

All rights reserved. Links to the journal are obligatory while citing.

The publication data for the journal is June 14, 2018.

Circulation: 500 copies.

Published in: Federal State Unitary Establishment «TsNIIKhM» named after D.I. Mendeleev»,
Nagatinskaya Str. 16A, Moscow 115487, Russian Federation

Tel.: 8 (499) 661-80-46, e-mail: ntrved@cniim.ru.

**Only articles prepared in accordance with the Rules for the Authors of Sending
and Publishing of the Articles in the «Journal of NBC Protection Corps», are
acceptable for the publication.**

**All research articles are peer reviewed by at least two suitably qualified
experts. Double-blind peer review and open peer review are both available
by the authors' choice. The journal does not charge article-processing,
publication and peer review fees. Accelerated publication is not allowed. The
papers from correspondence conferences are not published.**

«33 ЦЕНТРАЛЬНОМУ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМУ ИСПЫТАТЕЛЬНОМУ ИНСТИТУТУ» МИНИСТЕРСТВА ОБОРОНЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ 90 ЛЕТ (1928–2018 гг.)

*Сердечно поздравляю всех ветеранов,
военнослужащих и гражданский персонал
33 Центрального научно-исследовательского
испытательного института Министерства обороны
Российской Федерации с 90-летием со дня образования!*

Сердечно поздравляю всех ветеранов, военнослужащих и гражданский персонал 33 Центрального научно-исследовательского испытательного института Министерства обороны Российской Федерации с 90-летием со дня образования!

Созданный в сложный период истории нашего Отечества и нашей армии 33 ЦНИИИ МО РФ прошел славный боевой путь. На этом тернистом и непростом пути были разные этапы: резкого подъема и сокращения, бурного технического оснащения и застоя. Но во все времена одно качество было присуще личному составу института – ответственное и самоотверженное служение нашему Отечеству.

Сегодня институту отводится важная роль в обеспечении РХБ безопасности государства. Лабораторно-испытательная база оснащается новейшим оборудованием, что позволяет успешно решать задачи по созданию уникальных и необходимых для страны систем вооружения.

Убежден, что богатый опыт и высокий профессионализм коллектива института позволит хранить и приумножать лучшие традиции научного творчества и заслуженный авторитет среди научно-исследовательских организаций Министерства обороны и предприятий промышленности. Благодаря разносторонним и глубоким знаниям, практическому опыту сотрудники института вносят весомый вклад в



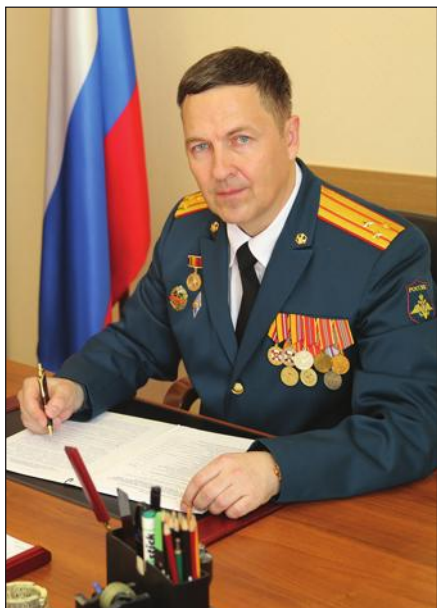
дело защиты интересов Российской Федерации.

Желаю всем крепкого здоровья, благополучия, успехов в научно-исследовательской и испытательной деятельности в интересах укрепления обороноспособности нашей Родины!

***Начальник войск радиационной, химической и биологической защиты
Вооруженных Сил Российской Федерации
генерал-майор***

A stylized handwritten signature in black ink.

И.А. Кириллов



Коллектив Военно-научного комитета (войск РХБ защиты) сердечно поздравляет руководство, сотрудников и ветеранов 33 ЦНИИИ Минобороны России с 90-летием со дня основания!

За годы своего существования институтом успешно решен значительный ряд научных задач по созданию надежной защиты войск и населения от всего спектра угроз РХБ характера. Благодаря плодотворной работе его сотрудников институт зарекомендовал себя непревзойденным лидером в развитии военно-химической науки.

Коллектив института эффективно трудится на самом острие науки, создавая надежные и эффективные образцы вооружения и средств РХБ защиты.

На настоящий момент в институте накоплен большой научно-технический потенциал, создана уникальная лабораторная и полевая экспериментальная базы, которые позволяют успешно решать сложнейшие научно-технические задачи.

Сегодня институт уверенно идет к намеченным целям, основными из которых являются обеспечение обороноспособности нашего государства.

Желаем всему коллективу института благополучия, процветания, здоровья и новых свершений на благо нашей Великой Родины – России!

***Председатель Военно-научного комитета (войск РХБ защиты)
кандидат технических наук, доцент
полковник
С.Н. Тырышкин***



От имени 48 Центрального научно-исследовательского института Министерства обороны Российской Федерации сердечно поздравляю руководство, военнослужащих, гражданский персонал и ветеранов 33 ЦНИИИ Минобороны России с 90-летием образования.

Рассматривая путь вашего становления и развития, можно отметить большой вклад орденоносного института в создание современной материально-технической и научной базы, разработку современных образцов вооружения и средств РХБ защиты, в подготовку высокопрофессиональных кадров для органов управления, высших военных учебных заведений Минобороны и промышленности России.

Существующие в Институте научные школы, современные лабораторно-экспериментальная и полевая базы, современная комплексная работа со многими предприятиями промышленности, научными организациями, включающими и наш коллектив, позволяют заслуженно считать 33 ЦНИИИ Минобороны России ведущим учреждением в области организации и проведения поисковых и прикладных исследований и испытаний, направленных на решение проблем токсикологической, радиационной, химической и биологической безопасности населения и Вооруженных Сил Российской Федерации.

В день вашей славной юбилейной даты примите искренние пожелания крепкого здоровья, благополучия, дальнейших творческих успехов и свершений на благо нашего Отечества!

***Начальник 48 ЦНИИ МО РФ
полковник медицинской службы
доктор биологических наук, профессор,
член-корреспондент РАН
С.В. Борисевич***

Коллектив «27 Научного центра» Министерства обороны Российской Федерации сердечно поздравляет руководство, сотрудников и ветеранов 33 ЦНИИИ Минобороны России с 90-летием со дня основания!

В историческом измерении 90 лет – это мгновение, но для военно-химической науки – важный по своей значимости отрезок времени. Эти годы были наполнены напряженной, созидательной работой, направленной на решение важнейших задач.

33 ЦНИИИ Минобороны России вносит значительный вклад в развитие радиационной, химической и биологической защиты нашей страны. Благодаря уникальной экспериментальной базе и высококвалифицированным специалистам вашим коллективом успешно проводятся исследования по созданию новых образцов вооружения и средств защиты, обеспечивающих национальную безопасность. Ваше учреждение является гордостью Российской Федерации.

В сегодняшнее непростое время институт продолжает вносить существенный вклад в решение практических вопросов обеспечения обороноспособности государства.

Достигнутые успехи стали возможны благодаря самоотверженному труду научных работников и эффективной работе руководства. Славные традиции института, высокий уровень и глубина научных исследований, всесторонняя компетенция и эрудиция сотрудников снискали заслуженное уважение как в Министерстве обороны Российской Федерации, так и в других федеральных органах исполнительной власти.

Наши коллективы связывают многолетнее сотрудничество и большое взаимное уважение. Мы надеемся на дальнейшую совместную работу и желаем сотрудникам института новых успехов в научной деятельности!

Пусть этот год объединит весь ваш коллектив в стремлении продолжать заложенные вашими предшественниками традиции и станет стартом для новых свершений!

Без сомнения, институт ждут новые победы, а юбилейная дата даст мощный импульс развитию! От всей души желаем вашему коллективу крепкого здоровья, благополучия, процветания и новых достижений на благо нашей Родины!

Начальник 27 НЦ МО РФ
кандидат химических наук, доцент
полковник
В.А. Ковтун



От коллектива АО «Омский завод транспортного машиностроения» и от себя лично поздравляю руководство, сотрудников и ветеранов 33 ЦНИИИ Минобороны России с 90-летием со дня образования.

Надежная защита войск и мирных граждан от оружия массового поражения – одна из важнейших задач, решаемых войсками. А ваша деятельность активно способствует их научному и техническому развитию. Мы находимся под надежной защитой.

«Омсктрансмаш» и войска РХБ защиты Российской Федерации связывают давние отношения, основанные на взаимном доверии и уважении. И в дальнейшем наше предприятие неизменно будет надежным и дружественным вашим партнером. Тесно связанные с вами многолетним сотрудничеством, мы высоко ценим ваш коллектив и желаем ему дальнейшего процветания, развития, уверенности в завтрашнем дне, новых проектов и успехов в деле укрепления обороноспособности Российского государства.

В этот юбилейный день хочу пожелать всем вам достойных условий несения службы и успехов в обеспечении безопасности России! Желаю вам доброго здоровья, благополучия, успешной службы на благо нашего Отечества!



Генеральный директор АО «Омсктрансмаш»
И.Э. Лобов



От имени руководства и всего коллектива Государственного научного центра Российской Федерации федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии» примите самые теплые и искренние поздравления в связи с 90-летием со дня образования 33 ЦНИИИ Минобороны России!

На протяжении многих лет научно-исследовательская и испытательная деятельность 33 ЦНИИИ МО РФ самыми тесными узами связана с развитием ОПК и обеспечением военной безопасности России. Высочайший уровень прикладных научных разработок в целях обороны, профессионализм и ответственность специалистов отмечены высокими государственными наградами и обеспечили вашему институту заслуженный авторитет в военно-химической области.

Богатейший опыт, знания, широта научных интересов в сфере создания и совершенствования средств химической защиты позволили 33 ЦНИИИ Минобороны России стать не только основоположником, но и признанным лидером на передовых направлениях военной науки. Высокий научный потенциал в сочетании с творческим отношением к порученному делу являются залогом успешного решения поставленных перед вами задач по обеспечению обороноспособности и национальной безопасности государства. Уникальные

разработки вашего института по созданию и освоению перспективных образцов вооружения, военной и специальной техники вносят значительный вклад в повышение боеспособности Вооруженных Сил Российской Федерации.

Выражаем надежду на успешное продолжение нашего взаимовыгодного научного сотрудничества.

В день славной юбилейной даты поздравляем командование, ветеранов и весь коллектив института! Примите искренние пожелания крепкого здоровья, благополучия, дальнейших творческих успехов и новых научных свершений на пути служения Отечеству!

**Генеральный директор
ГНЦ РФ ФГУП «ГосНИИОХТ»
В.Б. Кондратьев**



От коллектива ОАО «Корпорация «Росхимзащита» примите искренние поздравления с 90-летием со дня образования 33 ЦНИИИ Минобороны России!

Ваш институт является ведущей организацией Министерства обороны Российской Федерации в области средств РХБ защиты.

Благодаря деятельности института в тесном взаимодействии с предприятиями промышленности в годы Великой Отечественной войны наши Вооруженные Силы были обеспечены необходимыми средствами защиты для ведения боевых действий в условиях применения противником химического оружия.

В послевоенные годы организация приняла участие в решении не менее сложных задач по обеспечению войск средствами защиты от ядерного и биологического оружия.

Институт был и остается «кузницей» высококвалифицированных кадров для профильных образовательных учреждений и предприятий промышленности.

Поздравляем коллектив 33 ЦНИИИ Минобороны России, желаем новых творческих успехов, стабильного роста и уверенного движения вперед в развитии фундаментальных и прикладных знаний!

**Генеральный директор
ОАО «Корпорация «Росхимзащита»
К.К. Стяжкин**

Коллектив Московского государственного технического университета имени Н.Э. Баумана поздравляет руководство и личный состав 33 ЦНИИИ Минобороны России с 90-летием со дня образования!

Ваш институт внес достойный вклад в развитие военно-химической науки, в создание надежного оборонного щита нашей Родины. За годы своей деятельности в институте накоплен большой научно-технический потенциал, создана уникальная лабораторная и полевая экспериментальная базы, которые позволяют успешно решать сложнейшие задачи по разработке и созданию современных образцов вооружения и средств РХБ защиты.

В этот знаменательный день особенно приятно отметить, что коллективы МГТУ имени Н.Э. Баумана и института плодотворно работают в тесном контакте уже более 20 лет в области решения различных научно-технических проблем совершенствования технического оснащения войск РХБ защиты ВС РФ. Сегодня мы отмечаем высокий научный авторитет вашего института и в Министерстве обороны Российской Федерации, и в оборонной промышленности.

Желаем всему коллективу, ветеранам института доброго здоровья, творческого долголетия, благополучия и новых достижений в деле укрепления обороноспособности России!

Ректор Московского государственного технического университета имени Н.Э. Баумана
А.А. Александров



От имени коллектива Государственного научного центра Российской Федерации «Центральный научно-исследовательский и опытно-конструкторский институт робототехники и технической кибернетики» и от себя лично поздравляю руководство и весь личный состав 33 ЦНИИИ Минобороны России со знаменательной датой – 90-летием вашей организации!

Ваш институт является головным научно-исследовательским и испытательским учреждением войск РХБ защиты.

Все прошедшие годы усилия коллектива института в тесном взаимодействии с другими организациями оборонно-промышленного комплекса были направлены на решение сложнейших научно-технических задач для укрепления обороноспособности государства и обеспечения его национальной безопасности.

В этот юбилейный для вашей организации день приятно отметить, что коллективами 33 ЦНИИИ Минобороны России и ГНЦ РФ ЦНИИ РТК успешно реализуются совместные проекты в области создания робототехнических комплексов и средств радиационной разведки, не имеющих аналогов в мире.

Высокое чувство ответственности, творческий подход и профессионализм сотрудников вашего института позволяют с честью справляться со всеми поставленными задачами. Сочетание опыта старшего поколения с прогрессивными идеями молодых специалистов обеспечивают высокий уровень разработок военной и специальной техники, испытаний средств радиационной, химической и биологической защиты, создают научно-технический задел для будущих работ.

Выражаю уверенность, что ваш коллектив приумножит свои славные традиции в области создания и испытаний современной военной техники и перспективных средств РХБ защиты для обеспечения безопасности государства.

С праздником, дорогие коллеги! Желаю творческих успехов в развитии военной науки на благо России!

Директор-главный конструктор ГНЦ РФ ЦНИИ РТК
доктор технических наук
А.В. Лопота





Руководство и сотрудники Всероссийского научно-исследовательского института по проблемам гражданской обороны и чрезвычайных ситуаций МЧС России (ВНИИ ГОЧС) сердечно поздравляют коллектив 33 Центрального научно-исследовательского испытательного института Минобороны России с 90-летием со дня образования.

Вся многолетняя и плодотворная деятельность вашего Института направлена на решение проблем обеспечения радиационной, химической и биологической безопасности войск и населения Российской Федерации в мирное и военное время.

Институт обладает значительным научно-техническим потенциалом, уникальной лабораторной и полевой экспериментальной базой, которые позволяют успешно решать сложнейшие задачи по разработке методологии и технологий, а также по созданию современных образцов вооружения, военной техники и средств радиационной, химической и биологической защиты.

Являясь участником созданного на базе ВНИИ ГОЧС Федерального центра науки и высоких технологий в области гражданской обороны и защиты от чрезвычайных ситуаций, 33 ЦНИИИ Минобороны России всегда играл и продолжает играть ключевую роль в области разработки современных комплексов, технических средств и робототехнических систем предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций ра-

диационного и химического характера.

В этот знаменательный день мы искренне подтверждаем готовность к дальнейшему укреплению нашего творческого союза, взаимовыгодному сотрудничеству, а также к совместному развитию новых направлений исследований и разработок.

Желаем трудовому коллективу 33 ЦНИИИ Минобороны России крепкого здоровья, личного счастья, благополучия, научных, а также творческих достижений в деле усиления боевой мощи Вооруженных Сил Российской Федерации и обеспечения безопасности населения нашей Родины!

**Начальник ФГБУ ВНИИ ГОЧС (ФЦ)
кандидат технических наук, профессор
А.Г. Чириков**



Коллектив ПАО «Завод Тула» сердечно поздравляет личный состав 33 ЦНИИИ Минобороны России с 90-летием со дня образования!

За 90 лет своей деятельности ваш институт внес определяющий вклад в решение комплекса задач по обеспечению защиты войск и населения страны от химического оружия, радиоактивных веществ и биологических средств. Нам особенно приятно отметить, что путь, пройденный институтом за 90 лет, непосредственно и тесно в течение более 50 лет связан с трудовыми усилиями нашего коллектива по оснащению армии и других силовых структур подвижными средствами РХБ разведки.

Высокий профессионализм, ответственный подход к делу, оперативность в принятии решений, доброжелательность и помощь в решении сложных технических задач – вот те основные качества, которые характеризуют работу руководства и персонала института. Благодаря этому институт по достоинству занимает лидирующее положение в России по уровню и качеству проводимых исследований.

Желаем всему коллективу, ветеранам института доброго здоровья, творческого долголетия, благополучия и новых достижений в деле укрепления могущества России.

**Генеральный директор ПАО «Завод Тула»
В.М. Бухал**

Коллектив ООО «НПП «Адвент» сердечно поздравляет личный состав и руководство 33 ЦНИИИ Минобороны России со знаменательной датой – 90-летием со дня основания.

90 лет назад началась история вашего института. За все время своего существования ваш институт внес огромный вклад в решение задач по укреплению оборонного щита государства. Ваш институт – это команда профессионалов, обладающих уникальными знаниями в области защиты России от оружия массового поражения, радиоактивных веществ и биологических средств. Путь, который прошел 33 ЦНИИИ Минобороны России – это годы упорной работы, научного и творческого поиска членов дружного коллектива, заслуженного признания и успешной практической деятельности его специалистов. Прекрасные традиции, заложенные при основании института российскими и советскими учеными, передовое научное мышление позволили накопить большой научно-технический потенциал, создать уникальную экспериментальную базу, позволяющую решать насущные задачи в области разработок средств химической, радиационной и биологической защиты.

В этот славный и знаменательный день приятно осознавать, что коллектив ООО «НПП «Адвент» работает в тесном партнерстве с вашим институтом в области укрепления и обеспечения обороноспособности Российской Федерации.

Желаем всему коллективу 33 ЦНИИИ Минобороны России здоровья, долголетия, благополучия, творческих успехов и новых высоких достижений в деле укрепления могущества России.



**Генеральный директор ООО «НПП «Адвент»,
кандидат экономических наук
Н.В. Спасский**

От имени ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения» сердечно поздравляю коллектив и ветеранов 33 ЦНИИИ Минобороны России с 90-летием со дня образования.

За все время своего существования ваш институт внес неограниченный вклад в развитие фундаментальной и прикладной науки по исследованию путей создания современных методов и средств РХБ защиты, используя для этого свой огромный научно-технический потенциал, а также уникальную лабораторную и полевую базу. Очень приятно отметить, что путь, пройденный институтом, тесно связан с трудовыми усилиями нашего коллектива. Наша совместная плодотворная работа привела к практической реализации научных и технических идей в приборы и средства, принятые на снабжение Вооруженных Сил Российской Федерации.

Ваш институт отличают сильные связи с войсками, научно-исследовательскими организациями, проектными и производственными предприятиями промышленности, а также учебными заведениями России.

Примите искренние поздравления в этот значимый для вашего института день! Желаю всему коллективу и ветеранам института дальнейших научных и творческих успехов в совершенствовании и развитии военной науки и новых достижений в благородном деле укрепления обороноспособности и могущества России, а каждому сотруднику – здоровья, счастья, радости и любви!



**Директор ФГУП «Государственный научно-исследовательский
институт биологического приборостроения»
доктор технических наук, профессор
Е.Н. Храмов**

СТАНОВЛЕНИЕ И РАЗВИТИЕ 33 ЦЕНТРАЛЬНОГО НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ИСПЫТАТЕЛЬНОГО ИНСТИТУТА МИНИСТЕРСТВА ОБОРОНЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

С.В. Кухоткин, В.А. Иноземцев, В.М. Рябкин

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт»
Министерства обороны Российской Федерации, 412918,
Российская Федерация, Саратовская обл., г. Вольск-18, ул. Краснознаменная, д. 1

Поступила 18.04.2018 г. Принята к публикации 18.05.2018 г.

Применение химического оружия в Первую мировую войну и начавшаяся в послевоенный период гонка химических вооружений сделали необходимым создание специального исследовательского учреждения, способного задавать тактико-технические требования к разрабатываемым образцам химического оружия и средствам защиты от него, проводить их испытания и планировать направления дальнейшего развития. На основании принятого Советским правительством решения 18 июля 1928 г. был основан Институт химической обороны, в настоящий момент – 33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт Министерства обороны Российской Федерации (33 ЦНИИИ МО РФ). За 90 лет своего существования 33 ЦНИИИ МО РФ прошел славный путь, отмеченный выдающимися достижениями, позволившими создать систему технических средств радиационной, химической и биологической защиты войск и населения Российской Федерации. Сегодня он является ведущей научно-исследовательской организацией в области РХБ защиты войск (сил) и населения. 33 ЦНИИИ МО РФ располагает 15 специализированными лабораторными корпусами и уникальным полигоном, оборудованными современными приборами и аппаратурой, позволяющей решать весь разнообразный спектр задач по осуществлению различных натурных экспериментов и испытаний, проводить весь цикл исследований и испытаний вооружения и военной техники в интересах всех видов Вооруженных Сил Российской Федерации с комплексной оценкой воздействия поражающих факторов оружия массового поражения.

Ключевые слова: 33 ЦНИИИ МО РФ; биологическая защита; Институт химической обороны; оружие массового поражения; полигон; радиационная защита; РХБ защита войск (сил) и населения; тактико-технические требования; химическая защита; химическое оружие.

Библиографическое описание: Кухоткин С.В., Иноземцев В.А., Рябкин В.М. Становление и развитие 33 Центрального научно-исследовательского испытательного института Министерства обороны Российской Федерации // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2. № 2. С. 10–17.

Химическое оружие, использованное в Первой мировой войне в качестве средства тактического нападения на противника, впоследствии приобретает статус полноценного оружия массового поражения (ОМП), способного решать задачи оперативного масштаба.

Появление ОМП повлекло за собой разработку и полномасштабное развертывание системы защиты от него. К концу 1920-х гг. прошлого столетия возрастает роль Военно-химического управления в области усовершенствования средств химического нападения и защиты.

Возникла необходимость создания специального исследовательского учреждения, способного задавать тактико-технические требования к разрабатываемым образцам, проводить их испытания и оценку, планировать направления развития химического вооружения Рабоче-Крестьянской Красной Армии (РККА). На основании принятого советским правительством решения 18 июля 1928 г. был основан Институт химической обороны (ИХО). В процессе своего развития он неоднократно переименовывался. В настоящий момент 33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт Министерства обороны Российской Федерации (33 ЦНИИИ МО РФ) является ведущей научно-исследовательской организацией в области РХБ защиты войск (сил) и населения.

Согласно организационно-штатной структуре, при создании ИХО были сформированы следующие отделы – противогазовый, средств индивидуальной защиты кожи, средств коллективной защиты и дегазации, синтеза и анализа отравляющих веществ (ОВ), информационный, дымовая лаборатория и группа физиологических исследований.

Первым начальником Института был назначен известный специалист в области химии, доктор химических наук Я.М. Фишман, одновременно возглавлявший Военно-химическое управление РККА.

В дальнейшем Институте руководили видные военные химики, среди которых особенно заметными фигурами были академики И.Л. Кнунянц и А.Д. Кунцевич.

Консультантами лабораторий Института были академики Н.Д. Зелинский, Т.В. Хлопонин, профессора Н.А. Шилов, А.Н. Гинзбург.

В Институте проводились работы по созданию различных технических средств для войск. В предвоенные годы в Институте было разработано и принято на снабжение РККА около 70 образцов средств защиты органов дыхания и кожи. В 1931 г. был создан первый образец авторазливочной станции, а в 1938 г. разработана автодегазационная машина на автомобильном шасси отечественного производства.



Фишман Я.М.



Кнунянц И.Л.



Кунцевич А.Д.

Перед войной были разработаны и приняты на вооружение огнеметы ФОГ-1, РОКС-1, АТО-41, противотанковые зажигательные гранаты (бутылки с горючей смесью КС). На вооружение армии были приняты дымовые шашки. При участии Института создавались и испытывались химические боеприпасы. Перед войной в Институте был синтезирован ряд рецептур отравляющих веществ, включая загущенные рецептуры.

Великая Отечественная война явилась суровой проверкой не только технического оснащения и сложившихся взглядов на боевое применение химических войск, но и деятельности Научно-исследовательского химического института РККА (ИХО переименован в Научно-исследовательский химический институт РККА (НИХИ РККА) в январе 1934 г. в соответствии с приказом РВС СССР № 01). Проводились исследования в области создания средств дегазации, зажигательного оружия, аэрозольных средств, а также средств индивидуальной и коллективной защиты.

С началом войны Институту были поставлены задачи на разработку новых и совершенствование существующих огнеметно-зажигательных средств. В это время широко применялись зажигательные бутылки, для которых в Институте предложили недорогие и эффективные горючие смеси. В 1941 г. на вооружение поступил фугасный огнемет, был модернизирован танковый огнемет, установленный на Т-34 и КВ, усовершенствован ранцевый огнемет.

За разработку антидота от синильной кислоты в 1943 г. И.Л. Кнунянц был удостоен Сталинской премии.

Возрастающие нужды фронта в средствах аэрозольной маскировки привели к созданию новых металлохлоридных аэрозолеобразующих рецептур. Была завершена разработка танкового дымового прибора, разработана специальная мортира для метания дымовых гранат. Созданная в Институте дымовая аппаратура широко применялась в годы Великой Отечественной войны для аэрозольной маскировки переправ, крупных промышленных центров страны и др.

В 1946 г. НИХИ был преобразован в Центральный научно-исследовательский во-



Авторазливочная станция APC-1



Изолирующий противогаз ИП-46

енно-технический институт (ЦНИВТИ). Коллектив Института продолжал решать задачи по защите личного состава Вооруженных Сил и гражданского населения от поражающих факторов новых видов оружия. Были разработаны изолирующий противогаз ИП-46, автоматические газосигнализаторы, образцы машин химической разведки и др. Детально изучены токсикологические характеристики отравляющих веществ (ОВ) иностранных армий, исследованы биохимические механизмы их действия на живые организмы.

В 1950-х гг. продолжались работы по модернизации технических средств химической разведки. Появление высокотоксичных фосфорорганических ОВ потребовало создания автоматических газосигнализаторов, которые устанавливались на разведывательных химических машинах, оснащенных приборами радиационной разведки, средствами отбора проб, сигнализации о заражении, а также средствами специальной обработки. В 1956 г. за разработку полевой химической лаборатории ПХЛ-54 сотрудники Института В.Я. Снигирев и Л.В. Бровкин были удостоены Государственной премии СССР. В это же время Государственная премия СССР была присуждена А.С. Баркову и Е.П. Михееву за разработку и принятие на снабжение импрегнированного обмундирования ДГ.

В конце 1950-х гг. руководством страны и Министерства обороны было принято решение о переводе ЦНИВТИ в поселок Шиханы Саратовской области, Вольского района. В феврале 1961 г. в Шиханах произошло организационное слияние ЦНИВТИ с Центральным военно-химическим полигоном (ЦВХП) и создание на их основе Центрального научно-исследовательского и испытательного института.

В период 1961–1968 гг. в Институте были проведены основополагающие исследования отравляющих веществ типа VX, разработаны фильтрующий противогаз ПМГ, респиратор Р-2, изолирующие дыхательные аппараты

ИП-4, ИП-5, дегазационный комплект ДК-4, а также тепловая машина специальная ТМС-65.

В соответствии с Указом Президиума Верховного Совета СССР от 22 февраля 1968 г. за большие заслуги в создании новых образцов оружия и боевой техники и в связи с 50-летием Советской Армии и Военно-Морского Флота Институт награжден орденом Красного Знамени, а постановлением Президиума Верховного Совета СССР от 5 марта 1968 г. Институту было вручено Красное Знамя как символ воинской чести, доблести и славы.

В начале 1970-х гг. резко возрос объем научно-исследовательских и испытательных работ. Результатом этих работ явилось принятие на снабжение Вооруженных Сил СССР ряда образцов, таких как противогаз ПМГ-2, костюм защитный пленочный, автомобильная установка ФВУА-100, коллекторная установка ФВУА-15, авторазливочная станция APC-14, огнесмеси ОСАП, ОМ-68, ОМ-73, зажигательная авиабомба ЗАБ-500Ш и многие другие.

В 1975 г. был принят на вооружение первый реактивный пехотный огнемет, снабженный маловязкой напалмовой огнесмесью, а в дальнейшем разработан принципиально новый тип реактивного пехотного огнемета с термобарическим выстрелом. Параллельно исследовались возможности создания объемного высокотемпературного теплового поля, что явилось основой для разработки огнеметной реактивной системы залпового огня с термобарическими боеприпасами.

В 1977 г. на снабжение принимается полидегазирующая рецептура РД-2. Ее принятие на снабжение следует рассматривать как важное достижение в развитии дегазирующих рецептур. В середине 1970-х гг. начата разработка первых машин радиационной, химической и биологической разведки на гусеничной базе. Включение в их конструкцию защитной капсулы обеспечило повышение безопасности экипажа при ведении разведки в районах с высоким



Противогаз малого габарита ПМГ



Тепловая машина специальная ТМС-65

уровнем радиации. Все эти достижения позволили создать систему технических средств радиационной, химической и биологической разведки и контроля, обеспечивающую эффективное выявление фактов, масштабов и последствий применения оружия массового поражения.

В соответствии с Указом Президиума Верховного Совета СССР от 13 июля 1978 г. за большие заслуги в создании новой техники и в связи с 50-летием со дня основания Институт награжден орденом Трудового Красного Знамени.

В начале 1980-х гг. Институт был привлечен к разработке Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении. В ходе проводимых работ были предложены методы уничтожения осадков, образовавшихся в результате хранения ОВ кожно-нарывного действия, технологии уничтожения боеприпасов в снаряжении кожно-нарывными ОВ, разработаны стандартные образцы токсичных химикатов для обеспечения контроля конвенциональной деятельности.

В 1981 г. завершена разработка полуавтоматического газоопределителя для разведывательных химических машин. В этом же году была принята на снабжение модернизированная войсковая химическая лаборатория АЛ-4.

За создание всепогодной огнесмеси СПФ-М звание лауреата Государственной премии СССР в 1982 г. получил Н.А. Тютюник.

В 1984 г. по результатам государственных испытаний принят на вооружение реактивный пехотный огнемет РПО-А «Шмель» в термобарическом, зажигательном и дымовом снаряжении, имеющий принципиально новую конструкцию. Этот образец, который зарекомендовал себя как высокоэффективное средство, особенно в ходе ведения боевых действий в Афганистане и Чечне, не имел аналогов за рубежом.

За разработку и участие в войсковых испытаниях огнемета РПО-А в 1986 г. звание лау-

реата Государственной премии СССР был удостоен Н.Д. Рудык.

Начиная с 26 апреля 1986 г., большинство офицеров Института, а также многие гражданские сотрудники принимали активное участие в ликвидации последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС) в первый, наиболее сложный и трудный период после взрыва реактора на четвертом блоке. Сотрудники Института внесли существенный вклад в решение ряда важных практических задач, связанных с проведением радиационной разведки и дезактивации различных объектов как на самой ЧАЭС, так и в 30-километровой зоне.

Многие участники ликвидации последствий аварии были награждены государственными наградами, грамотами и благодарностями Правительства СССР.

В октябре 1987 г. на базе Института был осуществлен беспрецедентный в мировой практике показ образцов химического оружия и специальной техники представителям зарубежных средств массовой информации и специалистам, что активизировало Женевский переговорный процесс и способствовало завершению работы над Конвенцией по запрещению химического оружия.

В сложные 1990-е гг. Институт осуществлял организацию и проведение поисковых и



Ведение стрельбы из огнемета РПО-А



Модернизированная автомобильная радиометрическая и химическая лаборатория АЛ-4М

прикладных исследований и испытаний; разработку документов по боевому использованию В и С РХБЗ и по защите вооружения и военной техники (ВВТ) от поражающих факторов ОМП; проводил экспериментально-теоретическую оценку в области разработки огнеметно-зажигательных средств, маскирующих и защитных аэрозолей, радиопоглощающих пен и покрытий, средств индивидуальной и коллективной защиты от токсичных химикатов и радиоактивных веществ. Результатом многолетних теоретических и экспериментальных исследований стало принятие на вооружение в 1995 г. тяжелой огнеметной системы ТОС-1, известной как «Буратино».

В этот период одной из проблемных задач в научном плане являлось уничтожение химического оружия. Оценка безопасности хранения химического оружия, его влияния на окружающую среду, а также научно-техническое сопровождение разрабатываемых технологий уничтожения аварийных химических боеприпасов были возложены на Институт. Результатом проведенных работ стал созданный в Институте мобильный комплекс уничтожения аварийных специальных изделий в снаряжении фосфорорганическими ОВ.

В 1992 г. в Институте начал функционировать диссертационный совет с правом рас-

смотрения диссертаций на соискание ученой степени кандидата технических, химических и медицинских наук, а с 30 января 1996 г. диссертационный совет Института повысил свой статус и получил право рассмотрения к защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук.

Не обошли Институт в этот период и серьезные испытания, которые потребовали мобилизации усилий всех его сотрудников. В 1994 г. офицеры Института принимали участие в контртеррористических операциях в Чечне. В 1996 г. в Ханкале применялись системы аэрозольной маскировки взлетно-посадочных площадок, разработанные и изготовленные руками сотрудников Института.

В 2000 г. принятием на снабжение в ВС РФ завершена многолетняя работа по созданию принципиально нового общевойскового защитного комплекта фильтрующего типа ОЗК-Ф, существенно повышающего защищенность личного состава от термических и РХБ поражающих факторов.

Данная работа отмечена Государственной премией, в числе получивших ее – начальник Института Н.И. Алимов, орденами Почета награждены Э.В. Шаталов и А.М. Дорохов.

В 2008 г. во исполнение Указа Президента Российской Федерации Институту было торжественно вручено Боевое Знамя и Грамота Президента к нему.

С 2008 г. сотрудники Института принимали участие в более чем 20 учениях различного уровня, среди которых следует выделить «Кавказ-2008», «Центр-2008», «Восток-2010», «Центр-2015», «Запад-2017», учения Стратегических ядерных сил, Северного флота и ежегодные межведомственные учения по ликвидации последствий аварий на химически и биологически опасных объектах, проводимых на территории Шиханского гарнизона под руководством начальника войск РХБ защиты ВС РФ с привлечением представителей ГО и ЧС области, МВД, ФМБА и частей войск РХБЗ.



Реактивный пехотный огнемет РПО-А (З, Д) «Шмель»



Боевая машина ТОС-1



Транспортно-заряжающая машина ТОС-1

В этот период проведено 60 государственных испытаний, по результатам которых приняты на снабжение современные образцы В и С РХБЗ, среди которых – лазерный комплекс наземный РХБ разведки (КЛН-РХБР), машина радиационного поиска (РПМ-2), комплекс лабораторный полевой (КЛП-1), приборы химической разведки дистанционного действия (ПХРДД-2, -3), универсальная станция специальной обработки (УССО), дымовая машина нового поколения (ТДА-3), неуправляемые реактивные снаряды (ТБС-2М) и другие.

В 2017 г. приказом Министра обороны Российской Федерации был принят на снабжение ВС РФ общевойсковой фильтрующий противогаз ПМК-4.

В настоящее время на высоком качественном уровне проводятся предварительные и государственные испытания в лабораториях Института и на площадках полигона многофункциональных, совершенно новых и сложнейших по уровню технического исполнения образцов военной специальной техники – подвижный комплекс средств дистанционного управления системой аэрозольного противодействия КДУД, машина радиационной химической и биологической разведки РХМ-8, РХМ-9 на новом шасси, универсальная станция специальной обработки

и аэрозольной маскировки УССО-Д и многие другие средства (приборы, образцы средств защиты).

За выдающиеся заслуги в деле химической обороны страны к настоящему времени 25 ученых Института стали лауреатами Ленинской и Государственной премий, два сотрудника Института – М.Г. Щербаков и Е.В. Егоров были удостоены звания лауреат Государственной премии как молодые ученые, а два начальника Института – генералы Л.А. Дегтярев и А.Д. Кунцевич удостоены звания Героя Социалистического Труда.

На протяжении ряда лет Институт занимает лидирующие позиции по рационализаторской и изобретательской работе среди учреждений МО РФ. За период с 1961 г. по настоящее время подано более 900 заявок на изобретения, получено 787 авторских свидетельств и патентов, подано более 2500 рационализаторских предложений. Творческие разработки, защищенные авторскими свидетельствами и патентами, позволили достигнуть существенных результатов в научных исследованиях, которые сыграли важную роль в повышении эффективности всех типов В и С РХБЗ.

Большой вклад внесли сотрудники Института в обеспечение радиационной безопасности приграничной зоны Российской Феде-



Заседание диссертационного совета Института



Вручение Боевого Знамени нового образца



Комплекс средств дистанционного управления системой аэрозольного противодействия КДУД



Машина РХБ разведки РХМ-8



Контрольно-распределительный пункт подвижный КРПП-2



Полевая база 33 ЦНИИИ МО РФ



рации после произошедшей в 2011 г. в Японии крупной аварии на АЭС «Фукусима-1».

С 2013 г. офицеры Института регулярно принимают участие в мероприятиях по обеспечению РХБ безопасности спортивных мероприятий. Среди них – XXVII Всемирная летняя универсиада в г. Казань (2013 г.), XXII Зимние олимпийские и XI Паралимпийские игры в г. Сочи (2014 г.), Чемпионат мира по водным видам спорта в г. Казань (2015 г.), Гран-при России Формула 1 в г. Сочи (2016–2017 гг.), I Международный Арктический форум в г. Архангельск (2017 г.), Кубок Конфедерации по футболу (2017 г.), «Чемпионат мира по футболу (2018 г.)». По итогам выполненных сложных и ответственных задач многие специалисты Института награждены орденами, медалями и грамотами, а также отмечены благодарностями высшего руководства МО РФ и Правительства РФ.

Важным направлением деятельности Института с 2015 г. является участие во многих значимых мероприятиях международного уровня, проводимых в России. Офицеры Института активно участвовали в международном военно-техническом форуме «Армия 2015», «Армия 2016», «Армия 2017», который впервые состоялся в 2015 г. на базе полигона Алабино Московской обл. На площадках музейно-выставочного комплекса демонстрировались современные высокоэффективные образцы В и С РХБЗ, разработанные Институтом совместно с предприятиями военно-промышленного комплекса за последние годы. Все участники форума были поощрены командованием войск РХБ защиты.

Сегодня Институт располагает 15 специализированными лабораторными корпусами, оборудованными современными приборами и аппаратурой, позволяющими решать весь разнообразный спектр задач, возлагаемых на Институт.

На полигоне Института создана уникальная испытательная база, не имеющая аналогов в России, предназначенная для осуществления различных натурных экспериментов и испытаний современных образцов В и С РХБЗ.

33 ЦНИИИ МО РФ является единственным в Российской Федерации научным учреждением, выполняющим задачи по проведению всего цикла исследований и испытаний вооружения и военной техники в интересах всех видов Вооруженных Сил РФ с комплексной оценкой воздействия поражающих факторов ОМП.



Офицеры Института после вручения наград

К сожалению, в рамках краткого повествования невозможно отразить в полной мере долю каждого сотрудника, внесенную в решение больших и важных государственных задач.

Естественно, они решались большим коллективом офицеров, рабочих и служащих Советской, а затем Российской Армии. В проведении научных исследований и испытаний, подготовке и участии в различного уровня показах, сборах, учениях и во многих других мероприятиях принимало участие не одно поколение сотрудников Института.

Мы отдаем дань глубокого уважения старшему поколению, тем, кто на своих плечах вынес тяжелые испытания военных лет. Отмечаем и чтим тех, кто в послевоенные годы активно включился в решение задач, направленных на укрепление обороноспособности нашей Родины. Возлагаем большие надежды на нынешних специалистов военно-химического дела, тех, кто пришел на смену своим отцам и дедам.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт» Министерства обороны Российской Федерации, 412918, Российская Федерация, г. Вольск-18, улица Краснознаменная, д. 1

Кухоткин Сергей Владимирович. Ведущий научный сотрудник, канд. техн. наук, доцент.

Иноземцев Валерий Александрович. Начальник Института, канд. хим. наук.

Рябкин Владимир Михайлович. Научный сотрудник.

Адрес для переписки: 27nc_1@mil.ru

ИССЛЕДОВАНИЯ В СФЕРЕ ПЕРСПЕКТИВНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ХИМИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ И МЕДИЦИНСКИХ БИОКАТАЛИТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ В ИНТЕРЕСАХ ВООРУЖЕННЫХ СИЛ

И.В. Филимонов¹, А.А. Янковская¹, С.В. Кужелко¹, В.В. Завьялов¹, Н.В. Завьялова¹,
А.Н. Голипад¹, Д.П. Колесников¹, В.А. Ковтун¹, В.И. Холстов¹, И.В. Лягин²,
Е.Н. Ефременко²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 105005,
Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский пер., д. 13

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический
факультет, 119234, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские Горы, д. 1, стр. 3

Поступила 07.05.2018 г. Принята к публикации 05.06.2018 г.

В статье представлен обзор теоретических и экспериментальных исследований, проведенных отечественными и зарубежными учеными, по изучению ферментов как в нативном состоянии, так и в виде химически стабилизированных наноразмерных частиц, перспективных для использования в области создания изделий военного назначения различного типа. Обобщены результаты по использованию биокатализаторов на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов для нейтрализации экотоксикантов. Рассмотрена природа ферментов. Проанализированы данные, полученные в сфере химико-биологических и медицинских биокаталитических технологий, по созданию ферментных лечебно-профилактических средств. Отдельное внимание уделено ферментам, используемым в качестве компонентов средств защиты, биокатализаторам для очистки окружающей среды от токсичных химикатов, биопрепаратам на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов для утилизации реакционных масс, химической детоксикации отравляющих веществ. Осуществлен выбор направлений дальнейших исследований по использованию нанобиотехнологий: ферментные препараты для профилактики и лечения поражений отравляющими веществами; ферменты в составе самодегазирующих материалов в качестве компонентов средств защиты; биокатализаторы для очистки почвы, воды и поверхностей; биопрепараты на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов для деградации реакционных масс отравляющих веществ.

Ключевые слова: бактерии *Pseudomonas* sp. 78Г; биокатализаторы для очистки окружающей среды; гексагистидин-содержащая органофосфатгидролаза His₆-ОФГ; микроорганизмы-деструкторы токсичных химикатов; самодегазирующие материалы; ферментные антитоды ФОВ; ферментные катализаторы деградации реакционных масс ФОВ; ферментные компоненты средств защиты; ферменты-катализаторы химических реакций в организме; фосфорорганические отравляющие вещества ФОВ.

Библиографическое описание: Филимонов И.В., Янковская А.А., Кужелко С.В., Завьялов В.В., Завьялова Н.В., Голипад А.Н., Колесников Д.П., Ковтун В.А., Холстов В.И., Лягин И.В., Ефременко Е.Н. Исследования в сфере перспективного использования химико-биологических и медицинских биокаталитических технологий в интересах Вооруженных Сил // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2. № 2. С. 18–50.

СОДЕРЖАНИЕ

Природа ферментов

Использование биокатализаторов на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов для нейтрализации экотоксикантов

I Современные разработки по созданию антидота ФОС на основе ферментов

II Ферменты в качестве компонентов средств защиты

III Биокатализаторы для очистки окружающей среды

IV Биопрепараты на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов для утилизации реакционных масс, полученных путем химической детоксикации отравляющих веществ

Направления исследований перспективного использования биопрепаратов в интересах

создания изделий военного назначения различного типа

1 Ферментные антидоты

2 Ферменты в составе самодегазирующих материалов в качестве компонентов средств защиты

3 Биокатализаторы для очистки окружающей среды

4 Биопрепараты на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов для утилизации реакционных масс отравляющих веществ

Заключение

Информация о конфликте интересов

Сведения о рецензировании статьи

Список источников

Изучение и использование ферментных препаратов в нативном состоянии и в виде химически стабилизированных наноразмерных частиц ведутся во всем мире уже несколько десятилетий. Число публикаций о биокаталитических системах на основе ферментов и клеток микроорганизмов увеличивается с каждым годом.

Однако недостаток научных фундаментальных знаний о кинетических закономерностях, лежащих в основе функционирования биокаталитических систем, является сдерживающим фактором широкого применения на практике биокатализаторов – препаратов на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов.

Целью настоящей работы является обзор результатов фундаментальных и прикладных исследований, проведенных отечественными и зарубежными учеными, по изучению ферментов (ферментных препаратов), выбор направлений дальнейших исследований по перспективам использования нанобиотехнологий при создании изделий военного назначения различного типа.

Природа ферментов

Ферменты, или энзимы, представляют собой белковые молекулы или молекулы РНК, либо их комплексы, которые катализируют химические реакции в биологических системах, не подвергаясь при этом химическим превращениям. Они способствуют перевариванию и распаду жиров, белков, сокращению мышц и проведению нервных импульсов в живых системах как животного, так и растительного происхождения; ускоряют окислительно-вос-

становительные, гидролитические, синтетические и многие другие биохимические процессы во всех живых клетках. Нехватка или избыток необходимых ферментов негативно сказывается на функциональной активности и жизнеспособности организма.

По строению ферменты могут быть как однокомпонентными – простыми белками, так и сложными – содержащими несколько разных белковых субъединиц и небелковую часть. Некоторые ферменты входят в состав плазматической мембраны клеток, другие находятся и работают внутри клеток, третьи секретируются клетками и выходят в межклеточное пространство органов и тканей, попадают в кровеносную и лимфатическую системы или просвет желудка, тонкой и толстой кишки.

Субстратом называется химическое вещество, подвергающееся превращению под действием фермента. Реагенты – вещества, участвующие в химической реакции, но при этом не являющиеся объектом обработки. Реакционный (активный) центр – атом, у которого происходит разрыв или образование связей. Коферменты (коэнзимы, кофакторы) – молекулы небелковой природы, специфически соединяющиеся с соответствующими белками и играющие роль активного центра. Регуляторы каталитической активности: активаторы – повышают, ингибиторы – понижают активность ферментов. Продукты реакции – образующиеся в ходе реакции вещества.

Ферменты специфичны к субстратам. Эффективность их действия чрезвычайно высока. Одна молекула фермента может катализировать превращение до 10^6 молекул субстрата в минуту.

В зависимости от условий, ферменты способны катализировать как прямую, так и обратную реакцию.

Подобно всем белкам, ферменты лабильны и после денатурации оказываются неактивными. Активность ферментов в клетке непостоянна во времени. Ферменты чутко реагируют на ситуацию, в которой оказывается клетка, на факторы, воздействующие на нее как снаружи, так и изнутри. Такая чувствительность ферментов к изменениям окружающей среды позволяет клетке приспособиться к новым условиям, дать должный ответ на гормональные и иные стимулы, а в некоторых ситуациях – предоставить клетке шанс выжить.

Для изучения свойств ферментов обычно их получают путем выделения из тканей животных, растений, клеток или культуральной жидкости, накапливающейся при выращивании микроорганизмов, биологических жидкостей [1–4].

Использование биокатализаторов на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов для нейтрализации экотоксикантов

Утилизация многих вредных для здоровья и опасных для жизни веществ, уже присутствующих или попадающих (вносимых) в окружающую среду, составляет комплекс важных экологических, социальных, экономических и научных проблем. Задача деструкции нейротоксичных фосфорорганических соединений (ФОС), к числу которых относятся применяемые в сельском хозяйстве пестициды (хлорпирифос, метилпаратион, параоксон, малатион), а также продукты детоксикации боевых отравляющих веществ (зарина, зомана, вещества типа VX), является наиболее значимой, поскольку сотни тысяч тонн этих веществ, произведенных в последние полвека, представляют серьезную экологическую угрозу при хранении, уничтожении, а в случае пестицидов – при их использовании.

В США ежегодно производится 620 тыс. пестицидов, в странах Европейского Союза – 320 тыс., в России – 100 тыс. В то же время не существует эффективной и приемлемой для окружающей среды технологии утилизации этих веществ, в том числе в случае аварийных ситуаций (розливов, развалов и т.п.) [5, 6].

Детоксикация различных ФОС с помощью биокаталитических систем имеет ряд преимуществ, а именно: она проходит в мягких условиях (при отсутствии резко щелочных условий среды, повышенных температур, агрессивных химических агентов), при этом продукты гидролиза, как правило, являются биологически деградируемыми. В качестве биокатализаторов особый интерес представляют

различные ферменты, гидролизующие ФОС. Было установлено, что на сегодняшний день наиболее высокоэффективным действующим ферментом для биодеструкции ФОС является органофосфатгидролаза (ОФГ, ЕС 3.1.8.1, арилдиалкилфосфатаза), катализирующая гидролиз эфирной связи в триэфирах ортофосфорной и фосфоновой кислот [5, 6].

Для решения различных задач по детоксикации ФОС была проведена направленная генетическая модификация органофосфатгидролазы, обеспечивающая существенное упрощение выделения фермента из клеток, продуцирующих его, и создание систем для его многократного использования в виде стабилизированных иммобилизованных препаратов [7, 8]. Введение гексагистидинового последовательности на N-конец молекулы ОФГ позволило, помимо основной цели модификации фермента, увеличить в несколько раз гидролитическую активность этого фермента (His₆-ОФГ) по отношению к субстратам, содержащим P-S связь (например, хлорпирифос, малатион, VX и т.д.) в сравнении с исходным вариантом фермента [9, 10]. Поэтому для разработки рецептуры, нейтрализующей ФОС, целесообразным представляется использование именно генетически модифицированного фермента His₆-ОФГ, схема которого представлена на рисунке 1.

Проведенный рентгеноструктурный анализ ОФГ [11, 12] показал, что шесть остатков гистидина находятся непосредственно вблизи активного центра фермента, а четыре из этих остатков (His-55, His-57, His-201 и His-230) являются лигандами ионов металла в активном центре фермента (изображены на рисунке 2).

Два иона металла связаны друг с другом посредством карбамилированного остатка Lys-169. В апоформе фермента остаток Lys-169 не модифицирован. При помощи ¹³C ЯМР-спектроскопии было доказано, что в образовании карбамилированного остатка Lys принимает участие диоксид углерода. Установлено, что высокая концентрация бикарбоната, внесенная в раствор фермента, ускоряет процесс формирования его активного центра при переходе апоформы в холоформу в присутствии ионов металла [13].

Вторым мостиковым лигандом между ионами металла служит молекула воды (рисунк 2). Таким образом, для поддержания и/или эффективного функционирования активного центра фермента необходимо присутствие в реакционной среде при гидролизе ФОС воды и карбонат-ионов. Также необходимо отметить, что именно в карбонатном буфере при pH 10 наблюдается проявление максимума каталитической активности у фермента



Рисунок 1 — Фермент генетически модифицированная органофосфатгидролаза – His₆-ОФГ

His₆-ОФГ [9]. В этой связи целесообразным, в том числе и с экономической точки зрения, представляется использование при работе с модифицированным ферментом именно карбонатной буферной системы.

Кроме этого, показано, что при длительном хранении и использовании биокатализаторов на основе His₆-ОФГ для предотвращения инактивации фермента необходима его стабилизация путем иммобилизации. Такая стабилизация фермента может быть достигнута за счет применения различных подходов [14, 15]. Одной из наиболее современных технологий иммобилизации ферментов является микро- или нанокapsулирование, например, путем комплексообразования с полимерами, создающими вокруг фермента защитную оболочку, в результате чего фиксируется каталитически активная конформация молекулы фермента, которая оказывается защищенной от негативных воздействий окружающей среды, а при этом сами комплексы представляют собой микро- или наноразмерные частицы [16]. Такой подход может быть использован для разработки новых лечебно-профилактических антидотов и биокатализаторов на основе ферментов.

1 Современные разработки по созданию антидота ФОС на основе ферментов

За последние 20 лет удалось добиться значительных успехов в изучении противодействия отравлениям ФОС, но классические фармакологические подходы уже достигли оптимального уровня. В медицинской практике, в основном, применяются средства антидотной терапии поражений фосфорорганическими токсикантами.

В качестве профилактических средств защиты ацетилхолинэстеразы (АХЭ) от воздействия фосфорорганических токсикантов используют гетероциклические обратимые ингибиторы, в частности, галантамин, пири-

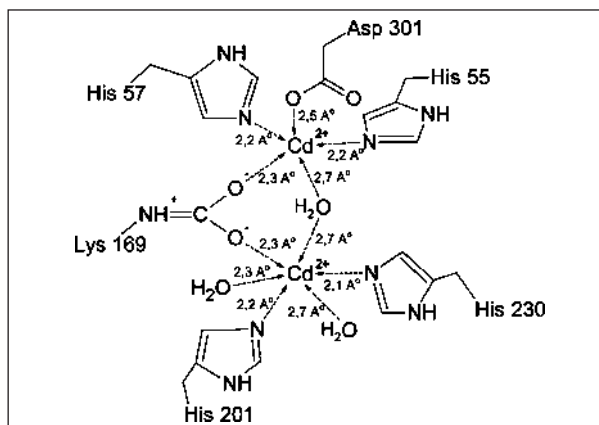


Рисунок 2 — Структура активного центра ОФГ, образованного при участии ионов Cd²⁺ [13]

достигмин и др. Однако их длительное применение или использование в больших количествах опасно для здоровья [17].

Анализ применяемых в настоящее время медикаментозных антидотных средств против отравления ФОС, включая ФОВ, показал, что все имеющиеся в настоящее время антидоты обладают рядом недостатков: собственной токсичностью и, соответственно, малыми допустимыми дозами; серьезными побочными эффектами (в том числе в отношении нервной системы и органов чувств, сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта и пр.); противопоказаниями и ограничениями по применению.

Созданные специалистами МГУ имени М.В. Ломоносова (нано)-биокаталитические ферментные препараты на основе His₆-ОФГ, будучи веществами биологической природы, обладают высокоспецифичным действием, не приводят к состояниям интоксикации и могут быть оптимальным решением для борьбы с отравлениями ФОС.

Разработка ферментных антидотов, выполняющих роль «биочистильщиков» кровотока, действие которых основано на каталитическом гидролизе непосредственно ФОС, является одним из наиболее перспективных новых направлений совершенствования средств медицинской защиты от воздействия нейротоксинов.

В качестве (нано)-биокатализаторов гидролиза ФОВ сегодня за рубежом исследуются рекомбинантная человеческая ацетилхолинэстераза (АХЭ), бутирилхолинэстераза (БХЭ), параоксоназа, пролидаза и фосфотриэстераза (ФТЭ) [17]. Однако по эффективности своего каталитического действия эти ферменты на несколько порядков уступают российскому (нано)биокатализатору – гексагистидин-содержащей органофосфатгидролазе (His₆-ОФГ), проявляющей широкий субстратный спектр



Рисунок 3 — Группа специалистов 27 НЦ МО РФ (главный научный сотрудник доктор биологических наук профессор Н.В. Завьялова, старший научный сотрудник кандидат биологических наук Н.А. Колосова, научный сотрудник Н.В. Перевозчикова) – участники эксперимента по изучению гидролитической активности образцов ферментных нанопрепаратов в отношении ФОС (пестицидов)

действия в реакциях гидролитического разложения ФОВ и пестицидов *in vivo*.

Оригинальные формы российского фермента, полученные в результате его стабилизации в фермент-полиэлектrolитных комплексах, представляют собой наночастицы размером ~40 нм, с высокой активностью ортаофосфатагидролазы и значительно улучшенной стабильностью (при хранении, как минимум, 1,5 года при 25 °С – потеря активности не более 10 %).

Иммобилизация обеспечивает им надежную защиту от воздействия пептидаз крови, длительную циркуляцию в крови при отсутствии формирования иммунного ответа, а также продолжительное сохранение ими каталитической активности. Такой (нано)био-каталитический препарат представляет собой разработку нового поколения антидотов ФОС и ФОВ, и может быть использован как терапевтическое средство при поражении, а также в качестве средства профилактической защиты при заблаговременном его введении в организм.

Специалистами 27 НЦ МО РФ (рисунок 3) образцы (нано)-биокаталитических препаратов были апробированы на белых крысах *in vivo*. Было установлено, что гидролитические нанопрепараты не вызывают иммунной реакции при введении их в кровь лабораторных животных и длительно циркулируют в крови (эффективная активность обнаруживается до 15 ч), разрушая вещество типа VX и различные пестициды.

При внутривенном, внутривенном, внутримышечном или трансбуккальном вве-

дении (представлены на рисунке 4) препаратов в качестве профилактического средства (введение за 60 мин до отравления пестицидами) они обеспечивали 100 % выживание животных даже при их интоксикации двукратной смертельной дозой ФОС ($2 \times LD_{100}$) и 50 % выживание животных при трехкратной смертельной дозе ФОС ($3 \times LD_{100}$). В случае применения тех же (нано)-биокатализаторов в качестве терапевтического средства в течение 10–15 мин после интоксикации смертельной дозой ФОС (LD_{100}) их однократное внутривенное введение было достаточным для обеспечения 100 % выживания животных.

Такие препараты могут иметь большое значение для ликвидации и предотвращения интоксикации людей и животных фосфорорганическими соединениями. Так как коммерческих аналогов таких антидотов в мире не описано, то представляется целесообразным продолжить исследования в данном направлении совместно со специалистами ФМБА РФ.

Полученные результаты опубликованы в журнале *Journal of Controlled Release* [18] и могут быть основой для создания нового поколения средств индивидуальной и коллективной защиты войск и населения при ведении боевых действий, совершении террористических актов и в условиях техногенных аварий. Результаты могут быть полезны как ВС РФ, так и специализированным службам, занимающимся устранением загрязнений ФОС, в том числе аварийных, утилизацией ФОС на различных объектах, а также специальной обработкой средств индивидуальной защиты и ВВСТ, решением вопросов безопасности персонала и населения России.

Необходимо отметить, что разработка первых наноразмерных препаратов началась более 30 лет назад, и уже в 1990-е гг. на рынке появились первые нанопрепараты для лечения рака. Первые такие нанозимы были основаны на липосомах – сферических полых включениях, имеющих один или несколько липидных бислоев.

В конце 1980-х гг. группа под руководством профессора Казунори Катаоки из Университета Токио (Япония) стала использовать полимерные мицеллы для доставки маленьких молекул. В 2006 г. лекарство на основе полимерных мицелл, созданное корейской компанией Самьянг, было разрешено к использованию.

В России группа ученых химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова под руководством профессора Александра Кабанова исследовала адресную доставку в организм ферментов, способных разрушать токсичные фосфорорганические соединения, с помощью нанопрепаратов.

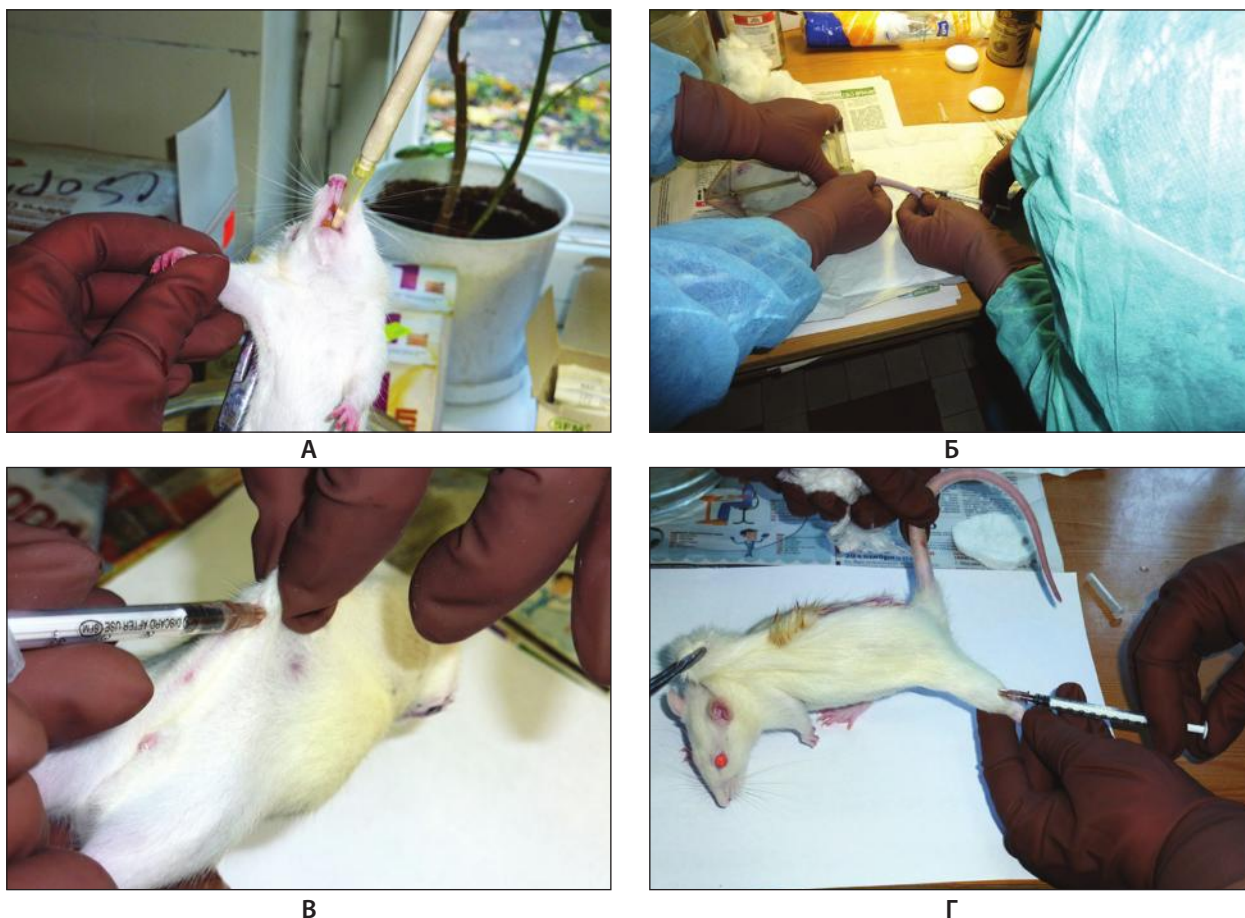


Рисунок 4 — Эксперимент по использованию (нано)биокаталитического препарата – фермента His₆-ОФГ в качестве антидота ФОС (А - трансбуккальное; Б - внутривенное; В - внутрибрюшинное; Г - внутримышечное введение)

Основу этих препаратов составляет разработанный в лаборатории экибиокатализа МГУ под руководством доктора биологических наук профессора Елены Ефременко химически модифицированный фермент органофосфатгидролаза His₆-ОФГ и биоразлагаемый полимер на основе одной из аминокислот (глутаминовой кислоты). Важным является простота подхода: нанопрепарат органофосфатгидролазы His₆-ОФГ получается простым смешиванием водных растворов высокоочищенного фермента и безопасного биосовместимого полимера. Этот нанопрепарат самособирается за счет электростатических взаимодействий между белком (ферментом) и полимером [16].

Надо отметить, что одним из первых методов подобной стабилизации белков применила группа исследователей под руководством профессора А.В. Кабанова в 1994 г. в Медицинском центре Университета Небраски в Омахе (США), которая занималась созданием ферментных полимерных комплексов, формирующихся за счет электростатических взаимодействий на основе разных биомолекул. Изначально химиков интересовало использование мицелл для до-

ставки молекул РНК и ДНК, позднее ученые активно занялись использованием этого подхода для доставки белков, в частности ферментов, в центральную нервную систему.

В настоящее время множество лабораторий по всему миру работают в данной области, применяя самые различные подходы для создания подобных наноразмерных препаратов.

В 2010 г. уже был получен большой задел в направлении создания и доставки ферментных нанопрепаратов для «улучшения» ферментов с целью их дальнейшего медицинского применения. В качестве доставляемого фермента была выбрана органофосфатгидролаза His₆-ОФГ, которая может расщеплять токсичные пестициды и боевые ФОВ. Однако ее недостатком оставался слабый иммунный ответ при введении в организм млекопитающих, а также относительно невысокая стабильность и быстрое выведение из организма.

Химики решили эту проблему, применив «сборочный» подход: в результате включения фермента органофосфатгидролазы His₆-ОФГ в нанопрепарат снижается иммунный ответ, существенно увеличивается стабильность фер-

мента при хранении и увеличивается время его циркуляции в крови после введения в организм. В экспериментах на крысах было показано, что препарат эффективно защищает организм от летальных доз высокотоксичных пестицидов и даже боевого отравляющего вещества VX [18].

Простота и технологичность подхода в сочетании с полученными результатами на животных делают этот препарат привлекательным для клинического применения [19].

За рубежом также проводились исследования по разработке антидотов на основе ферментов [20]. Исследования на животных (мышьях, крысах, мини-свиньях) и людях проводились с использованием рекомбинантной ацетилхолинэстеразы PRX-105, которая была получена из генетически модифицированной линии клеток растений *Nicotiana tabacum* в качестве антидота при поражении фосфонатами-пестицидами и отравляющими веществами (зоман, VX). Исследованная рекомбинантная ацетилхолинэстераза PRX-105 была произведена фирмой «Protalix Biotherapeutics» (Кармиэль Израиль).

Авторы исследования вводили рекомбинантную ацетилхолинэстеразу PRX-105 за 2 мин внутривенно с последующим введением только животным поражающей дозы 1,3–1,5×LD₅₀ фосфоната-DEPQ (7-[(diethoxyphosphinyl)oxy]-1-methylquinolinium methyl sulfate), имитирующего VX. По утверждению авторов, все животные выжили. Гибель животных в контрольной группе, которой не вводили PRX-105, наступала через 60–90 с после интоксикации.

Согласно полученным данным, исследование на людях (десяти добровольцах) по внутривенному введению 0,9 мг/мл активного вещества PRX-105 в физиологическом растворе (0,9 % NaCl) было проведено впервые. DEPQ в данном случае не применяли. Рекомбинантную ацетилхолинэстеразу PRX 10⁵ все добровольцы перенесли хорошо. Ответную аллергическую реакцию на фермент не наблюдали [20].

К настоящему времени российскими и зарубежными учеными предложен ряд новых принципов создания профилактических антидотов ФОВ [17, 21–23]. Одним из них является стратегия защиты АХЭ, состоящая в модификации активного центра (АЦ) фермента путем селективного связывания с циклическими лигандами, которые блокируют прохождение молекул фосфорорганических токсикантов к АЦ фермента, но не влияют на его ферментативную активность по отношению к ацетилхолину [21–23].

Методом молекулярного моделирования были раскрыты широкие перспективы создания циклических соединений, получены мутанты АХЭ, которые могут быть использованы

для реализации предлагаемой стратегии создания эффективного антидота [22].

Еще одним новым направлением создания профилактических антидотов является нейтрализация действия ФОВ путем снижения его концентрации в кровяном русле, при использовании антидотов-«биоловущек», которые предотвращают перенос токсичных молекул к физиологическим мишеням [21]. Исследования в этом направлении интенсивно проводятся в США, Франции и России.

Поскольку бутирилхолинэстеразы (БХЭ) в организме человека содержится значительно больше, чем АХЭ, они имеют близкие структуры активного центра и специфичные субстраты, а также являются мишенью для одних и тех же токсичных соединений, поэтому принято считать, что БХЭ может защищать АХЭ от соединений антихолинэстеразного действия путем их связывания с образованием фермент-ингибиторного комплекса с последующим необратимым ингибированием фермента в случае взаимодействия с ФОВ.

БХЭ не вызвала до последнего времени особого интереса, пока министерство обороны США не ассигновало миллион долларов на массовое производство очищенного препарата БХЭ человека для защиты от ФОВ. Исследования на животных (полевых мышьях) показали, что использование БХЭ в качестве антидота полностью защищало их от 5 доз LD₅₀ ФОВ. В данном случае БХЭ выступала в роли антидота-«биоловущки» [21].

Оценка эффективности влияния свежезамороженной плазмы крови на терапевтические эффекты, полученные у пациентов при отравлении ФОВ, показала, что терапия плазмой крови может быть эффективным альтернативным или вспомогательным методом лечения [21].

Для массового производства БХЭ были разработаны два промышленных процесса. Первый – в США, основанный на очистке природного фермента плазмы крови человека. Однако выход такой очищенной БХЭ был низкий – из одного литра плазмы получили около 1 мг БХЭ. После этого в 2006 г. высокоочищенная БХЭ была объявлена FDA (Food and Drug Administration FDA) новым исследуемым лекарством для обеспечения защиты от ФОВ в США [24].

Второй процесс был разработан фирмой Nexia в Канаде. В этом процессе использовался рекомбинантный фермент человека, продуцируемый в молоке трансгенных коз. Выход рекомбинантной БХЭ по этой технологии значительно выше. Начиная с 2006 г., фирма «Pharmatheme» в Мэриленде, США,

разрабатывает производные этого рекомбинантного фермента [25].

Интерес также представляют результаты совместных исследований российских и зарубежных ученых по созданию рекомбинантной БХЭ в качестве антидота ФОВ [26]. Проведенная модификация БХЭ позволила авторам создать устойчивые в кровотоке «биоловухи», которые длительное время защищали мышей против 4,2 доз LD_{50} вещества VX.

Принцип действия каталитических «биоловух» основан на идее непрерывного захвата и разложения ФОВ в кровотоке еще до достижения ими центральной, периферической и нервно-мышечной систем ферментами, модифицированными сайт-направленным мутагезом [26].

К числу наиболее ранних работ, посвященных оценке перспективы детоксикации ФОВ с использованием рекомбинантных ферментов – каталитических «биоловух», относятся исследования, выполненные в Медицинском научно-исследовательском институте Химической защиты армии США [27, 28].

На основе результатов компьютерного моделирования и сайт-направленного мутагеза с заменой аминокислоты в полипептидной цепи активного центра БХЭ получены мутанты по аминокислотным остаткам G117H и G117K, устойчивые к ингибированию заринном и VX. Также компьютерным моделированием дополнительно был получен мутант E197G, а путем двойного замещения был получен мутант G117H/E197G, который проявляет две запрограммированные функции: совмещает очень низкую скорость «старения» фосфорилированного мутанта E197Q с ускорением дефосфорилирования мутанта G117H. Мутант G117H/E197Q способен катализировать гидролиз зарина, VX и всех четырех стереоизомеров зомана [28]. Однако его каталитическая активность была слишком слаба, чтобы представлять фармацевтический интерес.

Мутант БХЭ – G117H был идентифицирован как перспективная каталитическая «биоловушка» с улучшенной активностью против зарина, но не удовлетворял требованиям к клиническому использованию. Поэтому исследователями были созданы еще более 60 двойных и тройных мутантов человеческой БХЭ с мутантом G117H и мутантов человеческой АХЭ. Однако ни один из этих мутантов не был активнее мутанта G117H по отношению к зарину и VX.

Для получения более активной каталитической ловушки были проведены исследования по изучению механизма достижения мутантом G117H каталитической активности против такого сильного ФОВ, как зарин, а также определены

значения свободных энергий для спонтанной реактивации природной БХЭ и ее мутанта G117H, фосфорилированных заринном [29].

Работы по компьютерному моделированию, направленному мутагезу, квантово-механическим расчетам и получению новых вариантов мутантов БХЭ продолжают и в настоящее время. Авторы исследований приходят к заключению о перспективности использования, с точки зрения фармацевтического применения, главным образом, только рекомбинантных ферментов [21, 30].

Таким образом, анализ литературных данных позволяет сделать заключение о перспективности использования рекомбинантных ферментов бактериального происхождения и холинэстераз для решения ключевых проблем в области защиты от пестицидов и фосфорорганических соединений нервнопаралитического действия, в том числе от боевых отравляющих веществ.

II Ферменты в качестве компонентов средств защиты

В данном направлении ведутся интенсивные исследования как в США, так и в России. Наиболее эффективными в составе средств индивидуальной защиты являются материалы, в состав которых входят как химические, так и биологические (иммобилизованные ферменты) – катализаторы деструкции ФОВ.

В литературе описаны эффективные защитные материалы, в состав которых в качестве сорбентов и одновременно катализаторов разложения ФОВ входят оксиды металлов [31, 32] или комплексные соли металлов [33].

Такие защитные материалы при контакте с VX или зоманом в концентрации 10 г/м² вызывали их разложение на 59 и 98 % соответственно, за 24 ч. Однако использование этих катализаторов приводит к значительному удорожанию самих защитных материалов, поскольку эффективный гидролиз достигается лишь при высоком содержании катализаторов и высокой степени их измельчения.

Альтернативой химическим катализаторам, вводимым в защитные фильтрующие сорбирующие самодегазирующие материалы, могут составить ферменты, способные высокоспецифично катализировать гидролиз токсичных веществ.

Преимущества фильтрующе сорбирующих материалов на основе ферментов обусловлены тем, что скорости разложения ФОВ под действием, например, органофосфатгидролазы, превышают скорости реакций, катализируемых химическими реагентами [13], и при этом одинаковая степень конверсии ФОВ достигается при существенно меньших коли-

чествах ферментов, чем в реакциях с химическими катализаторами [6].

Считается, что наиболее целесообразно использовать ферменты в иммобилизованной форме, которая обеспечивает длительное сохранение каталитической активности ферментов и упрощает процедуру их введения в структуру защитных материалов [6]. Кроме того, ферменты в иммобилизованной форме в составе материалов гарантируют не только достаточную сильную сорбцию и удерживание ФОВ, но и осуществляют их разложение (дегазацию).

В США разработан фильтрующе-сорбирующий материал, представляющий собой полиуретановую губку, содержащую ковалентно-иммобилизованную органофосфатгидролазу и частицы активированного угля [34].

Включение активного угля в сорбент и иммобилизация фермента осуществляется непосредственно в процессе полимеризации и формирования полиуретанового носителя. Максимальная концентрация фермента в составе такого материала составляет 8 мг/см². Данный материал предназначен для детоксикации зарина, зомана и VX в составе средств индивидуальной защиты, однако из открытой печати пока известны лишь результаты его успешного применения только в отношении фосфорорганических пестицидов [35-39].

Другой фильтрующе-сорбирующий самодегазирующий защитный материал состоит из трех слоев [40].

Верхний слой выполнен из полипропилена, поликарбоната или бутилкаучука. Этот слой, контактирующий, в случае поражения, с каплями токсичных веществ, предотвращает проникание жидкой фазы веществ во внутренние слои материала и обеспечивает равномерный подвод их паров к внутренним слоям материала.

Средний слой, предназначенный для сорбции паров токсичных веществ и их дегазации, состоит из резины или вспененного пластика с импрегнированными частицами активированного угля, фермента фосфорилфосфатазы и йодбензойной кислоты.

Нижний слой, непосредственно прилегающий к кожному покрову, представляет собой целлюлозосодержащий материал.

Недостатком данного защитного материала является ограничение его каталитической активности из-за наличия резины или вспененного пластика, что не способствует удерживанию в микроокружении фермента воды, необходимой для гидролиза [6].

В последние годы появились технологии получения текстильных материалов, в которых все чаще внедряются специальные отделочные

препараты, пропитки и обработки тканей различными наноразмерными покрытиями.

В России также разработан фермент-содержащий материал, предназначенный для использования в составе средств индивидуальной защиты от ФОВ. Действие данного материала основано на одновременной абсорбции и детоксикации (гидролизе) ФОВ под действием иммобилизованного фермента His₆-ОФГ в нативной форме.

В качестве носителя для физической иммобилизации фермента используется сорбент на основе акрилата Stochosorb 500 Powder, который обладает колоссальной абсорбционной емкостью и способен удерживать большие объемы сорбируемых веществ, увеличивая свою массу до 3000 раз [41].

При нанесении на поверхность разработанного фильтрующе-сорбирующего самодегазирующегося материала вещества типа VX, зомана или зарина в концентрации 10 г/м² происходит нейтрализация паров ФОВ при температуре до 45 °С на 100 % за 3-7 ч при рН 7,8-10,5, и гарантируется отсутствие паров токсичных химикатов за слоем защитного материала на протяжении не менее 96 часов. Данный материал сохраняет свои защитные свойства на 100 % после его хранения в герметичной упаковке до 12 мес [41]. На рисунке 5 представлена схема защитного материала на основе иммобилизованного фермента His₆-ОФГ.

Разработанный в России материал включает: верхний слой, изолирующий от проникновения токсичных веществ в виде жидкости; средний сорбирующий и самодегазирующий слой содержит фермент; нижний слой, выполненный из тканого или нетканого целлюлозосодержащего материала, предназначен для контакта с кожным покровом.

В виде верхнего слоя материал содержит полиуретановую или фторолефиновую мембранотканевую составляющую. В качестве дегазирующего элемента у разработанного материала – полипептид со свойствами органофосфатгидролазы (His₆-ОФГ), а в качестве компонента, сорбирующего и удерживающего дегазирующий элемент в буфере, содержит сорбент – сшитый акрилат с проклейкой всех слоев материала связующим компонентом. Данный сорбент нетоксичен как при пероральном попадании в организм, при воздействии на кожные покровы и органы зрения человека и животных.

Применение полиуретановой или фторолефиновой мембранотканевой составляющей (полиамид-хлопчатобумажная ткань с полифторолефиновой или полиуретановой поверхностью, обладающая олеофобными

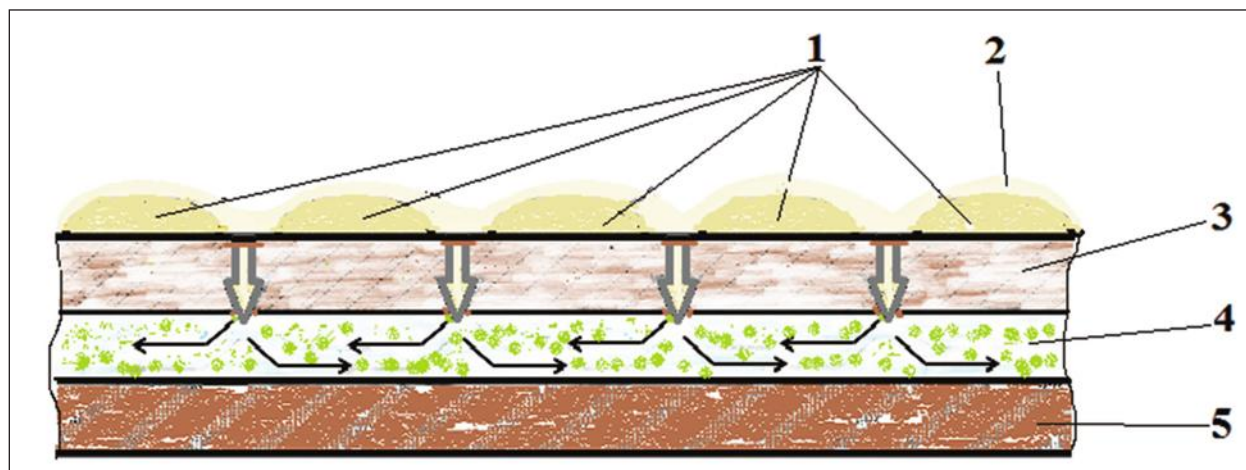


Рисунок 5 — Схема защитного материала на основе иммобилизованного фермента His₆-ОФГ (1 – капли ОВ на поверхности материала; 2 – паровая фаза ОВ в приповерхностном слое; 3 – верхний изолирующий слой; 4 – слой, содержащий иммобилизованный фермент His₆-ОФГ; 5 – нижний гигиенический слой)

свойствами) в защитном материале позволяет осуществлять защиту от жидкой фазы различных токсичных веществ, не пропуская ее к нижележащим слоям и кожным покровам. При этом обеспечивается равномерное распределение и дозировка подвода паровой фазы различных токсичных веществ к сорбирующему слою.

Использованная в данном материале физическая иммобилизация (сорбция) в объеме абсорбента раствора полипептида, обладающего свойствами органофосфатгидролазы, в нативной форме является новым, ранее неизвестным техническим решением при создании защитных материалов. Указанное выше сочетание всех основных компонентов фильтрующе-сорбирующего самодегазирующегося материала в соотношениях в составе материала ранее описано не было.

Испытания защитных свойств материала, в частности, проникновение отравляющих веществ через образцы, изучение кинетики разрушения фосфорорганических веществ в сорбционном слое, определение механизма и времени деструкции ОВ были проведены в 27 НЦ МО РФ по утвержденным методикам в соответствии с ГОСТ В 16797-76.

Проведенная экспериментальная проверка фильтрующе-сорбирующего самодегазирующегося материала показала, что олеофобная мембрана, представляющая верхний слой пакетов материалов, содержит само VX и дисульфид – один из первичных продуктов его распада, в то время как в среднем слое, который содержит иммобилизованный фермент His₆-ОФГ, VX и дисульфид отсутствовали. Однако в нем присутствовали продукты деструкции VX: МФК, ее кислый эфир и фос-

форная кислота, что свидетельствовало о прошедшем процессе биокаталитического гидролиза как самого VX, так и продуктов его деструкции (эфиров МФК, МФК) под действием иммобилизованного фермента His₆-ОФГ. Обнаружение фосфорной кислоты, в свою очередь, указывает на возможное расщепление С-Р связи в МФК [41, 42].

В таблице 1 представлены данные о степени конверсии субстратов (ОВ и их структурных аналогов) с помощью иммобилизованной органофосфатгидролазы и ее модифицированной формы – генетически модифицированного фермента His₆-ОФГ, нанесенного на разные носители.

Другим известным вариантом материала, содержащего ОФГ и предназначенного для гидролиза ОВ после удаления их с различных твердых поверхностей, в том числе кожи, является ткань, разработанная при использовании современного технологического оборудования, применяемого в текстильной промышленности для выпуска тканей, покрытых хитозановыми гелями, обеспечивающими материалу повышенную влагопоглощающую способность (Таблица 1) [43, 44].

Такая ткань перед ее применением может длительное время храниться без микробной контаминации во влажном состоянии в герметичных контейнерах, готовая к непосредственному применению.

Представляется целесообразным в дальнейшем проведение исследований пакетов защитных материалов, содержащих фермент органофосфатгидролазу His₆-ОФГ не только в нативной форме, но и в виде наноразмерных частиц полиэлектrolитных комплексов фермента.

Таблица 1 — Каталитические характеристики иммобилизованной ОФГ в реакциях гидролиза различных ФОВ и их структурных аналогов

Тип иммобилизации	Носитель	Субстрат	Степень конверсии субстрата, %	Ссылка на литературу
Препараты для технологии разложения ФОВ				
Ковалентная с помощью глутарового альдегида	наylon	ДФФ	20	[45]
Физическая адсорбция	тритул-агароза	ДФФ	22,5	[46]
Ковалентная с помощью изоцианатпропилового спирта	Силикагель, полиуретан	ДФФ	95 45	[47]
Препараты для защитных материалов				
Физическая абсорбция	латексная краска	Зоман, ДФФ, VX	62 32 45	[48, 49]
Ковалентная с помощью глутарового альдегида	хитозановый гель на тканевой подложке	ДФФ	100	[43]
Физическая абсорбция	акрилатный гель на тканевой подложке	Зоман, зарин, VX	100	[41]
Примечание ДФФ - диизопропилфторфосфат (аналог зарины и зомана)				

Иной подход к обеспечению безопасности в отношении ФОВ за счет создания защитных фермент-содержащих средств был продемонстрирован компанией Reactive Surfaces Ltd. (США) в виде биокаталитических латексных красок, имеющих сегодня торговую марку OPD_{тох}TM (Таблица 1) [48, 49]. Данная разработка подтверждает возможность использования ОФГ в качестве основного действующего компонента защитного материала, наносимого на какую-либо поверхность (транспорт, стены помещений, реакторы и др.).

Исследование эффективности гидролитического действия биоактивных красок в отношении ФОВ позволило установить, что степень конверсии токсичных веществ не достигает 100 %, по-видимому, вследствие ограничения каталитической реакции по наличию в микроокружении фермента воды. В то же время показано, что смачивание поверхности, покрытой биоактивной краской, содержащей рекомбинантную ОФГ, позволяет активировать ферментативный катализ.

Таким образом, анализ современных достижений в химической энзимологии, биотехнологии и приведенные результаты исследований подтверждают перспективность применения стабилизированных форм фермента для разложения ФОВ в составе защитных материалов, а также отражают растущий к ним интерес.

III Биокатализаторы для очистки окружающей среды

При помощи биокатализаторов на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов можно проводить очистку почвы, воды и твердых поверхностей, загрязненных ФОС, в том числе ФОВ и токсичными продуктами их деструкции.

К настоящему времени выделено значительное число бактериальных ферментов и штаммов микроорганизмов-деструкторов, катализирующих гидролиз ФОС и в том числе ФОВ. Проведенная модификация активных центров ферментов позволила получить большое количество мутантов, отличающихся способностью к эффективному катализу деструкции ФОС и ФОВ.

Детоксикация различных ФОС в почве, воде и на различных твердых поверхностях с помощью биокаталитических систем довольно широко исследуется на протяжении последних десятилетий. Впервые бактериальные ферменты, катализирующие гидролиз фосфорорганических токсикантов с высокой скоростью и широкой специфичностью к субстрату, были выделены 1940-е гг.

Так, из образцов почв была выделена фосфотриэстераза (ФТЭ), накапливающаяся в клетках бактерии рода *Flavobacterium* [50]. Приблизительно в то же самое время из почвенной бактерии *Pseudomonas diminuta* был выделен фермент, гидролизующий параоксон [51]. По-

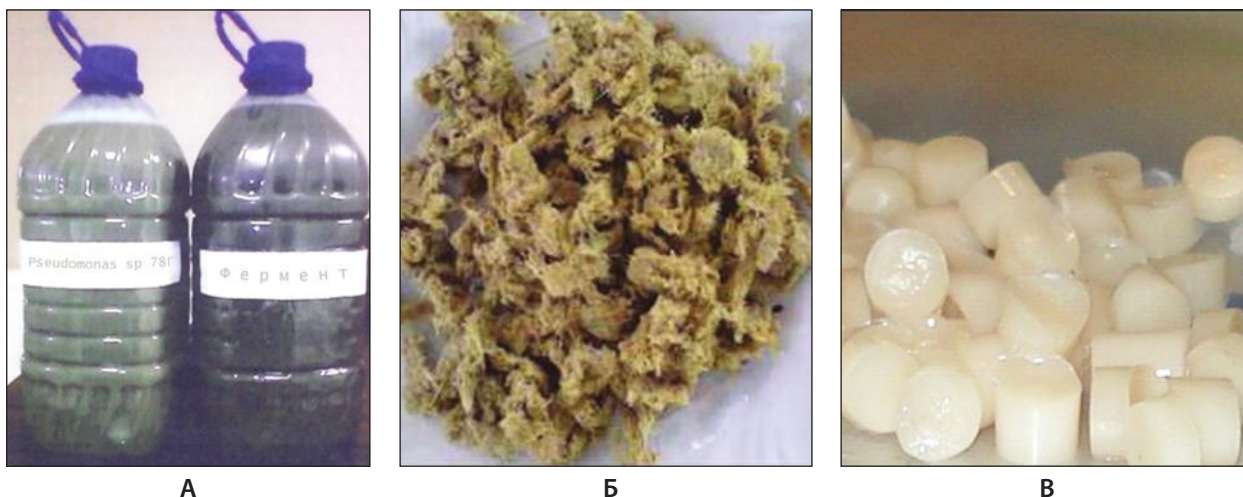


Рисунок 6 — Виды биопрепаратов на основе фермента His₆-ОФГ и клеток микроорганизмов-деструкторов *Pseudomonas* sp. 78Г для очистки почвы и воды, зараженных ФОС и продуктами их детоксикации (А - Биокатализатор на основе клеток *Pseudomonas* sp. 78Г; Б - Биокатализатор на основе фермента His₆-ОФГ, нанесенный на делигнифицированную пшеничную солому; В - Гранулы биокатализатора на основе клеток *Pseudomonas* sp. 78Г иммобилизованных в криогель поливинилового спирта)

следовательности генов, кодирующих синтез обоих ферментов, оказались идентичны.

Ген из клеток бактерии рода *Pseudomonas* был клонирован в разных «хозяевах», включая клетки *Escherichia coli* [52]. Полученный при этом рекомбинантный фермент ФТЭ исследовался для выяснения его способности гидролизовать ФОВ с высокой скоростью, тогда как эти же самые ФОВ являются чрезвычайно мощными ингибиторами АХЭ.

Установлено, что мутантный фермент ФТЭ способен гидролизовать параоксон с огромной скоростью: $k_{cat} = 3,000 \text{ с}^{-1}$. Большая часть исследований оценки ФТЭ проводилась с производными параоксона, поскольку концентрация накапливающегося продукта нейтрализации (нитрофенолят-иона) относительно просто определяется спектрофотометрическим методом [53].

В качестве эффективных средств для очистки окружающей среды особый интерес представляют биокатализаторы на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов.

На рисунке 6 представлены разные виды биокатализаторов на основе фермента и микроорганизмов-деструкторов, которые использовались для очистки почвы и воды, содержащих ФОС и продукты их разложения.

В отличие от других методов обезвреживания токсичных веществ, использование биокатализаторов на основе ферментов и штаммов микроорганизмов-деструкторов выгодно отличается отсутствием вторичных отходов, высокой степенью деградации, возможностью полной ассимиляции продуктов [50, 51].

В качестве конечных продуктов при деградации ОВ и продуктов их детоксикации с помощью таких биокатализаторов образуются углекислый газ, метан, вода и неорганические соли [52, 53].

Исследования, проведенные отечественными и зарубежными учеными, показали, что, используя биотехнологические методы, можно достичь повышения уровня ремедиации почвы, восстановления воды и очистки поверхностей за счет полной деструкции (минерализации) продуктов детоксикации отравляющих веществ и попавших в них токсичных химикатов [54–72].

Публикации, касающиеся разложения отравляющих веществ в почве и водных растворах с участием микроорганизмов и ферментов, появились в научной литературе в 1990-х гг. [73–78].

Так, группа исследователей под руководством Chakrabatru и Camely получила фермент, способный разрушать химические связи в ОВ нервнопаралитического действия (зарин, зоман, табун). Авторами показано, что выделенный фермент – кислая ангидролаза – продуцируется микроорганизмом рода *Altermonas* и может быть использован для детоксикации почвы и других природных сред [79].

Оказалось, что многие природные штаммы микроорганизмов содержат в своих клетках ферменты, способные катализировать гидролиз ингибиторов ацетилхолинэстеразы, включая ДФФ, зоман и другие ФОС.

Примером таких штаммов является штамм *Tetrahymena thermophile*, из клеток которого выделены четыре формы кислой ан-

гидролазы. Фосфотриэстеразы, выделенные из штамма *Pseudomonas diminuta*, с высокой эффективностью проводят расщепление С-Р связи в молекулах зарина и зомана [79], а фермент пропилфторфосфатаза, полученный из клеток *Pseudomonas diminuta* MG, осуществляет расщепление диизопропилфторфосфата [80, 81].

Американский ученый De-Frank обнаружил несколько видов морских бактерий, способных продуцировать нетоксичные ферменты, которые разрушают ФОВ в условиях химического заражения местности [82].

Поскольку ферменты – это биологические катализаторы, то для обеззараживания загрязненной почвы, воды и твердых поверхностей требуется небольшое их количество. Важнейшим преимуществом такой ферментативной деструкции является совместимость ферментов с любыми биологическими системами, что обеспечивает экологическую безопасность процесса деструкции малых концентраций ОВ, продуктов их детоксикации и отходов.

Кроме этого, процесс биотрансформации ФОВ может проходить под действием не только ферментов, выделенных из клеток бактерий, но и под действием анаэробных и аэробных штаммов микроорганизмов или их ассоциаций, а также дрожжей и грибов [83–86]. Было показано, что анаэробное разложение под действием метаногенных микроорганизмов протекает при pH = 4–10 и температуре от 5 до 60 °C, в течение от нескольких суток до нескольких месяцев. Бионейтрализация ОВ и продуктов детоксикации делает процесс их уничтожения полностью необратимым.

По мнению ученых, микробиологическое разложение ФОВ, содержащих С-Р связь, в том числе О-изопропилового и О-пинаколилового эфиров метилфосфоновой кислоты, которые являются продуктами гидролиза зарина и зомана, осуществляется практически полностью путем непосредственного расщепления С-Р связи с выделением метана штаммом *Pseudomonas testosterone* [87 – 89].

Известно, что продукт детоксикации ФОВ – метилфосфоновая кислота (МФК) стабильна в окружающей среде [90–95], так как она устойчива к гидролизу и термическому разложению. Это соединение было обнаружено спустя 10 лет после заражения сухой почвы на полигоне Дагуэй (США). Скорость разложения МФК в окружающей среде определяется процессами биодеструкции и прочностью связи С-Р, испарение кислоты из воды невозможно, так как МФК в воде может диссоциировать [96–98].

Установлено, что чем сильнее молекулярное строение того или иного загрязнителя отклоняется от строения близких природных веществ, тем сложнее идет процесс его биологического разложения [99].

Способность микроорганизмов использовать фосфорорганические соединения с С-Р связью в качестве единственного источника фосфора известна сравнительно давно. Впервые доказательство биологического расщепления С-Р связи было получено на примере *E. coli*, которая в качестве единственного источника фосфора использовала метилфосфоновую или этилфосфоновую кислоты [100].

Анализ работ по микробиологическому разрушению фосфонатов показал, что в природе существует большое количество микроорганизмов-деструкторов фосфонатов, относящихся к разным систематическим группам. Такие микроорганизмы были выделены как из загрязненных, так и из незагрязненных фосфонатами источников окружающей среды. Однако разлагать фосфонаты способны, скорее, только особые штаммы или определенные их ассоциации [101]. Это свидетельствует о более широком распространении фосфонат-разлагающих микроорганизмов, чем предполагалось ранее [84].

Отмечена способность к деградации у фотосинтетического организма *Rhodobacter capsulatus*, галофильных бактерий *Chromohalobacter marismortui* и термофильных бактерий *Geobacillus caldoxylosilyticus*.

Большинство бактерий, способных разрушать фосфонаты по С-Р лиазному механизму, относятся к грамтрицательным бактериям, однако известны и представители грамположительных бактерий – *Arthrobacter sp.* GLP-1 и *Bacillus megaterium*, обладающие подобной способностью. У других грамположительных бактерий С-Р лиазная активность не обнаруживалась. С-Р лиазную активность проявляют в основном отдельные представители классов *Arthrobacteriaceae*, *Bacillaceae*, *Rhodobacteriaceae*, *Alcaligenaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Kluyvera*) и *Rhizobiaceae* (*Rhizobium*, *Agrobacterium*).

Наименее изученными являются процессы микробиологического разложения иприта [бис(2-хлорэтил)сульфид]. С одной стороны, это вещество гидролизует в присутствии воды с последовательным образованием иприт-хлоргидрина и тиодигликоля, а с другой – имеются примеры поражения людей остатками иприта через 50 лет после его попадания в почву [102]. Результаты непосредственного экспериментального изучения динамики изменения концентрации

иприта в почвах в открытой литературе не описано. Возможно, что при недостатке воды в почвах иприт разлагается с образованием 1,2-бис(2-хлорэтилтио)этана и более высокомолекулярных аддуктов, а также 1,2-дихлорэтана и 1,4-дитиана.

Предполагают, что иприт достаточно долго сохраняется в почве в капсулированном виде в высокомолекулярных продуктах, что замедляет его растворение и разложение [103].

В литературе имеются данные, свидетельствующие, что в водных системах происходит полное разложение иприта под действием бактерий *Pseudomonas testosterone* и *Pseudomonas putida*, выделенных из донного ила Мексиканского залива и утилизирующих тиодигликоль [104].

Рассматривая возможность биодеструкции иприта в водных средах, нельзя не отметить тот факт, что иприт сам по себе плохо растворяется в воде. Кроме того, при контакте с водой он принимает шарообразную форму и его частицы образуют нерастворимую оболочку. Эти глобулы чрезвычайно устойчивы к воздействию факторов окружающей среды. Поэтому для деструкции иприта в водной среде используют системы органических растворителей в смеси с водой. В работе Milstein [105] показана возможность использования ферментов для разложения иприта с применением 17-ти различных органических растворителей и воды. Было отмечено, что присутствие воды необходимо для успешного процесса деструкции данного ОВ.

Известно, что иприт и органоарсениты необратимо воздействуют на молекулы биообъектов. Так, технический иприт и рецептура иприта реагируют с нуклеиновыми кислотами в организме с образованием мутаций. Это, в свою очередь, может ограничивать применение микроорганизмов для уничтожения иприта и органоарсенита. Применение же бактерий для разложения продуктов их нейтрализации является весьма эффективным.

Чрезвычайно сложной представляется очистка окружающей среды от мышьяка. Для снижения концентрации арсенитов в грунтовых водах до предельно допустимого уровня (50 мкг/мл) предлагается адсорбция их из водоносных пластов на мелкодисперсном алюминии [106]. Одновременно, как наиболее перспективный способ удаления мышьяка из почв, рассматривается абсорбция его биоокисляющими микроорганизмами при предварительной обработке почвы.

Технология сходна с технологиями, используемыми в процессе добычи металлов. При этом происходит концентрирование в клетках микроорганизмов содержащегося в

почве мышьяка [107]. Исследования, проведенные с использованием лабораторного реактора непрерывного действия, показали, что бактерии *Sulfolobus*, окисляющие арсенопириты, обеспечивают полный переход содержащегося в почве мышьяка в раствор [108]. Выделенные из загрязненной мышьяком окружающей среды бактерии *Pseudomonas putida* оказались резистентны к его высоким концентрациям (до 10 г/л). Эти микроорганизмы разлагают метилированные производные мышьяка, что может быть использовано для биотехнологического восстановления почв.

Известно, что растения способны абсорбировать мышьяк и другие тяжелые металлы из почв и грунтов и тем самым очищать их. В патенте [109] предложен способ очистки почв, загрязненных продуктами природного и техногенного разложения токсичных веществ. Для очистки почв от тяжелых металлов используют сельскохозяйственные растения: сорго, суданская трава, подсолнечник.

При этом отмечается, что доступность тяжелых металлов растениям не постоянна. Она варьируется от одного вида растений к другому, зависит от почвенных и климатических условий. К почвенным факторам, значительно влияющим на доступность поглощения тяжелых металлов, относятся: механический состав, реакция (рН) почвы, содержание органического вещества, катионообменная способность и дренаж [110].

Для обеспечения экологической безопасности водных объектов, в которые сбрасываются сточные воды с химических объектов, содержащие «осколки» различной химической природы, необходима система доочистки стоков от загрязнителей до регламентируемых уровней.

Так, для очистки стоков, содержащих избыточное количество фосфора, необходимо предварительное проведение трансформации в легкодоступные для бактерий формы. Например, микроорганизмы *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* превращают труднодоступные формы фосфора в легкоусвояемые [111].

Биологическое окисление и восстановление фосфора имеет ряд особенностей. Фосфор, подобно азоту и сере, имеет ряд валентностей от P^{3-} в фосфористом водороде до P^{5+} в ортофосфорной кислоте. Но, в противоположность азоту и сере, почти не обращалось внимания на способность микробов переводить фосфор из одной степени окисления в другую.

Микроорганизмы в присутствии органического вещества способны в анаэробных условиях восстанавливать соли фосфорной

кислоты вплоть до фосфористого водорода. Процесс, по-видимому, в биохимическом отношении аналогичен денитрификации [112].

Создание в очистных сооружениях чередования аэробных и анаэробных условий может привести к активации механизма клеточного накопления и стимулирования процессов денитрификации и абсорбции фосфатов.

Наблюдения за работой производственных очистных сооружений показали, что активный ил, выдержанный в анаэробных условиях, содержит двухвалентное железо в форме сульфида железа и фосфата закиси железа. При использовании такого ила в качестве биогенных добавок и источника Fe^{2+} в аэротенках развиваются бактерии *Leptothrix*, в метаболизм которых включается фосфат закиси железа. Он накапливается в пустых отмерших клетках бактерий в виде фосфата железа, который удаляется с избытком активного ила. В очищенной таким методом воде фосфор полностью отсутствует [113].

Аэробная биологическая очистка сточных вод ведет к минерализации значительной части окисляемых бактериями органических веществ, но обычно не способна устранить более 50 % фосфорных соединений. Возникающие трудности связаны с нарушением оптимальных соотношений углерода, азота и фосфора в активном иле, при которых оптимизирован процесс микробной утилизации этих соединений. В связи с этим при очистке сточных вод от азота и фосфора используют широко распространенный способ применения культур микроводорослей.

Имеются сообщения об успешном использовании смешанных культур микроводорослей родов *Chlorella* и *Scenedesmus* для очистки сильно загрязненных стоков. При этом достигается очистка на 90 % по азоту и фосфору [114, 115].

В работе [116] установлено, что зеленые водоросли извлекают от 50 до 96 % фосфора при концентрации 10–20 мг/л в течение 2–3 суток.

Проведенный анализ литературных данных по очистке сточных вод от соединений фосфора показал, что перспективным методом является комбинированный метод, сочетающий химическое осаждение с микробиологической очисткой [117–123]. Осаждение фосфатов в этом методе осуществляется путем добавления водорастворимой соли алюминия, кальция, железа или солями редкоземельных элементов (хлорид или сульфат лантана). Отделение осажденных фосфатов можно облегчить применением флокулянта, водорастворимого органического полиэлектролита, например, частично гидролизованного полиалкиламина [124, 125].

Из литературы известны комбинированные физико-биологические методы удаления фосфора из сточных вод, примером такого метода является использование мембранного разделителя, через который пропускаются сточные воды после обработки их бактериями, потребляющими фосфор [126].

Необходимо отметить, что после применения таких комбинированных методов очистки, даже при минимальном содержании в них контролируемых загрязнителей, необходимо проведение токсикологического анализа очищенных сточных вод в связи с тем, что сложные органические вещества при разложении способны соединяться с различными продуктами метаболизма микроорганизмов с образованием токсичных продуктов биосинтеза.

Токсикологическую оценку качества обезвреживаемых стоков рекомендуется проводить биотестированием с использованием живых водных организмов [127–130].

Биотестирование дает гарантированную оценку безопасности очищенных сточных вод и позволяет выбрать такие способы очистки, которые обеспечивают не только достаточное разложение загрязнений, но и полную детоксикацию сточных вод. Это особо важно при глубокой биологической очистке воды, содержащей продукты деструкции отравляющих веществ.

Анализ исследований, проведенных на протяжении последних десятилетий, показал, что российскими учеными в этот период были разработаны биотехнологические методы, созданы, наработаны и экспериментально апробированы нейтрализующие средства (биокатализаторы на основе ферментов и штаммов микроорганизмов-деструкторов), обладающие повышенной способностью к разложению отравляющих веществ и продуктов их детоксикации в процессе очистки почв и вод. Определены основные технологические операции и стадии биоремедиации почвы и очистки воды в реакторах *ex situ* и непосредственно в условиях окружающей среды *in situ*. Разработана «дорожная карта» биотехнологической экологически безопасной санации почвы и очистки воды *in situ* [131–134].

Полученные биокатализаторы на основе штаммов микроорганизмов-деструкторов были испытаны при рекультивации почвы объекта по уничтожению химического оружия «Марадковский» [135–137]. Биокатализаторы на основе фермента His_6 -ОФГ и консорциумов микроорганизмов-деструкторов апробированы в лабораторных условиях для очистки разных видов почв и вод, загрязненных ФОС, ФОВ и продуктами их деструкции [72, 74, 76, 138].

Интересным направлением исследований оказалось создание пенных покрытий, содержащих ферменты (ФПП) для очистки твердых поверхностей, загрязненных токсичными химикатами.

Идея использования ферментов, в частности ОФГ, в составе пенных композиций принадлежит американским исследователям, которые в конце 1990-х гг. впервые апробировали использование высокоочищенного фермента ОФГ, не имеющего в своей структуре полигистидиновой последовательности, для введения в «пенные системы» [139]. В частности, они смешивали ОФГ со «стандартным» пенообразователем для пожаротушения «First Defense» (4 %-ный рабочий раствор), подвергали полученную рецептуру механическому вспениванию в течение 30-40 сек. и полученной пеной обрабатывали поверхность, загрязненную ФОС.

Кратность пены составляла 9. Остаточная ферментативная активность, определенная в жидкой фазе, после оседания пены составляла 10 % от изначально внесенной. Тем не менее, такой активности было достаточно, чтобы в течение 1 ч полностью гидролизовать пестицид параоксон, нанесенный в концентрации $0,72 \text{ г/м}^2$ и распределенный по поверхности в виде слоя пены высотой 1,2 см, который был сформирован из раствора ОФГ ($3,4 \text{ мг}_{\text{белка}}/\text{л}$) с исходной активностью 8,9 Ед./мл. Увеличение в проводимых экспериментах концентрации загрязняющего вещества в 5,8 раз (до $4,2 \text{ г}_{\text{параоксона}}/\text{м}^2$) потребовало увеличения ферментативной активности, присутствовавшей в составе пенной рецептуры, в 4,6 раза, но при этом степень разложения параоксона за 1 ч составила только 70 %. Следовательно, для детоксикации сильного загрязнения ФОС требуется увеличение ферментативной активности и/или слоя пенного покрытия. Как следствие, можно ожидать, что длительность экспонирования пены может быть снижена до 30 мин, так как 90–95 % загрязнителя ферментативно гидролизуются в течение этого времени.

Необходимо отметить, что в России также были проведены исследования по созданию пенного покрытия, но на основе фермента His₆-ОФГ [140]. Была использована стабильная форма фермента, полученная путем иммобилизации. Исследования показали, что увеличение остаточной активности стабилизированного фермента His₆-ОФГ в 3 раза по сравнению с ОФГ в соответствующее число раз увеличивало предельную концентрацию загрязнителя, гидролизуемого за тот же период времени. Вкупе с увеличенной исходной активностью и расширенной субстратной специфичностью,

которой обладает His₆-ОФГ в сравнении с ОФГ, это приводит к существенному повышению суммарного положительного эффекта от действия такой пенной рецептуры.

В созданное фермент-содержащее пенное покрытие были включены:

- фермент His₆-ОФГ как наиболее активный из всех известных ферментов, гидролизующих различные ФОС;
- карбонатный водный буфер как основа для создания среды, обеспечивающей подержание фермента в максимально активной форме;
- пенообразующий компонент в концентрации, необходимой для получения устойчивой пены в течение определенного времени, в соответствии с рекомендациями его производителей.

По мнению авторов, ФПП может быть использовано для дегазации различных поверхностей, загрязненных ФОС. ФПП обеспечивает гидролиз ФОС при нанесении на ВВСТ, почву, вертикальные твердые поверхности, а также на обмундирование личного состава в течение 30–60 мин. Может применяться при положительных температурах окружающего воздуха (8–40 °С) вне зависимости от уровня влажности и атмосферного давления.

Пенное покрытие может наноситься на обрабатываемую твердую поверхность слоем в 1-5 см (в зависимости от количества загрязняющих ФОС). Изготавливается непосредственно или незадолго перед использованием. Оно может быть также использовано в случае аварийных развалов твердых ФОС и разливов жидких ФОС на различных поверхностях, в том числе ВВСТ. Рабочий раствор пенного покрытия не токсичен для человека и животных, поэтому в исключительных случаях может быть применен для удаления ФОС с кожных покровов.

На рисунке 7 представлены образцы кафельной плитки с остатками старой штукатурки, которые были загрязнены параоксоном и после обработаны пенным покрытием, полученным при помощи миксерной технологии. Половина поверхности была обработана пеной без фермента, а вторая половина – добавлением фермента His₆-ОФГ.

Через 5–10 мин с помощью шпателя были освобождены некоторые участки твердой поверхности от пены. В случае использования пены с ферментом His₆-ОФГ на открытых поверхностях кафельной плитки наблюдали желтую окраску пены, которую давал продукт гидролиза параоксона – п-нитрофенол. Такая окраска отсутствовала в случае использования обычной пены без фермента.



Рисунок 7 — Обработка твердой поверхности фермент содержащим пенным покрытием (А – Образцы штукатурки перед обработкой; Б – Образцы штукатурки после загрязнения параоксоном и обработки пеной с ферментом His₆-ОФГ, полученной при помощи миксерной технологии)

Такой же эффект наблюдали при обработке поверхности влажного песка при помощи пены, содержащей фермент His₆-ОФГ. В качестве контроля были использованы: пена, не содержащая фермент, песок, влажный песок, само вещество параоксон.

Образцы пены получали также миксерной технологией. Обнаружение параоксона проводили газохроматографическим методом. В образцах, содержащих влажный песок, в который был добавлен параоксон и обработанный пеной с ферментом His₆-ОФГ, после 3-4 ч инкубации, полностью отсутствовало вещество параоксон. Следовательно, фермент, содержащийся в пене, осуществил полную деструкцию параоксона. Причем как и в случае с дегазацией на поверхности плитки (рисунок 7), наблюдали желтую окраску пены, которую дает п-нитрофенол. Такая окраска отсутствовала в контрольных образцах.

Таким образом, проведенный анализ литературных данных показал, что для очистки загрязненных токсичными веществ-

вами почвы, воды и твердых поверхностей могут быть использованы ферменты, отдельные штаммы микроорганизмов-деструкторов и различные их консорциумы как в иммобилизованном виде, так и их суспензии.

Механизмы и схемы проведения биологической деградации экотоксикантов и продуктов их деструкции в водных растворах, почве и на твердых поверхностях различны для разных штаммов микроорганизмов-деструкторов, их консорциумов и ферментов. Поэтому при разработке биотехнологий по очистке необходимо учитывать активность фермента, видовое происхождение используемого в технологии микроорганизма или состав консорциума, их биodeградирующие свойства, особенности поведения в сообществе с различными природными штаммами, способность к изменчивости в условиях неоднородности субстрата, а также характеристики почвы воды и твердых поверхностей и факторы, влияющие на механизм и скорость биodeградации.

IV Биопрепараты на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов для утилизации реакционных масс, полученных путем химической детоксикации отравляющих веществ

Для утилизации реакционных масс (РМ), образовавшихся после промышленного уничтожения (химической детоксикации) ФОВ, одним из наиболее привлекательных представляется биотехнологический подход, основанный на применении препаратов на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов.

Подсчитано, что количество образовавшихся РМ после уничтожения химического оружия в России в пять раз превосходит количество нейтрализованных отравляющих веществ. Основная часть этих РМ герметично затарена в металлические емкости и складирована в специальные подземные обвалованные железобетонные бункеры-хранилища до времени дальнейшей и окончательной их переработки.

Согласно принятым в России технологиям химического уничтожения ФОВ, в получаемых РМ остается часть неразложившихся нейротоксичных ФОВ [141, 142]. Поэтому дальнейшее обезвреживание образующихся РМ является крайне важной задачей, поскольку конечный состав РМ должен соответствовать нормативам токсикологической и экологической безопасности и быть безопасным для окружающей среды, а это означает, что необходимо провести разложение фосфонатов, как наиболее токсичных компонентов РМ, и переработать РМ до безопасных продуктов деструкции [143].

Кроме того, МФК, которая является продуктом разложения диизобутилового и изобутилового эфиров МФК (продуктов детоксикации вещества типа VX), входящая в состав РМ, также должна быть подвержена деструкции согласно Конвенции по запрещению и уничтожению химического оружия, как прекурсор ФОВ [144].

По нашему мнению, для разложения фосфорорганических компонентов РМ, полученных после уничтожения вещества типа VX, зарина и зомана, наиболее эффективными являются биокаталитические способы, поскольку они предполагают проведение биodeградации компонентов РМ в экологически безопасных условиях (без применения сильных химических окислителей и концентрированных щелочных растворов), а также в технологическом плане не требуют применения высоких температур, повышенного давления и использования оборудования, изготовленного из дорогих коррозионностойких материалов [145, 146]. При этом существует небольшой набор биологических катализаторов, которые могут быть вовлечены в схему разложения компонентов РМ,

и самым эффективным способом использования может быть их комбинированное применение, позволяющее последовательно осуществлять процесс деградации образующихся продуктов детоксикации ФОВ [5, 6, 9, 14, 76, 130, 138, 145, 146].

Анализ зарубежной литературы показал, что разработки относительно применения биокатализаторов на основе ферментов для целей уничтожения ФОВ касаются исключительно разложения чистых отравляющих веществ ферментами разной степени очистки [147–152]. Открытая информация об использовании ферментного гидролиза ФОС в составе сложных смесей – таких, какими являются РМ, получаемые по российской технологии уничтожения ФОВ, отсутствует [146].

В 2006–2007 гг. большой группой исследователей из ряда стран в рамках гранта НАТО (Project Groop 31, «Некоррозионные, биотехнологические методы деконтаминации химических агентов») был разработан способ, согласно которому реакционные массы подвергали интенсивному окислению под действием 30 % раствора перекиси водорода (H_2O_2) и УФ-излучением. Затем для разложения образовавшейся при этом МФК растворы обрабатывали иммобилизованным биокатализатором, представляющим собой искусственный микробный консорциум, в который входили бактериальные культуры различных штаммов (*Methylobacterium radiotolerans* штамм GB21, *Agrobacterium numefaciens* штамм GB2GA, *Klebsiella oxytoca* штаммы GB2CS и GB272, *Aureobactrium sp.* штаммы GB2, GB23, GB272 и GB292) [153 – 157]. Адсорбционную иммобилизацию клеток консорциума осуществляли на гранулах из вспененного полиуретана с введенными в него частичками активированного угля. Перед применением иммобилизованных клеток для биоразложения фосфорорганических компонентов проводили их адаптацию к токсичным субстратам путем введения 5 мМ изопропилового эфира МФК.

Под действием внутриклеточных ферментов искусственного микробного консорциума МФК разлагалась, образующийся фосфат клетки микроорганизмов усваивали в качестве источника фосфора. Для поддержания жизнедеятельности микроорганизмов процесс проводили при дополнительном введении в РМ источника углерода (глюкоза и др.). Далее оставшуюся после обработки РМ иммобилизованными клетками неразложившуюся МФК осаждали из растворов хлоридом железа (III). Образующиеся стоки выпаривали и сушили.

Этот способ обеспечивал 99 % разложение фосфорорганических компонентов. Общая длительность процесса занимала



Рисунок 8 — Внешний вид биокатализатора на основе иммобилизованных клеток *Pseudomonas* sp. 78Г, использованного на пилотной установке с целью обработки реакционных масс, полученных после уничтожения ФОВ

20 суток. Сухие остатки подлежали захоронению на специальных полигонах.

В России разработке эффективного способа детоксикации вещества типа VX и перевода токсичных химикатов в реакционные массы при воздействии на них рецептурой РД-4М было посвящено комплексное исследование, проведенное в 2007–2008 гг. [72, 138, 145, 146, 158 – 160].

На рисунке 8 представлены препараты, полученные и использованные для биообработки РМ вещества типа VX [159, 160].

В работах [145, 132] предложена технологическая схема реализации способа биоразложения РМ, которая представлена на рисунке 9.

На первой стадии проводится обработка с использованием фермента His₆-ОФГ, который катализирует процесс полного разложения ФОВ и эфиров МФК.

На второй стадии продукты ферментативного гидролиза ФОВ (МФК и остаточное количество ее эфиров) разлагаются под действием биокатализатора на основе иммобилизованных клеток-деструкторов культуры *Pseudomonas* sp. 78Г, способной разрушать продукты детоксикации ФОВ, одновременно приводя к разрыву в алкилфосфонатах как С-О-Р, так и С-Р связи. Процесс проходит в минеральной среде, содержащей 0,5 % глюкозы. Ферментный препарат, присутствующий в среде при подаче РМ, обработанных His₆-ОФГ, в реакторе с иммобилизованными клетками микроорганизмов играл роль источника азота, необходимого клеткам для роста и утилизации фосфата, являющегося конечным продуктом разложения всех ФОС в составе РМ.

На третьей стадии в реакторе в культуральной жидкости, полученной при действии иммобилизованных клеток, за счет активного аэробного ила происходит снижение уровня химического потреб-

ления кислорода (ХПК), формирующегося в результате накопления клеточных метаболитов.

Состав сточных вод, обработанных аэробным активным илом после комплексного биоразложения ФОВ в составе РМ под действием фермента His₆-ОФГ и биокатализатора в виде иммобилизованных клеток *Pseudomonas* sp. 78Г представлен в таблице 2.

Как видно из приведенных данных, при реализации российского технологического проекта по обезвреживанию РМ вещества типа VX были получены сточные воды, практически полностью удовлетворяющие требованиям, предъявляемым к канализационным стокам по химическому составу. Их экологическая безопасность была подтверждена тестами на экотоксичность, проведенными по установленным в России методикам [161].

Следовательно, сточные воды после биологической очистки становятся безвредными для основных трофических групп пресноводных гидробионтов, а полученные конечные продукты обладают минимальной токсичностью и экологической нагрузкой на окружающую среду.

Дополнительные экспериментальные исследования позволили оптимизировать условия реализации отдельных стадий общего процесса комплексной деструкции реакционных масс, получаемых при детоксикации вещества типа VX. В частности, стадии обработки РМ ферментным препаратом, стадии обработки иммобилизованными клетками-деструкторами культуры *Pseudomonas* sp. 78Г после воздействия ферментом и последующей стадии обработки культуральной жидкости активным аэробным илом [138, 158–160].

Предложенная технологическая схема имеет ряд преимуществ перед использованием бактериального консорциума в аналогичной схеме, разработанной в США [153–157].

В рамках российского технологического проекта по обезвреживанию РМ вещества типа VX на всех стадиях его реализации использовались биологические катализаторы, осуществляющие дегазацию фосфорорганических компонентов в мягких условиях, что обеспечивает более безопасные условия работы для обслуживающего персонала и экологическую безопасность процесса в целом.

Показано, что модифицированный фермент His₆-ОФГ способен катализировать гидролиз вещества типа VX в широком интервале концентраций вплоть до 2,5 г/л в отсутствии субстратного ингибирования [158, 159].

Биокатализатор на основе клеток индивидуальной бактериальной культуры *Pseudomonas* sp. 78Г, иммобилизованных в криогель поливинилового спирта, способен обеспечить высокую скорость разложения токсичных субстратов на протяжении длительного времени: обеспечивает 100 % разложение МФК при концентрациях 200 и 300 мг/л за 28 и 40 ч соответственно [160]. Этот катализатор также может эффективно осуществлять биодеградацию моноэфира МФК при очень высокой его концентрации (1 г/л), обеспечивая 50 % его разложение за 48 ч; его эффективность в 4 раза выше, по сравнению с иммобилизованным бактериальным консорциумом, используемым в аналогичной технологии разложения МФК в США.

Разработанная в России схема биоразложения фосфорорганических компонентов РМ

носит универсальный характер и может быть применена для обработки РМ, полученных при уничтожении вещества типа VX, зарина и зомана различными химическими методами. При реализации данной схемы не образуются отходы, подлежащие захоронению в закрытых могилах. Следовательно, данная схема может быть успешно использована для постепенного, поэтапного уничтожения складированных РМ.



Рисунок 9 — Принципиальная технологическая схема реализации способа биоразложения реакционных масс вещества типа VX

Таблица 2 — Состав сточных вод, обработанных аэробным активным илом после комплексного биоразложения ФОС в составе РМ под действием фермента His₆-ОФГ и биокатализатора в виде иммобилизованных клеток *Pseudomonas sp. 78Г* [138]

Контролируемый параметр	ПДК для канализационного стока, мг/л	Обнаруженная концентрация, мг/л
Азот (аммонийный)	20,0	38 ± 2
Азот (нитрат)	10,2	5,9 ± 0,3
Азот (нитрит)	1,0	3,6 ± 0,4
Сульфаты	500	31 ± 3
Хлориды	350	30 ± 1
Фосфаты	1,14	2,5 ± 0,4
Метилфосфоная кислота (МФК)	-	< 0,1
Изобутиловый эфир МФК	-	< 0,1
Химическое потребление кислорода (ХПК)	500	460 ± 9
Экотоксичность, определяемая с использованием клеток светящихся бактерий	≤ 20	< 20

Направления исследований перспективного использования биопрепаратов в интересах создания изделий военного назначения различного типа

Анализ отечественных и зарубежных публикаций показал, что наиболее перспективными направлениями исследований, представляющими интерес для использования в области нанобиотехнологий при создании изделий военного назначения различного типа, являются:

1 Ферментные антитоды

Создание нового поколения лечебно-профилактических средств на основе наноразмерных ферментных препаратов, обладающих антиоксическим действием, которые могут быть использованы при отравлениях фосфорорганическими соединениями, в том числе фосфорорганическими отравляющими веществами.

2 Ферменты в составе самодегазирующихся материалов в качестве компонентов средств защиты

Создание самодегазирующихся средств индивидуальной защиты с использованием наноразмерных ферментных препаратов, гидролизующих фосфорорганические соединения, в том числе фосфорорганические отравляющие вещества и токсичные продукты их деструкции.

3 Биокатализаторы для очистки окружающей среды

Разработка технологий очистки почвы, воды и поверхностей, загрязненных фосфорорганическими соединениями, в том числе фосфорорганическими отравляющими веществами и продуктами их детоксикации, при помощи биокатализаторов на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов.

4 Биопрепараты на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов для утилизации реакционных масс отравляющих веществ

Создание биокаталитических препаратов на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов для утилизации реакционных масс, образовавшихся после промышленного уничтожения (химической детоксикации) отравляющих веществ.

Заключение

Проведенный анализ и обобщение результатов исследований и патентов отечественных и зарубежных ученых за последние три десятилетия по изучению ферментов (в нативном состоянии или в виде химически стабилизированных наноразмерных частиц ферментных биокатализаторов), микроорганизмов-деструкторов и их применению в области биологических технологий (в том числе и нанотехнологий), позволяет сделать выводы о

перспективности использования для решения ключевых проблем в области защиты от ФОС, включая ФОВ, для гидролиза реакционных масс, полученных в процессе уничтожения ОВ, совершенствования средств защиты человека и окружающей среды, а также создания нового поколения антидотов.

Достоинства биотехнологий, основанных на использовании биокатализаторов, а именно: большая скорость процесса биохимического разложения; высокая степень деградации загрязнителей; избирательность по отношению к субстратам; возможность проведения деградации до желаемых конечных продуктов; экономичность, находят широкое применение во многих странах мира в программах по охране окружающей среды, безопасной нейтрализации загрязнений, созданию современных средств индивидуальной и коллективной защиты, созданию антидотных препаратов.

Анализ показал, что российскими и зарубежными специалистами разработана совершенно новая биокаталитическая технология для защиты против отравлений ФОС *in vivo*, основанная на использовании ферментных наночастиц, которые могут быть применены в качестве профилактического и терапевтического средства. Ферментные антидоты могут иметь огромное значение для ликвидации и предотвращения интоксикации людей и животных ФОВ, на что не способен сейчас ни один известный в мире препарат.

Разработанные биокаталитические технологии на основе фермента His₆-ОФГ отличаются простотой исполнения и экологической безопасностью, а получаемые биокатализаторы – высокой активностью по отношению к широкому спектру ФОС. Полученные результаты

могут быть основой для создания совершенно нового поколения средств индивидуальной и коллективной защиты войск и населения при ведении боевых действий, совершении террористических актов и в условиях техногенных аварий, а также средств специальной обработки средств защиты и ВВСТ.

Предложенные биотехнологические методы очистки почвы, воды и твердых поверхностей, выгодно отличающиеся от других методов (химических, физических, механических) отсутствием вторичных отходов, высокой степенью деструкции малых концентраций ОВ, возможностью полной ассимиляции продуктов детоксикации ОВ и, следовательно, экологической чистотой процесса, позволяют осуществить комплекс мероприятий по нейтрализации химических угроз, предупреждению и минимизации рисков негативного воздействия химических факторов, повышению защищенности населения и окружающей среды при выведении из эксплуатации химически опасных объектов и проведении очистки территорий, загрязненных в результате их деятельности.

Наиболее перспективными направлениями исследований в области использования нанобиотехнологий при создании изделий военного назначения являются:

- ферментные антидоты;
- ферменты в составе самодегазирующихся материалов в качестве компонентов средств защиты;
- биокатализаторы для очистки окружающей среды;
- биопрепараты на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов для утилизации реакционных масс, полученных путем химической детоксикации отравляющих веществ.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э. и др. Основы биохимии. М.: 1981.
2. Варфоломеев С.Д. Биокинетика. М.: 1999.
3. Физическая химия биопроцессов / Под ред. Варфоломеева С.Д. М.: 2014.
4. Молекулярный полиморфизм человека (в

двух томах) / Под ред. Варфоломеева С.Д. М.: 2007.

5. Ефременко Е.Н., Сергеева В.С. Органофосфатгидролаза – фермент, катализирующий деградацию фосфорсодержащих отравляющих веществ и пестицидов // Известия АН. Серия: Химия. 2001. № 10. С. 1743–1749.
6. Ефременко Е.Н., Лягин И.В., Завьялов В.В.

и др. Ферменты в технологии уничтожения фосфорорганических отравляющих веществ // Журнал российского химического общества им. Д.И. Менделеева. 2007. Т. LI, № 2. С. 24–29.

7. Efremenko E., Votchitseva Y., Plieva F. et al. Purification of His₆-organophosphate hydrolase using monolithic supermacroporous polyacrylamide cryogels developed for immobilized metal affinity chromatography // Appl. Microbiol. Biotech. 2006. V. 70, № 5. P. 558–563.

8. Efremenko E., Lyagin I., Gudkov D. et al. Immobilized biocatalysts for detoxification of neurotoxic organophosphorus compounds // Biocatal. Biotransfor. 2007. V. 25, № 2–4. P. 359–364.

9. Вотчицева Ю.А., Ефременко Е.Н., Алиев Т.К. и др. Свойства гексагистидин-содержащей органофосфатгидролазы // Биохимия. 2006. Т. 76, № 2. С. 216–222.

10. Benning M.M., Kuo J.M., Raushel F.M. et al. Three-dimensional structure of phosphotriesterase: an enzyme capable of detoxifying organophosphate nerve agents // J. Biochemistry. 1994. V. 33. P. 15001–15007.

11. Benning M.M., Kuo J.M., Raushel F.M. et al. Three-dimensional structure of the binuclear metal center of phosphotriesterase // J. Biochemistry. 1995. V. 34. P. 7973–7978.

12. Vanhooke J.L., Benning M.M., Raushel F.M. et al. Three-dimensional structure of the zinc-containing phosphotriesterase with the bound substrate analog diethyl 4-methylbenzylphosphonate // J. Biochemistry. 1996. V. 35. P. 6020–6025.

13. Ефременко Е.Н., Варфоломеев С.Д. Ферменты деструкции фосфорорганических нейротоксинов // Успехи биологической химии. 2004. Т. 44. С. 307–340.

14. Ефременко Е.Н., Лягин И.В., Гудков Д.А. и др. Имобилизованные биокатализаторы на основе органофосфатгидролазы в процессах разложения ФОВ и продуктов их деструкции в различных объектах детоксификации // Теоретическая и прикладная экология. 2011. № 4. С. 26–31.

15. Sirotkina M., Lyagin I., Efremenko E. Hydrolysis of organophosphorous pesticides in soil: new opportunities with eco-compatible immobilized His₆-OPH // Int. Biodeterior. Biodegradation. 2012. V. 68. P. 18–23.

16. Патент РФ № 2525658 (2014).

17. Гайнуллина Э.Т., Гуликова Д.К., Понсов М.А. et al. Антидоты против фосфорорганических токсикантов: проблемы и решения // Журнал Российского химического общества им. Д.И. Менделеева. 2010. Т. LIV, № 4. С. 156–160.

18. Efremenko E., Lyagin I., Klyachko N. et al. A simple and highly effective catalytic nanozyme scavenger for organophosphorus neurotoxins // J. Controlled Release. 2017. V. 247. P. 175–181.

19. Патент РФ № 2615176 (2017).

20. Atsmon J., Brill-Almon E., Nadri-Shay C. et al. Preclinical and first-in-human evaluation of PRX-105, a PEGylated plant-derived, recombinant human acetylcholinesterase // J. Toxicol. Appl. Pharmacology.

2015. V. 287. P. 202–209.

21. Masson P., Rochu B. Catalytic bioscavengers against toxic esters, an alternative approach for prophylaxis and treatments of poisonings // Acta Nature. 2009. № 1. P. 68–69.

22. Johnson J.L., Cusack B., Hu Ghes T.F. et al. Inhibitors tethered near the acetylcholinesterase active site serve as molecular rulers of the peripheral and acylation sites // J. Biol. Chem. 2003. V. 278. P. 38948–38955.

23. Cusack B., Romanovskis P., Johnson J.I. et al. A novel strategy for protection against organophosphate toxicity: Evolution of cyclic inhibitors with high affinity for the acetylcholinesterase peripheral site // J. Chem. Biol. Interact. 2005. V. 157–158. P. 370–376.

24. Lenz D.E., Broomfield C.A., Masson P. // Chemical warfare agents: chemistry, pharmacology and therapeutics / Eds. Romano J.A., Luskey J.A., Salem H. Boca Raton: CRC Press, 2007. P. 175.

25. Huang Y.O. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. P. 13603.

26. Ilyushin D., Haertley O.M., Bobik T.V. et al. Chemical polysialylation of human recombinant butyrylcholinesterase delivers a long-acting bioscavenger for nerve agents *in vivo* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. V. 110, № 4. 1243–1248. doi: 10.1073/pnas.1211181110. Epub. 2013 Jan 7.

27. Millard C.B., Lockridge O., Broomfield C.A. Design and expression of organophosphorus acid anhydride hydrolase activity in human butyrylcholinesterase // J. Biochemistry. 1995. V. 34. P. 15925–15933.

28. Millard C.B., Lockridge O., Broomfield C.A. Organophosphorus acid anhydride hydrolase activity in human butyrylcholinesterase: synergy results in a somanase // J. Biochemistry. 1998. V. 37. P. 237–247.

29. Yao Y., Liu J., Zhan C.G. Why does the G117H mutation considerably improve the activity of human butyrylcholinesterase against sarin? Insights from quantum mechanical/molecular mechanical free energy calculations // J. Biochemistry. 2012. V. 51. P. 8980–8992.

30. Masson P., Nachon F., Broomfield C.A. et al. A collaborative endeavor to design cholinesterase-based catalytic scavengers against toxic organophosphorus esters // Chem. Biol. Interact. 2008. V. 175. P. 273–280.

31. Патент США №5689038 (1997).

32. Патент США №6403653 (2002).

33. Патент США № 6410603 (2002).

34. Патент США № 6642037 (2003).

35. Le Jeune K.E., Dravis B.S., Yang F. et al. Fighting nerve agent chemical weapons with enzyme technology // Ann. NY Acad. Sci. 1998. V. 864. P. 153–170.

36. Le Jeune K.E., Mesiano A.J., Bover S.B. et al. Dramatically stabilized phosphotriesterase-polymers for nerve agent degradation // J. Biotechnology and Bioengineering. 1997. V. 54. P. 105–114.

37. Le Jeune K.E., Wild J.R., Russel A.J. Nerve agents degraded by enzymatic foams // J. Nature. 1998. V. 395. P. 27–28.

38. Havens P.L., Rase H.F. // Ind. Eng. Chem. Res. 1993. V. 32, № 10. P. 2254–2258.
39. Le Jeune K.E., Russell A.J. Biocatalytic nerve agent detoxification // J. Biotech. Bioengineering. 1999. V. 62, № 6. P. 659–665.
40. Патент США № 4781959 (1988).
41. Патент РФ № 2330717 (2008).
42. Ефременко Е.Н., Завьялов В.В., Завьялова Н.В. и др. Разрыв С-Р связи в фосфонатах под действием ферментных биокатализаторов // Теоретическая и прикладная экология. 2015. № 3. С. 47–54.
43. Efremenko E., Peregudov A., Kildeeva N. et al. // J. Biocatalysis Biotransformation. 2005. V. 23, № 2. P. 103–108.
44. Патент РФ № 2261911 (2005).
45. Caldwell S.R., Raushel F.M. Detoxification of organophosphate pesticides using a nylon based immobilized phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta* // Appl. Biochem. Biotechnol. 1991. V. 31. P. 59–72.
46. Caldwell S.R., Raushel F.M. Detoxification of organophosphate pesticides using an immobilized phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta* // J. Biotechnol. Bioengineering. 1991. V. 37. P. 103–109.
47. Gill I., Ballesteros A. Degradation of organophosphorous nerve agents by enzyme-polymer nanocomposites: efficient biocatalytic materials for personal protection and large-scale detoxification // J. Biotechnol. Bioengineering. 2000. V. 70, № 4. P. 400–411.
48. Патент WO112482 (2004).
49. Mc Daniel C.S., Mc Daniel J., Wales M.E., Wild J.R. // Progress in Organic Coatings. 2006. V. 55. P. 182–188.
50. Sethunathan N., Yoshida T. // Can. J. Microbiol. 1973. V. 19. P. 873.
51. Munnecke D.M. Enzymatic hydrolysis of organophosphate insecticides, a possible pesticide disposal method // Appl. Environ. Microbiol. 1976. V. 32. P. 7–13.
52. Cüneyt M., Serdar C.M., Murdock D.C., Rohde M.F. Parathion hydrolase gene from *Pseudomonas diminuta* MG: subcloning, complete nucleotide sequence, and expression of the mature portion of the enzyme in *Escherichia coli* // J. BioTechnology. 1989. V. 7. P. 1151–1155.
53. Omburo G.A., Kuo J.M., Mullins L.S. et al. Characterization of the zinc binding site of bacterial phosphotriesterase // J. Biol. Chem. 1992. V. 267. P. 13278.
54. Варфоломеев С.Д., Курочкин И.Н., Райнина Е.И. и др. Новый технологический подход к уничтожению химического оружия. Полная биологическая деградация химических боеприпасов // Журнал российского химического общества им. Д.И. Менделеева. 1995. Т. 39, № 4. С. 20–24.
55. Харечко А.Т., Мягких В.И., Остроумов Ю.И. и др. Применение микроорганизмов для деструкции опасных веществ загрязняющих окружающую среду // Журнал российского химического общества им. Д.И. Менделеева. 1993. Т. 37, № 3. С. 30–43.
56. Боронин А.М., Сахаровский В.Т., Старовойтов И.И. и др. Научные основы комплексной экологически безопасной технологии уничтожения иприта // Прикладная биохимия и микробиология. 1996. Т. 32, № 1. С. 61–68.
57. Varfolomeyev S.D., Kurochkin I.N., Skliar V.I. et al. // Biocatalytic degradation of chemical warfare related materials. Edgewood, 1995. P. 16.
58. Rainina E., Varfolomeyev S.D., Wild J.R. // Biocatalytic degradation of chemical warfare related materials. Edgewood, 1995. P. 9.
59. Харечко А.Т., Мягких В.И., Корякин Ю.Н. и др. Оценка влияния микроорганизмов на динамику разложения зомана в почве // Журнал российского химического общества им. Д.И. Менделеева. 1995. Т. 39, № 4. С. 104–107.
60. Funk S.B., Roberts D.J., Crawford D.J. et al. Initial phase optimization for bioremediation of munition compound-contaminated soils // Appl. Env. Microbiol. 1992. V. 59, № 7. P. 2171–2177.
61. Kaake R.H., Roberts D.J., Stevens T.O. et al. Bioremediation of soils contaminated with the herbicide 2-secbuty1-4, 6-dinitrophenol (dinoseb) // Appl. Env. Microbiol. 1990. V. 56, № 6. P. 1666–1671.
62. Howard J., Fox S. Review of current research projects and innovations in remediation // Gen. Eng. News. 1994. V. 14, № 17. P. 8–9.
63. Tursman J.F., Cork D.J. Subsurface contaminant bioremediation engineering // Crit. Rev. Env. Contr. 1992. V. 22, № 5. P. 1–26.
64. Biodegradation of chemical warfare agents: demilitarization applications. Edgewood, 1993.
65. Biocatalytic degradation of chemical warfare related materials. Edgewood, 1995.
66. De Frank J.J., Cheng Tu-Chen, Rolakowsky G.E. et al. Advances in the biodegradation of chemical warfare agents and related materials: Advances in the biodegradation of chemical warfare agents and related materials / Abstr. Keystone symp. Environ. Biotechnol. Lake Tahoe, Calif., March 16–22, 1995 // Cell. Biochem. 1995. V. 21a. P. 41.
67. Tu-Chen Cheng, Harvey S.P., Chen G.L. Cloning and expression of a gene encoding a bacterial enzyme for decontamination of organophosphorous nerve agents and nucleotide sequence of the enzyme // Appl. Env. Microbiol. 1996. V. 62, № 5. P. 1636–1641.
68. Dumas D.P. et al. Inactivation of organophosphorous nerve agents by the phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta* // Arch. Biochem. Biophys. 1990. V. 277, № 1. P. 155–159.
69. Dumas D.P. et al. Purification and properties of the phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta* // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. P. 19655–19659.
70. Landis W.G. et al. Identification and comparison of the organophosphate acid anhydrolase activities of the clam, *Rangia cuneata* // Comp. Biochim. Physiol. 1989. V. 94, № 2. P. 365–371.
71. Harvey S., De Frank J.J., Kamely D. et al. Microbiol degradation of agent orange and mustard related compounds // Biotechnology: bridging research and applications. Eds. Kamely D., Chakrabatry A.M., Komguti S.E. Dordrecht, Kluwer Acad. Pub., 1991. P. 221–230.
72. Ефременко Е.Н., Сироткина М.С.,

Завьялова Н.В. и др. Имобилизованные гетерогенные биокатализаторы для разложения фосфорорганических отравляющих веществ // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2011. № 1. С. 61–66.

73. Sirotkina M., Lyagin I., Efremenko E. Hydrolysis of organophosphorus pesticides in soil: New Opportunities with ecocompatible immobilized His6 – OPH // International Biodeterioration & Biodegradation. 2012. № 68. P. 18–23.

74. Патент РФ № 2451077 (2012).

75. Петров С.В., Корякин Ю.Н., Холстов В.И. и др. Биотехнология в решении проблемы уничтожения химического оружия // Журнал российского химического общества им. Д.И. Менделеева. 1995. Т. 39. № 4. С. 18–20.

76. Бакулин Ю.С., Завьялова Н.В., Харечко А.Т. и др. Экспериментальная проверка биодеструкции реакционных масс химической детоксикации ФОВ фосфонат-разлагающими бактериями // Федеральные и региональные проблемы уничтожения химического оружия. М.: 2000. С. 47–52.

77. Петров С.В., Холстов В.И., Завьялова Н.В. и др. Биодegradация фосфорорганических отравляющих веществ // Федеральные и региональные проблемы уничтожения химического оружия. М.: 1999. С. 51–60.

78. Kiernan V. Bacteria with a healthy appetite for mustard gas // J. New Sci. 1994. V. 141, № 1914. P. 10–11.

79. Landis W.G. et al. Alternative substrates and an inhibitor of the organophosphate acid anhydride activities of the protozoan // Tetrahymena Thermophila. Comp. Biochim. Physiol. 1989. № 2. P. 211–216.

80. Trapp R. SIPRI Chemical and Biological Warfare Studies. London, Philadelphia: Taylor and Fransis Ltd. 1985.

81. Attaway H., Nelson J.O., Baya A.M. et al. Bacterial detoxification of diisopropyl fluorophosphate // Appl. Environ. Microbiol. 1987. V. 53, № 7. P. 1685–1689.

82. De Frank J.J., Cheng T.C. // J. Bacteriol. 1991. V. 173. P. 1938–1943.

83. Schowanek D., Verstraete W. Phosphonate utilization by bacterial cultures and enrichments from environmental samples // Appl. Environ. Microbiol. 1990. V. 56. P. 895–903.

84. Smith J.D. Metabolism of Phosphonates. The role of phosphonates in living systems / Ed. Hilderbrand, R.L., Boca Raton, CRC Press, 1983. P. 31–54.

85. Selvapandian A., Bhatnagar Raj K. Isolation of glyphosate-metabolising *Pseudomonas*: detection, partial purification and localization of carbon-phosphorus lyase // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1994. V. 40. P. 876–882.

86. Shinabarger D.L., Braymer H.D. Glyphosate catabolism by *Pseudomonas* sp. strain PG2982 // J. Bacteriol. 1986. V. 168. P. 702–703.

87. Daughton C.G., Cook A.M., Alexander M. // J. Agric. Food. Chem. 1979. V. 27, № 6. P. 1375–1382.

88. Verweij A., Boter H.L. // Pestic. Sci. 1977. V. 7, № 3. P. 355–362.

89. Kaaijk J., Frijlink C. // Pestic. Sci. 1977. V. 8, № 4. P. 544–548.

90. Cook A.M., Daughton C.G., Alexander M. Benzene from bacterial cleavage of the carbon-phosphorus bond of phenylphosphonates // Biochem. J. 1979. V. 184, № 3. P. 453–455.

91. Daughton C.G., Cook A.M., Alexander M. // FEMS Microbiol. Lett. 1989. V. 5, № 1. P. 91–93.

92. Матыс С.В., Лауринавичюс Л.С., Несмеянова М.А. Влияние условий культивирования на разложение метилфосфоновой кислоты клетками *E.coli* / Биотехнология защиты окружающей среды. Тезисы докладов конференции. Пушкино. 1994. С. 13.

93. Wild J.R., Ruashel F.M. The genetic and biochemical manipulation of a broad-spectrum organophosphate degrading system / Report No: 24002-Ls U.S. Department of the Army Research office Funding 1990. No: DAAZ 03-87-0017.

94. Robinson J.P.P. Chemical Weapons: Destruction and Conversion (SPJR) Publ: Taylor, Francis, N.Y.: 1980. P. 9–56.

95. Penski E.C. TR – ARCSL – TR – 83021. AD B07518L Aberdeen Proving Ground, MD US Army, Res. Develop. Command. 1983.

96. Александров В.Н., Емельянов В.И. Отравляющие вещества. М.: 1990.

97. Ашихмина Т.Я. Научно-методологические основы системы комплексного экологического мониторинга объектов хранения и уничтожения химического оружия. Киров. 2001.

98. Савельева Е.И., Радилов А.С., Кузнецова Т.А. и др. Определение метилфосфоновой кислоты и ее эфиров как химических маркеров фосфорорганических отравляющих веществ // Журнал прикладной химии. 2001. Т. 74, № 10. С. 1677.

99. Савельева Е.И., Зенкевич И.Г., Кузнецова Т.А. и др. Исследование продуктов превращений фосфорорганических отравляющих веществ методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии // Журнал российского химического общества им. Д.И. Менделеева. 2002. Т. 46, № 6. С. 89–92.

101. Shames S.L., Wackett L.P., La Barge M.S. et al. Fragmentative and stereo chemical isomerization probes for hemolytic carbon to phosphorus bond scission catalyzed by bacterial carbon-phosphorus lyase // J. Bioorg. Chem. 1987. V. 15. P. 366–373.

102. Penski E.C. TR – ARCSL – TR – 83021. AD B07518L Aberdeen Proving Ground. MD: US Army Res. Develop. Command. 1983.

103. Small V.J. TR – 8202 (AD – B077 091) Fort Detrick. MD: US Army Med. Res. Develop. Command. 1983.

104. Биологическая дегазация отравляющих веществ. Материалы конференции научно-исследовательских институтов НАТО. 1991. М. 1991.

105. Milstein O., Nicklas B., Huttermann A. Oxidation of aromatic compounds in organic solvents

- with lea case from *Trametes vesicular* // *Appl. Microbiol. Biotechnology*. 1989. V. 31. P. 70–74.
106. Clifford D., Lin C.C. // *Government Rep.* 1991. V. 91. № 15. P. 124.
107. Kanel A. // *J. Polytechn.* 1990. № 5. P. 557–559.
108. Hackl R.P., Wright F.R., Bruynesteyn A. // *Appl. Organometall. Chem.* 1990. V. 4, № 4. P. 245–250.
109. Патент РФ № 2185901 (2002).
110. Рэуце К., Кырстя С. Борьба с загрязнением почвы М. 1986.
111. Авторское свидетельство СССР № 513939 (1989).
112. Кузнецов С.И. Микрофлора озер и ее геохимическая деятельность. Л.: 1970.
113. Головлева Л.А. Деградация пестицидов микроорганизмами: биотехнологические аспекты проблемы // *Микробиология очистки воды / Докл. 1 Всесоюзной конференции*. Киев, 1982.
114. Леонова Л.И., Ступина В.В. Водоросли водоочистки сточных вод. Киев, 1990.
115. Тарасенко Н.Ф., Захарчук Р.В. Очистка сточных вод биоценозами микроводорослей и бактерий активного ила // *Микробиология очистки воды*. Киев. 1982.
116. Simonds M.A. Experience with algal bloom and the removal of phosphorus from sewage // *J. Water Res.* 1973. V. 7, № 1. P. 255–264.
117. Патентная заявка Франции № 2004566 (1969).
118. Патент США № 3716484 (1972).
119. Патентная заявка ФРГ № 2016798 (1970).
120. Патентная заявка Франции № 2043202 (1970).
121. Патент США № 3499837 (1967).
122. Патент США № 3725269 (1972).
123. Патентная заявка Франции № 2004566 (1969).
124. Патентная заявка США № 3617569 (1970).
125. Патентная заявка Франции № 32009220 (1969).
126. Патентная заявка ФРГ № 1959652 (1968).
127. Авторское свидетельство СССР № 228210 (1984).
128. Авторское свидетельство СССР № 258499 (1985).
129. ОСТ В-84-2398-88. Биотестирование отраслевых сточных вод. Основные положения (1988).
130. ОСТ В-84-2399-88. Биотестирование отраслевых сточных вод. Методы анализа. 1988.
131. Завьялова Н.В., Филимонов И.В., Ефременко Е.Н. и др. Биотехнологические методы и нейтрализующие средства для обеззараживания и очищения почв и вод, загрязненных экотоксикантами // *Теоретическая и прикладная экология*. 2014. № 4. С. 26–33.
132. Завьялова Н.В., Филимонов И.В., Ковтун В.А. и др. Основные технологические операции и стадии биоремедиации почв и очистки вод *in situ* // *Теоретическая и прикладная экология*. 2014. № 4. С. 34–41.
133. Завьялова Н.В., Филимонов И.В., Е.Н. Ефременко Е.Н. и др. Биокатализаторы на основе штаммов микроорганизмов и ферментов, обладающих повышенной способностью к разложению отравляющих веществ и продуктов их деструкции, в процессе очистки почв и вод // *Теоретическая и прикладная экология*. 2014. № 4. С. 42–50.
134. Янковская А.А., Филимонов И.В., Завьялова Н.В. и др. Экологически безопасная биоремедиация почвы и воды *in situ* от продуктов деструкции отравляющих веществ // *Теоретическая и прикладная экология*. 2016. № 4. С. 89–95.
135. Стяжкин К.К., Туманов А.С., Ашихмина Т.Я. и др. Экспериментальная оценка микробицидного и деградационного потенциала биопрепарата деструктора фосфорорганических соединений // *Теоретическая и прикладная экология*. 2014. № 4. С. 51–59.
136. Туманов А.С., Ашихмина Т.Я., Лещенко А.А. и др. Биопрепарат с расширенным спектром биодеградационной активности для рекультивации почвы объекта уничтожения химического оружия // *Теоретическая и прикладная экология*. 2015. № 3. С. 61–69.
137. Стяжкин К.К., Петров С.В., Туманов А.С. и др. Биопрепарат для ремедиации почвы в пределах зоны защитных мероприятий объекта уничтожения химического оружия «Марадыковский» // *Теоретическая и прикладная экология*. 2013. № 4. С. 41–48.
138. Ефременко Е.Н., Лягин И.В., Гудков Д.А. и др. Комбинированное применение ферментного и бактериального биокатализаторов в процессах биодеструкции ФОВ и продуктов их разложения // *Теоретическая и прикладная экология*. 2015. № 3. С. 35–39.
139. Le Jeune K.E., Russell A.J. Biocatalytic nerve agent detoxification in firefighting foams // *J. Biotechnology and Bioengineering*. 1999. V. 62, № 6. P. 659–665.
140. Янковская А.А., Филимонов И.В., Завьялова Н.В. и др. Направления использования биотехнологических способов при ликвидации последствий работы объектов по уничтожению химического оружия // *Теоретическая и прикладная экология*. 2017. № 4. С. 66–72.
141. Уткин А.Ю., Либерман Б.М., Кондратьев В.Б. Математическое описание процессов детоксикации фосфорорганических отравляющих веществ // *Журнал российского химического общества им. Д.И. Менделеева*. 2007. Т. LI, № 2. С. 12–18.
142. Патент РФ № 2352375 (2009).
143. Munro N.B., Talmage S.S., Griffin G.D. et al. The sources, fate, and toxicity of chemical warfare agent degradation products // *Research Reviews*. 1999. V. 107, № 12. P. 933–974.
144. Международная конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении. ОЗХО, С.Н. 2005.
145. Ефременко Е.Н., Завьялова Н.В., Гудков Д.А. и др. Экологически безопасная биодеградация реакционных масс, образующихся при уничтожении фосфорорганических отравляющих веществ // *Журнал российского химического общества им. Д.И. Менделеева*. 2010. Т. LIV, № 4. С. 19–24.
146. Патент РФ № 2408724 (2011).
147. Патент WO №01/56380 (2001).
148. Патент США №5589386 (1996).
149. Патент США №5928927 (1999).
150. Патент США № 6080566 (2000).

151. Hoskin F.-C.G., Walker J.E., Dettbarn W.-D. et al. // Biochemical Pharmacology. 1995. V. 49, № 5. P. 711–715.
152. Rastogi V.K., De Frank J.J., Cheng T.-C. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1997. V. 241, № 2. P. 294–296.
153. De Frank J.J., Guelta M., Harvey S. et al. // Enzymes in Actions: Green Solution for Chemical Problem / Eds. Zwanenburg B. et al. Netherlands: Kluwer Acad. Publ., 2000. P. 193–209.
154. Патент США № 7001758 B1 (2006).
155. Патент США № 6080906 (2000).
156. Патент США № 2203116 (2003).
157. Патент США № 6498281 (2002).
158. Патент РФ № 2296164 (2007).
159. Патент РФ № 2154103 (2000).
160. Патент РФ № 2360967 (2009).
161. Патент РФ № 2394910 (2010).

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 105005, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13

Филимонов Игорь Владимирович. Старший научный сотрудник, канд. техн. наук.

Янковская Александра Анатольевна. Соискатель ученой степени канд. техн. наук.

Кужелко Сергей Владимирович. Старший офицер отдела.

Завьялов Василий Владимирович. Научный руководитель диссертации на соискание ученой степени канд. хим. наук
Кужелко С.В., канд. хим. наук.

Завьялова Наталья Васильевна. Главный научный сотрудник, д-р биол. наук, проф., акад. АВН.

Голипад Александр Николаевич. Начальник управления, канд. техн. наук.

Колесников Дмитрий Петрович. Заместитель начальника центра по научно-исследовательской работе, канд. техн. наук, доцент.

Ковтун Виктор Александрович. Начальник центра, канд. хим. наук, доцент.

Холстов Виктор Иванович. Член дис. совета на базе 27 НЦ МО РФ, д-р хим. наук, профессор.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, 119234, г. Москва, ул. Ленинские Горы, д. 1, стр. 3

Лягин Илья Владимирович. Старший научный сотрудник, канд. хим. наук.

Ефременко Елена Николаевна. Зав. лабораторией, д-р биол. наук, профессор.

Адрес для переписки: Завьялова Наталья Васильевна; 27nc_1@mil.ru

RESEARCH IN THE SPHERE OF PERSPECTIVE USE OF BIOCHEMICAL AND MEDICAL BIOCATALYTIC TECHNOLOGIES IN THE INTERESTS OF ARMED FORCES

I.V. Filimonov¹, A.A. Yankovskaya¹, S.V. Kuzhelko¹, V.V. Zavyalov¹, N.V. Zavyalova¹,
A.N. Golipad¹, D.P. Kolesnikov¹, V.A. Kovtun¹, V.I. Kholstov¹, I.V. Lyagin², E.N. Efremenko²

¹ Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation

² Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry, Leninskie Gory 1-3, Moscow 119234, Russian Federation

The article is dedicated to the review of the theoretical and experimental research of the Russian and foreign scientists in the enzymes both in native state and in forms of chemically stabilized nano-sized particles, promising for the development of military products of different types. It summarises the results of use of biocatalysts on the basis of enzymes and microorganisms-destroyers for the neutralization of eco-toxicants. The nature of enzymes is analyzed. The significant part of the article is dedicated to the data obtained regarding the sphere of biochemical and medical biocatalytic technologies for the development of enzymatic prophylactic and therapeutic means. A special attention is paid to the enzymes, used in protective equipment, to environmental biocatalysts, to biopharmaceuticals on the basis of enzymes and microorganisms-destroyers for the utilization of reaction masses, to chemical detoxification of poisonous substances. The authors point out the main trends in the further research in the sphere of biotechnologies: enzymatic pharmaceuticals for prophylaxis and treatment of OP poisoning; enzymes in self-degassing materials and in protective equipment; biocatalysts for soil, water and surface purification; biopharmaceuticals on the basis of enzymes and microorganisms-destroyers for the degradation of reaction masses of toxic chemicals.

Keywords: *bacteria Pseudomonas sp. 78G; environmental biocatalysts; hexahistidine-tagged organophosphate hydrolase (His₆-OPH); microorganisms-destroyers of toxic chemicals; self-degassing materials; biocatalysts of chemical reactions in organism; enzymatic antidotes of OP substances; enzymatic components of protective equipment; enzymatic catalysts of the destruction of the reaction masses of OP substances; organophosphorus (OP) toxic chemicals.*

For citation: Filimonov I.V., Yankovskaya A.A., Kuzhelko S.V., Zavyalov V.V., Zavyalova N.V., Golipad A.N., Kolesnikov D.P., Kovtun V.A., Kholstov V.I., Lyagin I.V., Efremenko E.N. Research in the Sphere of Perspective Use of Biochemical and Medical Biocatalytic Technologies in the Interests of Armed Forces // *Journal of NBC Protection Corps*. 2018. V. 2. № 2. P. 18–50.

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

CONTENTS

Enzymes' nature	of biopharmaceuticals during military products development
Use of biocatalysts on the basis of enzymes and microorganisms-destroyers for the neutralization of eco-toxicants	1 Enzymatic antidotes
I Modern research in the sphere of development of enzymatic antidotes of OP substances	2 Enzymes in self-degassing materials as components of protective equipment
II Enzymatic components of protective equipment	3 Environmental biocatalysts
III. Environmental biocatalysts	4 Biopharmaceuticals on the basis of enzymes and microorganisms-destroyers for the utilization of reaction masses of toxic chemicals
IV Biopharmaceuticals on the basis of enzymes and microorganisms-destroyers for the utilization of reaction masses, obtained after the chemical detoxification of poisonous substances	Conclusion
Main trends in research on perspective use	Conflict of interest statement
	Peer review information
	References

References

- White A., Handler F., Smith E. et al. Principles of biochemistry. Moscow: 1981 (in Russian).
- Varfolomeyev S.D. Biokinetics. Moscow: 1999 (in Russian).
- Physical chemistry of bioprocesses / Ed. Varfolomeyev S.D. Moscow: 2014 (in Russian).
- Human molecular polymorphism (in 2 Vols) / Ed. Varfolomeyev S.D. Moscow: 2007 (in Russian).
- Efremenko E.N., Sergeeva V.S. Organophosphate hydrolase – an enzyme catalyzing degradation of phosphorus-containing toxins and pesticides // Russian Chemical Bulletin. 2001. V. 50. № 10. P. 1743–1749 (in Russian).
- Efremenko E.N., Lyagin I.V., Zavyalov V.V. et al. Enzymes in the technology of destruction of organophosphorus toxic substances // Mendelev Chemistry Journal. 2007. V. LI, № 2. P. 24–29 (in Russian).
- Efremenko E., Votchitseva Y., Plieva F. et al. Purification of His6-organophosphate hydrolase using monolithic supermacroporous polyacrylamide cryogels developed for immobilized metal affinity chromatography // Appl. Microbiol. Biotech. 2006. V. 70, № 5. P. 558–563.
- Efremenko E., Lyagin I., Gudkov D. et al. Immobilized biocatalysts for detoxification of neurotoxic organophosphorus compounds // Biocatal. Biotransfor. 2007. V. 25, № 2–4. P. 359–364.
- Votchitseva Yu. A., Efremenko E.N., Aliyev T.K. et al. Properties of hexahistidinetagged organophosphate hydrolase // Biochemistry. 2006. V. 76, № 2. P. 216–222 (in Russian).
- Benning M.M., Kuo J.M., Raushel F.M. et al. Three-dimensional structure of phosphotriesterase: an enzyme capable of detoxifying organophosphate nerve agents // J. Biochemistry. 1994. V. 33. P. 15001–15007.
- Benning M.M., Kuo J.M., Raushel F.M. et al. Three-dimensional structure of the binuclear metal center of phosphotriesterase // J. Biochemistry. 1995. V. 34. P. 7973–7978.
- Vanhooke J.L., Benning M.M., Raushel F.M. et al. Three-dimensional structure of the zinc-containing phosphotriesterase with the bound substrate analog diethyl 4-methylbenzylphosphonate // J. Biochemistry. 1996. V. 35. P. 6020–6025.
- Efremenko E.N., Varfolomeyev S.D. Enzymes of degradation of organophosphorus neurotoxins // Biology and Chemistry Achievement. 2004. V. 44. P. 307–340 (in Russian).
- Efremenko E.N., Lyagin I.V., Gudkov D.A. et al. Immobilized biocatalysts on the basis of organophosphorous in the process of decomposition of organophosphorus toxic substances // Theoretical and applied ecology. 2011. No. 4. P. 26–31 (in Russian).
- Sirotkina M., Lyagin I., Efremenko E. Hydrolysis of organophosphorous pesticides in soil: new opportunities with eco-compatible immobilized His6-OPH // Int. Biodeterior. Biodegradation. 2012. V. 68. P. 18–23 (in Russian).
- Patent RU № 2525658 (2014) (in Russian).
- Gainullina E.T., Gulikova D.K., Ponsov M.A. et al. Antidotes against phosphororganus toxicants: problems and decisions // Mendelev Chemistry Journal. 2010. V. LIV, № 4. P. 156–160 (in Russian).
- Efremenko E., Lyagin I., Klyachko N. et al. A simple and highly effective catalytic nanozyme scavenger for organophosphorus neurotoxins // J. Controlled Release. 2017. V. 247. P. 175–181 (in Russian).
- Patent RU № 2615176 (2017) (in Russian).
- Atsmon J., Brill-Almon E., Nadri-Shay C. et al. Preclinical and first-in-human evaluation of PRX-105, a PEGylated plant-derived, recombinant human acetylcholinesterase // J. Toxicol. Appl. Pharmacology. 2015. V. 287. P. 202–209.
- Masson P., Rochu B. Catalytic bioscavengers against toxic esters, an alternative approach for prophylaxis and treatments of poisonings // Acta Nature. 2009. № 1. P. 68–69.
- Johnson J.L., Cusack B., Hu Ghes T.F. et al. Inhibitors tethered near the acetylcholinesterase active site serve as molecular rulers of the peripheral and acylation sites // J. Biol. Chem. 2003. V. 278. P. 38948–38955.
- Cusack B., Romanovskis P., Johnson J.I. et al. A novel strategy for protection against organophosphate toxicity: Evolution of cyclic inhibitors with high affinity for the acetylcholinesterase peripheral site // J. Chem. Biol. Interact. 2005. V. 157–158. P. 370–376.
- Lenz D.E., Broomfield C.A., Masson P. // Chemical warfare agents: chemistry, pharmacology and therapeutics / Eds. Romano J.A., Luskey J.A., Salem H. Boca Raton: CRC Press, 2007. P. 175.
- Huang Y.O. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. P. 13603.
- Ilyushin D., Haertley O.M., Bobik T.V. et al. Chemical polysialylation of human recombinant butyrylcholinesterase delivers a long-acting bioscavenger for nerve agents *in vivo* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. V. 110, № 4. 1243–1248. doi: 10.1073/pnas.1211181110. Epub. 2013 Jan 7.
- Millard C.B., Lockridge O., Broomfield C.A. Design and expression of organophosphorus acid anhydride hydrolase activity in human butyrylcholinesterase // J. Biochemistry. 1995. V. 34. P. 15925–15933.
- Millard C.B., Lockridge O., Broomfield C.A. Organophosphorus acid anhydride hydrolase activity in human butyrylcholinesterase: synergy results in a somanase // J. Biochemistry. 1998. V. 37. P. 237–247.
- Yao Y., Liu J., Zhan C.G. Why does the G117H mutation considerably improve the activity of human butyrylcholinesterase against sarin? Insights from quantum mechanical/molecular mechanical free energy calculations // J. Biochemistry. 2012. V. 51. P. 8980–8992.
- Masson P., Nachon F., Broomfield C.A. et al. A collaborative endeavor to design cholinesterase-based catalytic scavengers against toxic organophosphorus esters // Chem. Biol. Interact. 2008. V. 175. P. 273–280.

31. Patent US №5689038 (1997).
32. Patent US №6403653 (2002).
33. Patent US № 6410603 (2002).
34. Patent US № 6642037 (2003).
35. Le Jeune K.E., Dravis B.S., Yang F. et al. Fighting nerve agent chemical weapons with enzyme technology // *Ann. NY Acad. Sci.* 1998. V. 864. P. 153–170.
36. Le Jeune K.E., Mesiano A.J., Bover S.B. et al. Dramatically stabilized phosphotriesterase-polymers for nerve agent degradation // *J. Biotechnol. Bioengineering.* 1997. V. 54. P. 105–114.
37. Le Jeune K.E., Wild J.R., Russel A.J. Nerve agents degraded by enzymatic foams // *J. Nature.* 1998. V. 395. P. 27–28.
38. Havens P.L., Rase H.F. // *Ind. Eng. Chem. Res.* 1993. V. 32, № 10. P. 2254–2258.
39. Le Jeune K.E., Russell A.J. Biocatalytic nerve agent detoxification // *J. Biotech. Bioengineering.* 1999. V. 62, № 6. P. 659–665.
40. Patent US № 4781959 (1988).
41. Patent RU № 2330717 (2008) (in Russian).
42. Efremenko E.N., Zavyalov V.V., Zavyalova N.V. et al. Cleavage of C-P bond in phosphonates under the action of enzymatic biocatalysts // *Theoretical and applied ecology.* 2015. № 3. P. 47–54 (in Russian).
43. Efremenko E., Peregudov A., Kildeeva N. et al. // *J. Biocatal. Biotransform.* 2005. V. 23, № 2. P. 103–108 (in Russian).
44. Patent RU № 2261911 (2005) (in Russian).
45. Caldwell S.R., Raushel F.M. Detoxification of organophosphate pesticides using a nylon based immobilized phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta* // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 1991. V. 31. P. 59–72.
46. Caldwell S.R., Raushel F.M. Detoxification of organophosphate pesticides using an immobilized phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta* // *J. Biotechnol. Bioengineering.* 1991. V. 37. P. 103–109.
47. Gill I., Ballesteros A. Degradation of organophosphorous nerve agents by enzyme-polymer nanocomposites: efficient biocatalytic materials for personal protection and large-scale detoxification // *J. Biotechnol. Bioengineering.* 2000. V. 70, № 4. P. 400–411.
48. Patent WO112482 (2004).
49. Mc Daniel C.S., Mc Daniel J., Wales M.E., Wild J.R. // *Progress in Organic Coatings.* 2006. V. 55. P. 182–188.
50. Sethunathan N., Yoshida T. // *Can. J. Microbiol.* 1973. V. 19. P. 873.
51. Munnecke D.M. Enzymatic hydrolysis of organophosphate insecticides, a possible pesticide disposal method // *Appl. Environ. Microbiol.* 1976. V. 32. P. 7–13.
52. Cüneyt M., Serdar C.M., Murdock D.C., Rohde M.F. Parathion hydrolase gene from *Pseudomonas diminuta* MG: subcloning, complete nucleotide sequence, and expression of the mature portion of the enzyme in *Escherichia coli* // *J. Bio Technology.* 1989. V. 7. P. 1151–1155.
53. Omburo G.A., Kuo J.M., Mullins L.S. et al. Characterization of the zinc binding site of bacterial phosphotriesterase // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 13278.
54. Varfolomeev S.D., Kurochkin I.N., Rainin E.I. et al. A new technological approach to chemical weapons destruction. Complete biological degradation of chemical munitions // *RHZZH.* 1995. V. 39. № 4. P. 20–24 (in Russian).
55. Kharechko A.T., Myagkikh V.I., Ostroumov Yu.I. et al. The use of microorganisms for destruction of hazardous substances polluting // *RHZZH.* 1993. V. 37. № 3. P. 40–43 (in Russian).
56. Boronin A.M., Sakharovskiy V.T., Starovoytov I.I. et al. Scientific bases of complex environmentally friendly technologies for mustard gas destruction // *Appl. Biochem. Microbiol.* 1996. V. 32. № 1. P. 61–68 (in Russian).
57. Varfolomeyev S.D., Kurochkin I.N., Skliar V.I. et al. // *Biocatalytic degradation of chemical warfare related materials.* Edgewood, 1995. P. 16.
58. Rainina E., Varfolomeyev S.D., Wild J.R. // *Biocatalytic degradation of chemical warfare related materials.* Edgewood, 1995. P. 9.
59. Kharechko A.T., Myagkikh V.I., Koriakin Y.N. et al. Evaluation of the impact on the dynamics of microbial decomposition of soman in soil // *RHZZH.* 1995. V. 39, № 4. P. 104–107 (in Russian).
60. Funk S.B., Roberts D.J., Crawford D.J. et al. Initial phase optimization for bioremediation of munition compound-contaminated soils // *Appl. Env. Microbiol.* 1992. V. 59, № 7. P. 2171–2177.
61. Kaake R.H., Roberts D.J., Stevens T.O. et al. Bioremediation of soils contaminated with the herbicide 2-secbuty1-4, 6-dinitrophenol (dinoseb) // *Appl. Env. Microbiol.* 1990. V. 56, № 6. P. 1666–1671.
62. Howard J., Fox S. Review of current research projects and innovations in remediation // *Gen. Eng. News.* 1994. V. 14, № 17. P. 8–9.
63. Tursman J.F., Cork D.J. Subsurface contaminant bioremediation engineering // *Crit. Rev. Env. Contr.* 1992. V. 22, № 5. P. 1–26.
64. Biodegradation of chemical warfare agents: demilitarization applications. Edgewood, 1993.
65. Biocatalytic degradation of chemical warfare related materials. Edgewood, 1995.
66. De Frank J.J., Cheng Tu-Chen, Rolakowsky G.E. et al. Advances in the biodegradation of chemical warfare agents and related materials: Advances in the biodegradation of chemical warfare agents and related materials / *Abstr. Keystone symp. Environ. Biotechnol. Lake Tahoe, Calif., March 16–22, 1995* // *Cell. Biochem.* 1995. V. 21a. P. 41.
67. Tu-Chen Cheng, Harvey S.P., Chen G.L. Cloning and expression of a gene encoding a bacterial enzyme for decontamination of organophosphorous nerve agents and nucleotide sequence of the enzyme // *Appl. Env. Microbiol.* 1996. V. 62. № 5. P. 1636–1641.
68. Dumas D.P. et al. Inactivation of organophosphorous nerve agents by the phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta* // *Arch.*

Biochem. Biophys. 1990. V. 277, № 1. P. 155–159.

69. Dumas D.P. et al. Purification and properties of the phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta* // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. P. 19655–19659.

70. Landis W.G. et al. Identification and comparison of the organophosphate acid anhydrase activations of the clam, *Rangia cuneata* // Comp. Biochim. Physiol. 1989. V. 94, № 2. P. 365–371.

71. Harvey S., De Frank J.J., Kamely D. et al. Microbiol degradation of agent orange and mustard related compounds // Biotechnology: bridging research and applications / Eds. Kamely D., Chakrabatry A.M., Komguti S.E. Dordrecht, Kluwer Acad. Pub., 1991. P. 221–230.

72. Efremenko E.N., Sirotkin M.S., Zavyalov N.V. et al. Immobilized biocatalysts for heterogeneous decomposition of organophosphorus agents // Bulletin of the Russian People's Friendship University. Series: Ecology and life safety. 2011. № 1. P. 61–66 (in Russian).

73. Sirotkina M., Lyagin I., Efremenko E. Hydrolysis of organophosphorus pesticides in soil: New Opportunities with ecomhatible immobilized His₆ – OPH // International Biodeterioration & Biodegradation. 2012. № 68. P. 18–23.

74. Patent RU № 2451077 (2012) (in Russian).

75. Petrov S.V., Koriakin Yu.N., Kholstov V.I. et al. Biotechnology in chemical weapons destruction // RHZH. 1995. V. 39. № 4. P. 18–20 (in Russian).

76. Bakulin Yu.S., Zavyalova N.V., Kharechko A.T., Kholstov V.I. et al. Experimental verification of biodegradation of reaction mass of chemical detoxification of FEV phosphonate-degrading bacteria // Federal and regional issues of chemical weapons destruction. Moscow: VINITI, Release № 2. 2000. P. 47–52 (in Russian).

77. Petrov S.V., Kholstov V.I., Zavyalova N.V. et al. Biodegradation of organophosphorus agents // Federal and regional issues of chemical weapons destruction. Moscow: VINITI, release № 1. 1999. P. 51–60 (in Russian).

78. Kiernan V. Bacteria with a healthy appetite for mustard gas // J. New Sci. 1994. V. 141, № 1914. P. 10–11.

79. Landis W.G. et al. Alternative substrates and an inhibitor of the organophosphate acid anhydrase activities of the protozoan // Tetrahymena Thermophilia. Comp. Biochim. Physiol. 1989. № 2. P. 211–216.

80. Trapp R. SIPRI Chemical and Biological Warfare Studies. London, Philadelphia: Taylor and Fransis Ltd. 1985.

81. Attaway H., Nelson J.O., Baya A.M. et al. Bacterial detoxification of diisopropyl fluorophosphate // Appl. Environ. Microbiol. 1987. V. 53, № 7. P. 1685–1689.

82. De Frank J.J., Cheng T.C. // J. Bacteriol. 1991. V. 173. P. 1938–1943.

83. Schowanek D., Verstraete W. Phosphonate utilization by bacterial cultures and enrichments from environmental samples // Appl. Environ. Microbiol. 1990. V. 56. P. 895–903.

84. Smith J.D. Metabolism of phosphonates. The role of phosphonates in living systems / Ed. Hilderbrand, R.L., Boca Raton, CRC Press, 1983. P. 31–54.

85. Selvapandiyan A., Bhatnagar Raj K. Isolation of glyphosate-metabolising *Pseudomonas*: detection, partial purification and localization of carbon-phosphorus lyase // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1994. V. 40. P. 876–882.

86. Shinabarger D.L., Braymer H.D. Glyphosate catabolism by *Pseudomonas* sp. strain PG2982 // J. Bacteriol. 1986. V. 168. P. 702–703.

87. Daughton C.G., Cook A.M., Alexander M. // J. Agric. Food. Chem. 1979. V. 27, № 6. P. 1375–1382.

88. Verweij A., Boter H.L. // Pestic. Sci. 1977. V. 7, № 3. P. 355–362.

89. Kaaijk J., Frijlink C. // Pestic. Sci. 1977. V. 8, № 4. P. 544–548.

90. Cook A.M., Daughton C.G., Alexander M. Benzene from bacterial cleavage of the carbon-phosphorus bond of phenylphosphonates // Biochem. J. 1979. V. 184, № 3. P. 453–455.

91. Daughton C.G., Cook A.M., Alexander M. // FEMS Microbiol. Lett. 1989. V. 5, № 1. P. 91–93.

92. Matys S.V., Laurinavičius L.S., Nesmeyanova M.A. Influence of culture conditions on decomposition of methylphosphonic acid with *E. coli* cells. // Environmental Biotechnology: Proc. rep. Pushchino. : 1994. P. 13 (in Russian).

93. Wild J.R., Ruashel F.M. The genetic and biochemical manipulation of a broad-spectrum organophosphate degrading system / Report No: 24002-Ls U.S. Department of the Army Research office Funding 1990. No: DAAZ 03-87-0017.

94. Robinson J.P.P. Chemical weapons: destruction and conversion (SPJRJ). N.Y. Publ: Taylor, Francis: 1980. P. 9–56.

95. Penski E.C. TR – ARCSL – TR – 83021. AD B07518L Aberdeen Proving Ground, MD US Army, Res. Develop. Command. 1983.

96. Alexandrov V.N., Emelyanov V.I. Toxic substances. Moscow: Military Publishing, 1990 (in Russian).

97. Ashikhmina T.Ya. Scientific and methodological basis of the system of complex ecological monitoring of chemical weapons storage and destruction plants. Kirov: Vyatka, 2001 (in Russian).

98. Savelyeva E.I., Radilov A.S., Kuznetsova T.A. et al. Determination of methylphosphonic acid and its esters as chemical markers of organophosphorus agents // J. Appl. Chem. 2001. V. 74. № 10. P. 1677 (in Russian).

99. Savelyeva E.I., Zenkevich I.G., Kuznetsova T.A. et al. Study of the products of transformation of organophosphorus compounds with gas chromatography - mass spectrometry // RHZH. 2002. V. 46. № 6. P. 89–92 (in Russian).

101. Shames S.L., Wackett L.P., La Barge M.S. et al. Fragmentative and stereo chemical isomerization probes for hemolytic carbon to phosphorus bond scission catalyzed by bacterial carbon-phosphorus lease // J. Bioorg. Chem. 1987. V. 15. P. 366–373.

102. Penski E.C. TR – ARCSL – TR – 83021. AD B07518L Aberdeen Proving Ground. MD: US Army Res. Develop. Command. 1983.
103. Small V.J. TR – 8202 (AD – B077 091) Fort Detrick. MD: US Army Med. Res. Develop. Command. 1983.
104. Biological degasation of chemical weapons. Conference materials of scientific research institutes of NATO. M., 1991 (in Russian).
105. Milstein O., Nicklas B., Huttermann A. Oxidation of aromatic compounds in organic solvents with lea case from *Trametes vesicular* // Appl. Microbiol. Biotechnology. 1989. V. 31. P. 70–74.
106. Clifford D., Lin C.C. // Government Rep. 1991. V. 91. № 15. P. 124.
107. Kanel A. // J. Polytechn. 1990. № 5. P. 557–559.
108. Hackl R.P., Wright F.R., Bruynesteyn A. // Appl. Organometall. Chem. 1990. V. 4, № 4. P. 245–250.
109. Patent RU № 2185901 (2002) (in Russian).
110. Reutse K. Pollution of soil. M.: Chemistry, 1986 (in Russian).
111. Author's Certificate USSR № 513939 (1989).
112. Kuznetsov S.I. Microflora of lakes and geochemical activity L.: Science, 1970 (in Russian).
113. Golovleva L.A. Degradation of pesticides by microorganisms: Biotechnological aspects // Microbiology water purification: Proc. 1 All-Union rep. Conf. Kiev: N. Dumka, 1982 (in Russian).
114. Leonova L.I., Stupina V.V. Algae purification of wastewater. Kiev: N. Dumka, 1990 (in Russian).
115. Tarasenko N.F., Zakharchuk R.V. Wastewater purification with biocenoses of microalgae and bacteria // Microbiology of activated sludge of water purification. Kiev: Science. Dumka, 1982 (in Russian).
116. Simonds M.A. Experience with algal bloom and the removal of phosphorus from sewage // J. Water Res. 1973. V. 7, № 1. P. 255–264.
117. Patent application France № 2004566 (1969).
118. Patent US № 3716484 (1972).
119. Patent application GE № 2016798 (1970).
120. Patent application France № 2043202 (1970).
121. Patent US № 3499837 (1967).
122. Patent US № 3725269 (1972).
123. Patent application France № 2004566 (1969).
124. Patent application US № 3617569 (1970).
125. Patent application France № 32009220 (1969).
126. Patent application GE № 1959652 (1968).
127. Author's Certificate USSR № 228210 (1984) (in Russian).
128. Author's Certificate USSR № 258499 (1985) (in Russian).
129. OST B-84-2398-88. Biotesting industry wastewater. The main provisions (1988) (in Russian).
130. OST B-84-2399-88. Biotesting industry wastewater. Methods of analysis (1988) (in Russian).
131. Zavyalova N.V., Filimonov I.V., Yefremenko Ye.N., et al. Biotechnological methods and neutralizing agents for decontamination of soil and water treatment, polluted with ecotoxins // Theoretical and applied ecology. 2014. № 4. P. 26–33 (in Russian).
132. Zavyalova N.V., Filimonov I.V., Kovtun V.A. et al. The main technological operations and stages of bioremediation of soils and water purification in situ // Theoretical and applied ecology. 2014. V. 4. C. 34–41 (in Russian).
133. Zavyalova N.V., Filimonov I.V., Yefremenko Ye.N. et al. Biocatalysts based on strains of microorganisms and enzymes having an increased ability to degrade toxic substances and their degradation products during cleaning of soils and waters // Theoretical and applied ecology. 2014. № 4. P. 42–50 (in Russian).
134. Yankovskaya A.A., Filimonov I.V., Zavyalova N.V. et al. Ecologically safe bioremediation of soil and water purification in situ from chemical warfare agents destruction products // Theoretical and applied ecology. 2016. V. 4. C. 89–95 (in Russian).
135. Styazhkin K.K., Tumanov A.S., Ashikhmina T.Ya. et al. Experimental Assessing microbicidal and degradation potential of the biological product, organophosphorus compounds destructor // Theoretical and applied ecology. 2014. V. 4. P. 51–59 (in Russian).
136. Tumanov A.S., Ashikhmina T.Ya., Leschenko A.A. et al. Bio-preparation with a broad spectrum of bio-degradative activity for soil remediation in the chemical weapons destruction plant «Maradykovsky» // Theoretical and applied ecology. 2015. V. 3. C. 61–69 (in Russian).
137. Styazhkin K.K., Petrov S.V., Tumanov A.S. et al. Biological product for soil remediation within the zone of protective measures of the chemical weapons destruction plant «Maradykovsky» // Theoretical and applied ecology. 2013. V. 4. P. 41–48 (in Russian).
138. Efremenko E.N., Lyagin I.V., Gudkov D.A. Combined application of enzymatic and bacterial biocatalysts in the processes of biodegradation of organophosphorous chemical warfare agents and products of their destruction // Theoretical and applied ecology. 2015. V. 3. P. 35–39 (in Russian).
139. Le Jeune K.E., Russell A.J. Biocatalytic nerve agent detoxification in firefighting foams // J. Biotechnol. Bioengineering. 1999. V. 62, № 6. P. 659–665.
140. Yankovskaya A.A., Filimonov I.V., Zavyalova N.V. et al. Directions for use of biotechnological methods of liquidating the consequences of chemical weapons destruction // Theoretical and applied ecology. 2017. V. 4. P. 66–72 (in Russian).
141. Utkin A.Yu., Lieberman B.M., Kondratyev V.B. et al. Mathematical description of organophosphorus poisons detoxication // Russian Chemical Journal. 2007. V. 1 (2). N 2. P. 12–18 (in Russian).
142. Patent RU № 2352375 (2009) (in Russian).
143. Munro N.B., Talmage S.S., Griffin G.D. et al. The sources, fate, and toxicity of chemical warfare agent degradation products // Research Reviews. 1999. V. 107, № 12. P. 933–974.
144. The Convention on the prohibition of the development, production, stockpiling and use of chemical weapons and on their destruction. OPCW, C.N. 2005.

145. Efremenko E.N., Zavyalova N.V., Gudkov D.A. et al. Environmentally safe biodegradation of reaction mass formed at destruction of organophosphorus agents // Russian Chemical Journal. 2010. V. 4. P. 19–24 (in Russian).
146. Patent RU № 2408724 (2011) (in Russian).
147. Patent WO №01/56380 (2001).
148. Patent US №5589386 (1996).
149. Patent US №5928927 (1999).
150. Patent US № 6080566 (2000).
151. Hoskin F.-C.G., Walker J.E., Dettbarn W.-D. et al. // Biochem. Pharmacol. 1995. V. 49, № 5. P. 711–715.
152. Rastogi V.K., De Frank J.J., Cheng T.-C. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1997. V. 241, № 2. P. 294–296.
153. De Frank J.J., Guelta M., Harvey S. et al. // Enzymes in actions: green solution for chemical problem / Eds. Zwanenburg B. et al. Netherlands: Kluwer Acad. Publ., 2000. P. 193–209.
154. Patent US № 7001758 B1 (2006).
155. Patent US № 6080906 (2000).
156. Patent US № 2203116 (2003).
157. Patent US № 6498281 (2002).
158. Patent RU № 2296164 (2007) (in Russian).
159. Patent RU № 2154103 (2000) (in Russian).
160. Patent RU № 2360967 (2009) (in Russian).
161. Patent RU № 2394910 (2010) (in Russian).

Authors

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation

Filimonov I.V. Senior Researcher. Candidate of Technical Sciences.

Yankovskaya A.A. Applicant for a Degree, Candidate of Technical Sciences.

Kuzhelko S.V. Senior Officer of the Department.

Zavyalov V.V. Candidate of Chemical Sciences.

Zavyalova N.V. Leading Researcher. Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the Academy of Military Sciences.

Golipad A.N. Chief of the Department. Candidate of Technical Sciences.

Kolesnikov D.P. Deputy Head of the Centre. Candidate of Technical Sciences, Associate Professor.

Kovtun V.A. Head of the Centre. Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor.

Kholstov V.I. Member of Dissertation Council of the 27 Scientific Centre of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Doctor of Chemical Sciences, Professor.

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry. Leninskie Gory 1-3, Moscow 119234, Russian Federation.

Lyagin I.V. Senior Researcher. Candidate of Chemical Sciences.

Yefremenko Ye.N. Laboratory Chief. Doctor of Biological Sciences, Professor.

Address: Zavyalova Natalya Vasilyevna; 27nc_1@mil.ru

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТОГО ШТАММА *BACILLUS SUBTILIS*, ПРОДУЦИРУЮЩЕГО ПРОТЕКТИВНЫЙ АНТИГЕН СИБИРЕЯЗВЕННОГО МИКРОБА

Н.В. Онучина, А.В. Кузнецовский, А.А. Воробьев, А.В. Филиппов

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации,
610000, Российская Федерация, г.Киров, Октябрьский проспект, д. 119

Поступила 27.04.2018 г. Принята к публикации 05.06.2018 г.

Сибирская язва является особо опасным зооантропонозным заболеванием, которое характеризуется тяжестью течения и высокой летальностью. Споры *Bacillus anthracis* обладают способностью длительно сохраняться в окружающей среде. На эндемичной территории сибиреязвенная инфекция может стать причиной массового заболевания людей и сельскохозяйственных животных. Кроме того, существует угроза применения биологических средств на основе возбудителя сибирской язвы террористическими организациями. Эпидемиологическое благополучие по сибирской язве напрямую зависит от вакцинации восприимчивых животных и населения групп риска. Многие из существующих сибиреязвенных вакцинных штаммов характеризуются низким уровнем продукции протективного антигена и высокой реактогенностью. Перспективным направлением создания вакцинных препаратов нового поколения является клонирование отдельных детерминант иммуногенности сибиреязвенного микроба в гомо- и гетерологичных живых системах с целью создания высокоэффективных продуцентов протективного антигена *B. anthracis*. Цель работы заключалась в проведении исследований по получению рекомбинантного штамма *Bacillus subtilis*, продуцирующего протективный антиген сибиреязвенного микроба, перспективный для использования в технологии химических сибиреязвенных вакцин. В статье представлены результаты исследований по получению рекомбинантного штамма *B. subtilis*. На основе челночного вектора рНТ43 сконструирована плазмида рНТ43РА, содержащая ген *pag* синтеза протективного антигена сибиреязвенного микроба и стабильно функционирующая в клетках рекомбинантного штамма Amy21(рНТ43РА) *B. subtilis*. В ходе исследований установлено, что микробные клетки рекомбинантного штамма Amy21(рНТ43РА) *B. subtilis* обеспечивают продукцию иммунологически активного протективного антигена в количестве, не уступающем сибиреязвенным вакцинным штаммам. Полученные в ходе работ данные, а также безопасность, неприхотливость, изученность *B. subtilis* позволяют предложить данный рекомбинантный штамм для дальнейшего исследования в качестве продуцента сибиреязвенного протективного антигена, перспективного для использования в качестве химической составляющей сибиреязвенных вакцин.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*; ген *pag* *Bacillus anthracis*; клонирование; протективный антиген сибиреязвенного микроба; челночный (*B. subtilis*/E. coli) вектор рНТ43.

Библиографическое описание: Онучина Н.В., Кузнецовский А.В., Воробьев А.А., Филиппов А.В. Генетическое конструирование рекомбинантного штамма *Bacillus subtilis*, продуцирующего протективный антиген сибиреязвенного микроба // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2. № 2. С. 51–60.

Сибирская язва – особо опасное зооантропонозное заболевание, характеризующееся тяжестью течения и высокой летальностью. Уникальная способность *B. anthracis* длительно сохраняться в окружающей среде вследствие чрезвычайной резистентности спор к воздействию внешних факторов приводит к накоплению в природе естественных резервуаров патогенного микроорганизма, десятки лет сохраняющих потенциальную опасность для человека и животных. В результате хозяйственной деятельности человека и природных катаклизмов горизонты почв, содержащие споры *B. anthracis*, часто оказываются вскрытыми, а споры – выброшенными на поверхность и рассеянными в окружающей среде. В условиях недостаточности или отсутствия профилактических мероприятий на эндемичной территории сибиреязвенная инфекция может стать причиной массового заболевания людей и сельскохозяйственных животных [1–4]. Более того, в последние годы появилась реальная угроза применения биологических средств на основе возбудителя сибирской язвы террористическими организациями. Как показал опыт ликвидации последствий биотеррористической атаки осенью 2001 г. в США, именно *B. anthracis* в первую очередь представляет интерес для террористов в качестве биологического поражающего агента в связи с его относительной доступностью, исключительной стойкостью и высокой летальностью при легочных формах сибирской язвы, приближающейся к 100 % [5–7].

Один из факторов поддержания эпидемиологического благополучия по сибирской язве – вакцинация восприимчивых животных и населения групп риска. Несмотря на несомненные достоинства предложенных в разные годы различными лабораториями мира сибиреязвенных вакцинных штаммов, многие из них, полученные классическими способами аттенуации вирулентных штаммов, нуждаются в улучшении характеристик, связанных с иммуногенностью, уровнем продукции протективного антигена (ПА) и реактогенностью [8].

Используемые в практике здравоохранения и ветеринарии аттенуированные вакцинные штаммы *B. anthracis* содержат в составе генома плазмиду рХО1, кодирующую трехкомпонентный экзотоксин [9, 10]. Протеолитически активированный протективный антиген, взаимодействуя с отечным и летальным факторами, образует токсичные комплексы, запускающие патогенетические механизмы инфекционного процесса [11, 12]. Вместе с тем ПА сибиреязвенного микроба обладает выраженным иммуногенным эффектом. Поэтому одним из перспективных направлений конструирования профилактических препаратов является клонирование отдельных детерминант иммуногенности сибиреязвенного микроба в гомо- и гетерологичных живых си-

стемах с целью создания высокоэффективных продуцентов ПА.

Впервые ген *pag*, детерминирующий синтез ПА, был клонирован М. Vodkin и S. Leppla [13] в штамме *Escherichia coli*. Уровень продукции ПА рекомбинантными клонами был на несколько порядков ниже значения, установленного для вакцинного штамма *B. anthracis*. В дальнейшем неоднократно предпринимались попытки клонирования гена *pag* в штаммах различных видов микроорганизмов: *E. coli* [14–16], *S. typhimurium* [17], *L. casei* [18], *F. tularensis* [19], *B. subtilis* [20–22] и *B. anthracis* [16, 21, 23]. Однако при создании стабильных генетических конструкций с высокой продукцией ПА сибиреязвенного микроба неизбежно возникают трудности, связанные с ограничением экспрессии гена *pag* за счет слабого собственного промотора, наличием позитивного (*atxA*) и негативного (*pagR*) регуляторов, а также подверженностью белкового антигена протеолитической дегградации [8]. Наиболее успешными оказались эксперименты по клонированию гена *pag* в гомологичной системе экспрессии – клетках *B. subtilis*. Работы по клонированию в *B. subtilis* даже без учета экологической безопасности этого микроорганизма чрезвычайно важны благодаря тому, что бациллы секретируют белки в культуральную среду. Таким образом, состыковав гетерологичные кодирующие последовательности с последовательностью сигнального пептида, можно добиться выхода из клетки продукта клонированного гена, конформационная и посттрансляционная модификации которого идентичны таковым при естественно происходящем инфекционном процессе. Эта способность позволяет получить исключительно высокий уровень продукции чужеродного белка без его внутриклеточного накопления.

Цель работы заключалась в проведении исследований по получению рекомбинантного штамма *B. subtilis*, продуцирующего протективный антиген сибиреязвенного микроба, перспективный для использования в технологии химических сибиреязвенных вакцин.

Материалы и методы

Штаммы микроорганизмов и плазмиды.

В работе использовали вакцинные штаммы СТИ-1 *B. anthracis* и 55ВНИИВВиМ *B. anthracis*; штаммы Amy21 *B. subtilis* и TOP10 *E. coli*, дефектные по синтезу протеаз и рестриктаз; члечный (*B. subtilis*/*E. coli*) коммерческий вектор для клонирования гетерологичных белков рНТ43 («МоВиТес», США).

Питательные среды и реактивы. Штаммы микроорганизмов выращивали на плотной питательной среде, содержащей сердечно-мозговую экстракт (BHI, «Difco», США), в жидкой питательной среде (LB-бульон, NB-бульон, «Himedia», Индия).

В экспериментах по определению ИД₅₀ рекомбинантного ПА использовали белых мышей обоих полов массой от 18 до 20 г.

Плазмидную ДНК из штаммов *E. coli*, *B. subtilis* и *B. anthracis* в препаративных количествах выделяли с помощью коммерческих наборов для выделения и очистки плазмид («Qiagen», США). Для выделения ДНК из отдельных клонов использовали набор реактивов GeneJet™ Plasmid Miniprep Kit («Fermentas», Литва).

Химический синтез праймеров для клонирования гена *rag* сибиреязвенного микроба осуществляли фосфоамидитным методом на автоматическом синтезаторе АСМ-102-У (ТОО «Биосан», г. Новосибирск). Очистку олигонуклеотидов проводили методом жидкостной хроматографии высокого давления.

Температурно-временные режимы ПЦР подбирали экспериментально. Амплификацию ДНК проводили методом ПЦР с синтезированными для клонирования гена *rag* праймерами в термоциклере МС-2 «Терцик» (ЗАО «НПФ ДНК-технология», Россия).

Продукты амплификации чистили с помощью набора Montage™ PCR Centrifugal Filter Devices фирмы («Millipore», США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Реакции рестрикции и лигирования ДНК проводили в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя ферментов («СибЭнзим», Россия).

Эффект рестрикции/лигирования подтверждали методом электрофореза в 1–1,5 % агарозном геле в сравнении с контрольными препаратами ДНК.

Трансформацию микробных клеток штамма TOP10 *E. coli* проводили по методу T. Maniatis et al. с применением хлористого кальция [23]. Трансформационную смесь высевали на чашки Петри с ППС, содержащей ампициллин в концентрации 100 мкг×см⁻³. Чашки инкубировали при температуре (36±1) °С в течение 12–18 ч. Наличие вставки гена *rag* в векторе определяли в ПЦР с праймерами 5'-GGG GTA GAT CTC CAA GAA GTG ATT AA-3' и 5'-GGT CTG GAT CCG TAG GTC CAG CA-3'.

Секвенирование области вставки в pHT43 гена *rag* проводили на автоматическом секвенаторе ABI Prism 310 («Applied Biosystems», США) с использованием набора «BigDue Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit».

Трансформацию клеток штамма Amy21 *B. subtilis* проводили по методике C. Anagnostopoulos и J. Spizizen [24]. Отбор трансформантов проводили с ППС, содержащей хлорамфеникол («Serva», Германия) в концентрации 5 мкг/мл.

Экспрессию рекомбинантного протективного антигена исследовали методом ИФА с помощью им-

муноферментной моноклональной тест-системы для обнаружения протективного антигена *B. anthracis* производства филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны РФ [25] и фотометра Columbus Pro («Tecan», Австрия). Клеточные лизаты готовили методом ультразвуковой дезинтеграции с использованием дезинтегратора Labsonic 1510 (Германия). Культуральную жидкость в объеме 5 мл центрифугировали в течение 3 мин при 8000 об/мин. Полученный осадок ресуспендировали в 0,5–1 мл буфера ТЕ (рН 8,0). Дезинтеграцию проводили путем трехкратной обработки клеточной суспензии ультразвуком мощностью в 300 Вт и продолжительностью 20 с с перерывом в 30 с. Все операции проводили на льду. После дезинтеграции клеточные суспензии переносили в микроцентрифужные пробирки и центрифугировали в течение 3 мин при 8000 об/мин. Для дальнейших исследований в ИФА использовали надосадочную жидкость.

Белковый профиль рекомбинантных штаммов анализировали методом электрофореза в ПААГ. При подготовке образцов к электрофорезу к 1 мл бактериальной суспензии исследуемого клона, содержащей по стандарту мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича 10 млрд. м.к./мл добавляли 200 мкл раствора (20 % – сахарозы, 12 % – додецилсульфата натрия, 30 % – 2-меркаптоэтанола и 0,03 % – бромфенолового синего), тщательно перемешивали пипетированием и прогревали на кипящей водяной бане в течение 5 мин. Для контроля полноты инаktivации прогретую суспензию бактерий высевали на плотную питательную среду.

Аппаратное культивирование штамма Amy21(pHT43PA) *B. subtilis* проводили в аппарате МД-400. В качестве питательной среды для культивирования в аппарате использовали бульон Nutrient Broth («HiMedia», Индия). Стерилизацию питательной среды проводили в аппарате МД-400 при (121±1) °С (0,11 МПа) в течение 15 мин [26]. Хлорамфеникол вводили в питательную среду до конечной концентрации 5 мкг/мл непосредственно перед началом культивирования.

При засеве аппарата в качестве посевного материала использовали (16±1) ч бульонную культуру штамма Amy21(pHT43PA) *B. subtilis*, выращенную в бульоне Nutrient Broth («HiMedia», Индия) в присутствии хлорамфеникола («Serva», Германия) в концентрации 5 мкг/мл при температуре (36±1) °С и 100 об/мин. Качество посевного материала контролировали микроскопией окрашенных по Граму мазков.

В процессе культивирования в аппарате МД-400 поддерживали температуру (36±1) °С и частоту вращения вала мешалки – 300 об/мин. По достижении бактериальной культурой оптической плотности 0,6–0,7 о.е. при длине волны λ=670 нм в аппарат вводили раствор изопропил-β-D-тиогалактозида (ИПТТ) до конечной

концентрации 0,001 М. Оптическую плотность исследовали фотометрически с помощью фотоэлектроколориметра КФК-2. После введения индуктора процесс вели до достижения бактериальной культурой оптической плотности $(1,05 \pm 0,05)$ о.е. и вводили в аппарат формалин до конечной концентрации $(0,05 \pm 0,015)$ %.

Процесс приготовления концентрированного ПА осуществляли методом микрофильтрации и ультрафильтрации на установках «Сартокон-2». Техническую подготовку установок осуществляли в соответствии с регламентом производства вакцины сибиреязвенной комбинированной жидкой и сухой для подкожного применения (№ 862-99) [26].

Иммуногенность препарата рекомбинантного ПА определяли согласно п. 12.7.10 экспериментально-производственного регламента № 862-99. Исходный препарат рекомбинантного протективного антигена, сорбированного на геле гидроксида алюминия, с пятикратным шагом развели 0,9 % раствором хлористого натрия. Каждым разведением в объеме 0,5 мл подкожно иммунизировали 10 белых мышей, десяти контрольным животным вводили 0,9 % раствор хлористого натрия. Через 14 сут всех вакцинированных и контрольных животных заражали внутрибрюшинно в объеме 0,5 мл споровой суспензией сибиреязвенного вакцинного штамма СТИ-1 в дозе 250 млн спор. За животными наблюдали в течение 10 суток, ежедневно проводя выборку павших животных [26]. Иммуногенность рассчитывали по методу Кербера в модификации Ашмарина.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследований была определена стратегия получения рекомбинантного штамма *B. subtilis*, продуцирующего иммунологически активный протективный антиген сибиреязвенного микроба. Для клонирования была выбрана челночная векторная система на основе *B. subtilis*/*E. coli* рНТ43 производства фирмы «МоВиТес» (США), схематически представленная на рисунке 1 [27].

Способность репликации данного вектора как в *E. coli*, так и в *B. subtilis* позволяет все работы по клонированию в его составе гетерологичных генов провести на кишечной палочке, а слитая с последовательностью *Pgrac* промотора последовательность сигнального пептида α -амилазы (*SamyQ*) позволяет секретировать транслируемый белок за пределы клеточной стенки сенной палочки.

С учетом сайтов рестрикции полилинкера вектора рНТ43 для амплификации и последующего клонирования гена *rag* сибиреязвенного микроба была разработана пара праймеров. Нуклеотидные последовательности праймеров и их основные свойства представлены в таблице 1.

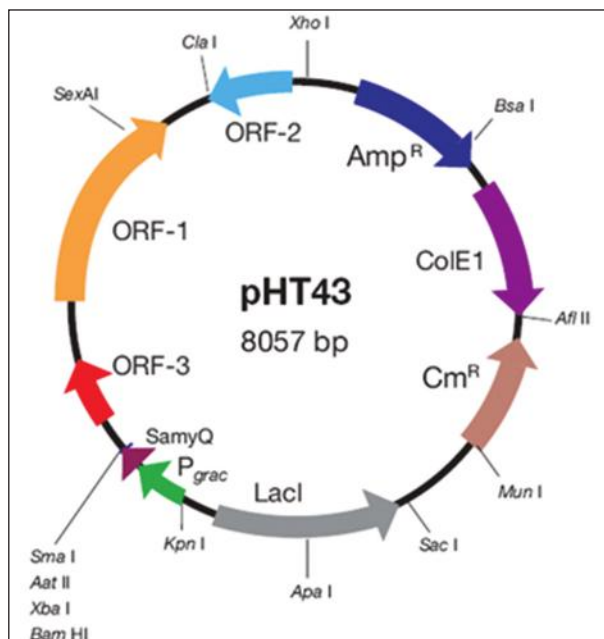


Рисунок 1 — Карта челночного вектора рНТ43 (*AmpR* – ген устойчивости к ампициллину; *CmR* – ген устойчивости к хлорамфениколу; *Pgrac* – ИПТГ индуцируемый промотор по типу экспрессии лактозного оперона; *SamyQ* – последовательность сигнального пептида α -амилазы *B. subtilis*; *SmaI*, *AatII*, *XbaI*, *BamHI* – сайты рестрикции в составе полилинкера)

С использованием данных праймеров и высокоточной полимеразы Taq SE в ПЦР с ДНК штамма СТИ-1 сибиреязвенного микроба был получен продукт амплификации ожидаемого размера, 2337 п.н.

Гидролиз вектора рНТ43 и амплификата гена *rag* рестриктазами *BamHI* и *SmaI* проводили последовательно, в связи с отличающейся их активностью в буферных растворах разной ионной силы. После обработки каждым ферментом препарат ДНК переосаждали этанолом с целью освобождения от мешающего буферного раствора [28]. Депротеинизацию растворов ДНК осуществляли путем экстракции фенолом и хлороформом [29].

Лигирование ДНК вектора и вставки проводили с использованием ДНК-лигазы фага Т4 (НПО «СибЭнзим», Россия) в буферном растворе производителя в течение 16 ч при (16 ± 1) °С. На рисунке 2 представлены результаты лигирования ДНК вектора рНТ43 и гена *rag*.

Трансформацию микробных клеток штамма TOP10 *E. coli* проводили непосредственно смесью для лигирования. Выросшие трансформанты анализировали на наличие вставки гена *rag* в векторе рНТ43 методом ПЦР. Клоны *E. coli*, содержащие ген протективного антигена, методом отпечатков пересевали на ППС с ампициллином в концентрации 100 мкг/мл и инкубировали при температуре (36 ± 1) °С в течение 18–24 ч. Из

Таблица 1 — Последовательности праймеров для амплификации и клонирования гена *pag* *B. anthracis* и их основные свойства

Обозначение праймера	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Длина праймера, н	Расчетная температура гибридизации, °C	Размер ожидаемого амплификата, п.н.
PagL	ACA AAA <u>AGG ATC</u> CCG TAT ATG AAA AAA C	2012	2008	2009
PagR	ATT TAA AAA TCC <u>CCG GGA</u> ATT ACC TTA TCC	Саудовская Аравия	ЮАР	КНР
Примечание. Подчеркиванием выделены сайты узнавания рестриктаз <i>Bam</i> HI и <i>Sma</i> I для праймеров PagL и PagR соответственно.				

выросших колоний с помощью набора реактивов GeneJet™ Plasmid Miniprep Kit («Fermentas», Литва) выделяли плазмидную ДНК. Правильность встраивания гена *pag* подтверждали путем рестрикции ДНК отобранных клонов эндонуклеазами рестрикции *Bam*HI и *Sma*I. Для дальнейших исследований отбирали только клоны, плазмидная ДНК которых расщеплялась рестриктазами на фрагменты длиной около 8 и 2,5 т.п.н (ДНК вектора и вставки соответственно). Из каждого отобранного клона штамма TOP10 *E. coli* выделяли плазмидную ДНК, которой трансформировали клетки штамма Amy 21 *B. subtilis* [24]. Отбор трансформантов проводили с ППС, содержащей хлорамфеникол в концентрации 5 мкг/мл. Наличие гена протективного антигена у *B. subtilis*, как и в случае с *E. coli*, подтверждали методом ПЦР с праймерами к гену *pag* *B. anthracis*. Всего для дальнейших исследований было отобрано 16 клонов штамма Amy21 *B. subtilis*, несущих ген протективного антигена сибиреязвенного микроба.

На следующем этапе проводили лабораторное культивирование отобранных клонов рекомбинантного штамма *B. subtilis*, в ходе которого в ИФА оценивали уровень экспрессии ПА и способность к накоплению рекомбинантного белка внутри клеток и в культуральной жидкости. Культивирование исследуемых штаммов проводили в колбах вместимостью 250 мл под ватно-марлевыми пробками в шуттель-аппарате («УВМТ 12-250», Россия) при температуре (36±1) °C и скорости вращения 250 об/мин. Для выращивания использовали NB-бульон («Himedia», Индия) с хлорамфе-

ником в концентрации 5 мкг/мл. В качестве индуктора экспрессии использовали синтетический аналог лактозы – ИПТГ, который вводили через 3,5 ч, в середине экспоненциальной фазы роста культуры, до конечной концентрации 1 mM. С момента добавления индуктора отбирали пробы культуральной жидкости через каждый час.

Отобранные образцы культуральной жидкости осаждали центрифугированием при 8000 об/мин в течение 4 мин. В ИФА с моноклональными антителами к протективному антигену

исследовали как надосадочную жидкость, так и клеточные лизаты, полученные методом ультразвуковой дезинтеграции.

Для сравнения уровня продукции и динамики накопления ПА в рекомбинантных культурах параллельно культивировали штамм 55ВНИИВВиМ *B. anthracis* в оптимальных для него условиях [26].

В таблице 2 представлены результаты анализа четырех рекомбинантных клонов штамма Amy21(pHT43PA) *B. subtilis*, пробы которых отличались максимальными значениями оптической плотности в ИФА.

Из представленных в таблице 2 данных видно, что нарастание оптической плотности анализируемых проб рекомбинантных клонов наблюдалось в среднем в течение первых двух-трех часов после добавления индуктора и находилось примерно на одном уровне с положительным контролем – штаммом 55ВНИИВВиМ *B. anthracis*. Начиная с четвертого часа культивирования, происходило заметное снижение значений оптической плотности.

На основании полученных результатов, для даль-

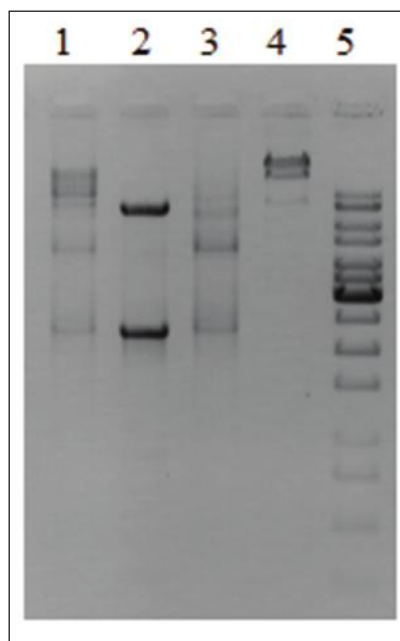


Рисунок 2 — Электрофорез в 1,5 % агарозном геле продуктов лигирования вектора pHT43 и гена *pag* сибиреязвенного микроба (1 – продукт лигирования ДНК pHT43 и амплификата гена *pag*; 2 – смесь ДНК pHT43 и гена *pag* (без лигазы); 3 – продукт лигирования ДНК амплификата гена *pag* «на себя»; 4 – продукт лигирования ДНК вектора pHT43 «на себя»; 5 – маркер молекулярных масс ДНК 1kb DNA Ladder)

Таблица 2 — Результаты исследования лизатов и надосадочной жидкости микробных культур рекомбинантных клонов штамма Amy21(pHT43PA) *B. subtilis* в иммуноферментном анализе

Исследуемая проба		Оптическая плотность исследуемых проб..., ОП _{429нм} , ОЕ				
		до индукции	1 ч после индукции	2 ч после индукции	3 ч после индукции	4 ч после индукции
Клон № 1	Лизат	0,130	0,243	0,423	0,348	0,456
	Надосадочная жидкость	0,171	1,577	2,256	2,689	2,127
Клон № 2	Лизат	0,092	0,208	0,357	0,430	0,516
	Надосадочная жидкость	0,187	1,043	1,538	1,905	1,734
Клон № 3	Лизат	0,135	0,205	0,411	0,531	0,497
	Надосадочная жидкость	0,076	1,640	2,146	2,286	1,983
Клон № 4	Лизат	0,120	0,198	0,305	0,455	0,350
	Надосадочная жидкость	0,080	1,345	1,980	2,225	1,850
55ВНИИВВиМ <i>B. anthracis</i>	Лизат	Не исследовали				
	Надосадочная жидкость	0,117	1,680	2,043	2,635	2,314

нейшего изучения отобрали клон № 1 штамма Amy21(pHT43PA) *B. subtilis*, который характеризовался максимальными значениями оптической плотности проб в ИФА, что свидетельствовало о высоком уровне экспрессии сибиреязвенного ПА клетками данного клона.

Белковый профиль отобранного клона № 1 штамма Amy21(pHT43PA) *B. subtilis*, а также белковые профили контрольных штаммов исследовали на наличие белка методом электрофореза в ПААГ лизатов и надосадочной жидкости соответствующих бактериальных культур. Результаты белкового электрофореза представлены на рисунке 3.

Представленная на рисунке 3 картина белкового профиля показывает, что в пробах исследуемого рекомбинантного штамма Amy21(pHT43PA) *B. subtilis*, полученных в результате культивирования штамма в присутствии индуктора, содержится белок, схожий по молекулярной массе с белком, продуцируемым штаммом 55ВНИИВВиМ *B. anthracis*. В сравнении с маркером молекулярных масс белков данный белок обладает молекулярной массой около 80 кДа, что соответствует известной массе белка ПА сибиреязвенного микроба, равной 83 кДа.

На следующем этапе экспериментальных исследований было проведено длительное культивирование клона рекомбинантного штамма Amy21(pHT43PA) *B. subtilis* в течение 18 ч, в результате определили, что через (2,5±0,5) ч после введения индуктора достигается максимальное содержание ПА в культуральной жидкости, а затем снижается до нулевого значения.

С учетом полученных данных по динамике накопления рекомбинантного ПА в культуральной жидкости нами был проведен

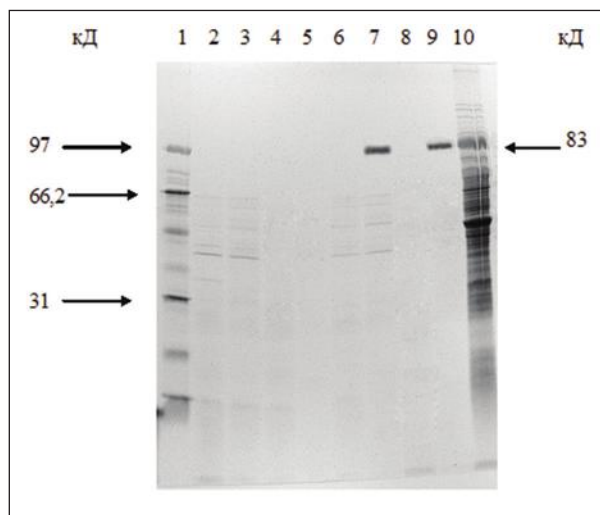


Рисунок 3 — Белковый профиль исследуемых рекомбинантного штамма Amy21(pHT43PA) *B. subtilis* и контрольных штаммов Amy21 *B. subtilis* и 55ВНИИВВиМ *B. anthracis* (1 – маркер молекулярных масс белков; 2, 3 – лизаты бактериальной суспензии бесплазмидного штамма-реципиента Amy21 *B. subtilis* без индуктора и в присутствии ИПТГ соответственно; 4, 5 – супернатанты бактериальной суспензии бесплазмидного штамма-реципиента Amy21 *B. subtilis* без индуктора и в присутствии ИПТГ соответственно; 6, 7 – лизаты бактериальной суспензии рекомбинантного клона Amy21(pHT43PA) *B. subtilis* в отсуствии индуктора и в присутствии ИПТГ соответственно; 8, 9 – супернатанты бактериальной суспензии рекомбинантного клона Amy21(pHT43PA) *B. subtilis* в отсуствии индуктора и в присутствии ИПТГ соответственно; 10 – лизат бактериальной суспензии штамма 55ВНИИВВиМ *B. anthracis* в присутствии гидрокарбоната натрия.

Таблица 3 — Результаты оценки на белых мышах иммуногенности препарата рекомбинантного протективного антигена, сорбированного на геле гидрооксида алюминия

Штамм-продуцент ПА	Величина ИД ₅₀ , усл. ед. ПА/мл
Amy21(pHT43PA) <i>B. subtilis</i>	171
55ВНИИВВиМ <i>B. anthracis</i>	165

цикл пробного культивирования штамма Amy21(pHT43PA) *B. subtilis* в аппарате МД-400. Из нативной культуры методом микрофилтрации и ультрафилтрации с использованием установки «Сартакон-2» был получен концентрированный препарат рекомбинантного ПА. Получение препарата сорбированного на геле гидрооксида алюминия рекомбинантного протективного антигена осуществляли в соответствии с регламентом производства вакцины сибиреязвенной комбинированной жидкой и сухой для подкожного применения (№ 862-99) [26].

В полученном препарате контролировали стерильность, pH, содержание общего азота, окиси алюминия и формальдегида по методикам, приведенным в Методических указаниях (МУК 4.1/4.2.588-96) [30].

Сорбированный концентрированный ПА полностью отвечал требованиям регламента:

- стерильность;
- pH (7,0±0,2);
- содержание общего азота не более 0,4 мг в расчете на 10 мг окиси алюминия;
- содержание в 1 мл от 7 до 10 мг окиси алюминия;
- содержание не более 0,001 % формальдегида;
- отсутствие неразбивающихся комков, хлопьев и посторонних включений.

Иммуногенность препарата ПА, приготовленного с использованием рекомбинантного штамма, оценивали в сравнении с иммуногенностью препарата, полученного в результате глубинного культивирования штамма 55ВНИИВВиМ *B. anthracis* в оптимальных для него условиях. Результаты определения ИД₅₀ для белых мышей представлены в таблице 3.

Представленные в таблице 3 результаты свидетельствуют о высокой иммуногенности препарата рекомбинантного ПА. ИД₅₀ для рекомбинантного ПА – 171 усл.ед. ПА/мл, соответствует величине ИД₅₀ сибиреязвенного вакцинного штамма 55ВНИИВВиМ *B. anthracis* – 165 усл.ед. ПА/мл.

Таким образом, в ходе проведенных работ установлено, что секретируемый штаммом Amy21(pHT43PA) *B. subtilis* протективный антиген сибиреязвенного микроба соответствует всем требованиям регламента производства комбинированной сибиреязвенной вакцины [26]. Учитывая полученные в ходе работ данные, а также безопасность, неприхотливость, хорошую изученность *B. subtilis* представляется целесообразным предложить данный рекомбинантный штамм для дальнейшего исследования в качестве продуцента сибиреязвенного ПА, перспективного для использования в качестве химической составляющей сибиреязвенных вакцин.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Бургасов П.Н., Черкасский Б.Л., Марчук Л.М. и др. Сибирская язва. М.: Медицина, 1970.
2. Бондарев В.П., Филиппов А.В., Дармов И.В. и др. Разработка иммуноферментной моноклональной тест-системы для обнаружения протективного антигена *Bacillus anthracis* // Проблемы особо опасных инфекций. 2007. Т. 93. С 66–69.
2. Онищенко Г.Г., Васильев Н.Т., Литусов Н.В. и др. Сибирская язва: актуальные аспекты микробиоло-

гии, эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики. М.: ВУНМЦ МЗ РФ, 1999.

3. Онищенко Г.Г. Инфекционные болезни – важнейший фактор биоопасности // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2003. № 3. С. 4–16.

4. Кутырев В.В., Смирнова Н.И. Генодиагностика и молекулярное типирование чумы, холеры и сибирской язвы // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2003. № 1. С. 6–14.

5. Онищенко Г.Г., Федоров Ю.М., Тихонов Н.Г. и

др. Противодействие биотерроризму как новая проблема эпидемиологии // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2003. № 2. С. 4–6.

6. Inglesby T.V., Henderson D., Bartlett J.G. et al. Anthrax as a Biological Weapon. Updated recommendations for management // JAMA. 2002. V. 287. P. 2236–2252.

7. Pile J.C., Malone J.D., Eitzen E.M. et al. Anthrax as a Potential Biological Warfare Agent // Arch. int. Med. 1998. V. 158. P. 429–434.

8. Васильев Н.Т., Пименов Е.В., Кожухов В.В. и др. Перспективы создания сибиреязвенных вакцин нового поколения // Иммунология. 1999. № 3. С. 5–8.

9. Mikesell P., Ivins B., Ristoph J. Evidence for plasmid-mediated toxin production in *Bacillus anthracis* // Infect. Immun. 1983. V. 39. P. 371–376.

10. Okinaka R., Cloud K., Hampton O. et al. Sequence and organization of pX01, the large *Bacillus anthracis* plasmid harboring the anthrax toxin genes // J. Bacteriol. 1999. V. 181. P. 6509–6515.

11. Klimpel K.R., Molloy S.S., Thomas G., Leppla S.H. Anthrax toxin protective antigen is activated by a cell surface protease with the sequence specificity and catalytic properties of furin // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1992. V. 89. P. 10277–10281.

12. Leppla S.H. The anthrax toxin complex // Sourcebook of Bacterial Protein Toxins / Ed. Alouf J.F., Freer J.H. London: Academic Press, 1991. P. 277–302.

13. Vodkin M., Leppla S. Cloning of the protective antigen gene of *Bacillus anthracis* // Cell. 1983. V. 34. P. 693–697.

14. Алимов А.П., Павлов В.М. Патент РФ на изобретение № 2110575. Рекомбинантная плазмидная ДНК pro PF5, определяющая синтез капсульного антигена F1 возбудителя чумы и протективного антигена возбудителя сибирской язвы, и способ конструирования рекомбинантной плазмидной ДНК pro PF5 // Бюллетень № 13 от 10.05.1998.

15. Тедиков В.М., Добрица А.П. Клонирование и экспрессия детерминанты протективного антигена *Bacillus anthracis* в клетках *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* и *Bacillus anthracis* // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 1993. № 2. С. 13–16.

16. Chauhan V., Singh A., Waheed S. et al.

Constitutive expression of protective antigen gene of *Bacillus anthracis* in *Escherichia coli* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2001. V. 283. P. 308–315.

17. Coulson N.M., Fulop M., Titball R.W. *Bacillus anthracis* protective antigen, expressed in *Salmonella typhimurium* SL3261, affords protection against anthrax spore challenge // Vaccine. 1994. V. 12. P. 1395–1401.

18. Zegers N., Kluter E., van Der Stap H. et al. Expression of the protective antigen of *Bacillus anthracis* by *Lactobacillus casei*: Towards the development of an oral vaccine against anthrax // J. Appl. Microbiol. 1999. V. 87. P. 309–314.

19. Pavlov V., Tedikov V., Mokrievich A. Cloning of pXOI and pag-gene of *Bacillus anthracis* in *Francisella tularensis* // International Workshop on Anthrax, 19–21 September 1995. Winchester, England. 1995. P. 108–109.

20. Baillie L. W. J., Moir A., Manchee R. The expression of the protective antigen *Bacillus anthracis* in *Bacillus subtilis* // J. Appl. Microbiol. 1998. Vol. 84. P. 741–746.

21. Cohen S., Mendelson L., Altboum Z. et al. Attenuated nontoxigenic and nonencapsulated recombinant *Bacillus anthracis* spore vaccines protect against anthrax // Infect. Immun. 2000. V. 68. P. 4549–4558.

22. Ivins B.E., Welkos S.L. Cloning and expression of the *B. anthracis* protective antigen in *B. subtilis* // Infect. Immun. 1986. V. 54. P. 537–542.

23. Barnard J.P., Friedlander A.M. Vaccination against anthrax with attenuated recombinant strains of *Bacillus anthracis* that produce protective antigen // Infect. Immun. 1999. V. 67. P. 562–567.

24. Клонирование ДНК. Методы / Под ред. Гловера Д. Пер. с англ. М.: Мир, 1988.

26. Экспериментально-производственный регламент № 862-99 производства вакцины сибиреязвенной комбинированной жидкой и сухой для под кожного применения. Киров, 1999.

27. *Bacillus subtilis* Expression Vectors Product Information and Instructions, 2005.

28. Молекулярная клиническая диагностика. Методы / Под ред. Херрингтона С., Макги Дж. Пер. с англ. М.: Мир, 1999.

29. Маниатис Т., Фрич Э., Самбрук Дж. Молеку-

Об авторах

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации. 610000, Российская Федерация, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 119

Онучина Наталья Викторовна. Младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела, канд. биол. наук.

Кузнецовский Андрей Владимирович. Начальник научно-исследовательского управления, канд. биол. наук.

Воробьев Алексей Анатольевич. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела, д-р биол. наук.

Филиппов Алексей Владимирович. Заместитель начальника научно-исследовательского отдела – начальник группы научно-исследовательского отдела, канд. мед. наук.

Адрес для переписки: Онучина Наталья Викторовна; NIC48CNII@mil.ru

GENETIC CONSTRUCTION OF *BACILLUS SUBTILIS* RECOMBINANT STRAIN, PRODUCING PROTECTIVE ANTIGEN OF ANTHRAX MICROBE

N.V. Onuchina, A.V. Kuznetsovsky, A.A. Vorobyov, A.V. Filippov

Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation

Anthrax is a serious infectious disease with high mortality. The epidemiological security depends on the vaccination of susceptible animals and population at risk. But many of the existing anthrax vaccine strains possess low levels of protective antigen production and high reactogenicity. One of the most promising trends in production of new generation of vaccines is the cloning of particular determinants of immunogenicity of anthrax microbe for the creation of highly effective producers of *Bacillus anthracis* protective antigen. The aim of the article is to present the results of the study on the construction of recombinant *Bacillus subtilis* strain, producing *B.anthraxis* protective antigen, promising for use in chemical anthrax vaccines technology. The pHT43PA plasmid containing the gene *pag*, providing the synthesis of protective antigen of the anthrax microbe and functioning stably in the cells of the recombinant strain Amy21(pHT43PA) of *B. subtilis*, was constructed on the basis of the shuttle vector pHT43. It is found out during the research, that the microbial cells of the recombinant strain Amy21(pHT43PA) of *B. subtilis* provide the production of immunologically active protective antigen in quantities, not inferior than anthrax vaccine strains. These data, as well as safety and simplicity of *B. subtilis* make it possible to continue the research of this recombinant strain as a producer of anthrax protective antigen, promising for use in vaccines production.

Keywords: *Bacillus subtilis*; gene *pag* *Bacillus anthracis*; cloning; protective antigen of the anthrax microbe; the shuttle (*B. subtilis* / *E. coli*) vector pHT43.

For citation: Onuchina N.V., Kuznetsovsky A.V., Vorobyov A.A., Filippov A.V. Genetic Construction of *Bacillus subtilis* Recombinant Strain, Producing Anthrax Protective Antigen // *Journal of NBC Protecton Corps.* 2018. V. 2. № 2. P. 51–60.

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

1. Burgasov P.N., Cherkasskii B.L., Marchuk L.M. et al. Anthrax. Moscow Medicine, 1970. (in Russian).
2. Bondarev V.P., Filippov A.V., Darmov I.V. et al. Development of an immunoenzyme monoclonal test system for the detection of the protective antigen of *Bacillus anthracis* // *Problems of Especially Dangerous Infections*. 2007. T. 93. P. 66–69. (in Russian).
3. Onishchenko G.G., Vasil'ev N.T., Litsov N.V. et al. Anthrax: actual aspects of microbiology, epidemiology, clinic, diagnosis, treatment and prevention. Moscow, VUNMTs MZ RF, 1999. (in Russian).
4. Onishchenko G.G. Infectious diseases – the most important factor of biohazard // *Epid. and Infect. Diseases*. 2003. № 3. P. 4–16. (in Russian).
5. Kutirev V.V., Smirnova N.I. Genetic diagnostics and molecular typing of plague, cholera and anthrax // *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2003. № 1. P. 6–14. (in Russian).
6. Onishchenko G.G., Fedorov Iu.M., Tikhonov N.G. et al. Counteracting bioterrorism as a new problem in epidemiology // *Epid. and Infect. Diseases*. 2003. № 2. P. 4–6. (in Russian).

7. Inglesby T.V., Henderson D., Bartlett J.G. et al. Anthrax as a biological weapon. Updated recommendations for management // JAMA. 2002. V. 287. P. 2236–2252.
8. Pile J.C., Malone J.D., Eitzen E.M. et al. Anthrax as a potential biological warfare agent // Arch. int. Med. 1998. V. 158. P. 429–434.
9. Vasil'ev N.T., Pimenov E.V., Kozhukhov V.V. et al. Prospects for the creation of a new generation anthrax vaccine // Immunology. 1999. № 3. P. 5–8. (in Russian).
10. Mikesell P., Ivins B., Ristoph J. Evidence for plasmid-mediated toxin production in *Bacillus anthracis* // Infect. Immun. 1983. V. 39. P. 371–376.
11. Okinaka R., Cloud K., Hampton O. et al. Sequence and organization of pX01, the large *Bacillus anthracis* plasmid harboring the anthrax toxin genes // J. Bacteriol. 1999. V. 181. P. 6509–6515.
12. Klimpel K.R., Molloy S.S., Thomas G., Leppla S.H. Anthrax toxin protective antigen is activated by a cell surface protease with the sequence specificity and catalytic properties of furin // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1992. V. 89. P. 10277–10281.
13. Leppla S.H. The anthrax toxin complex // Sourcebook of Bacterial Protein Toxins / editors J.E. Alouf, J.H. Freer. Academic Press London. 1991. P. 277–302.
14. Vodkin M., Leppla S. Cloning of the protective antigen gene of *Bacillus anthracis* // Cell. 1983. V. 34. P. 693–697.
15. Alimov A.P., Pavlov V.M. The patent of the Russian Federation for invention No. 2110575. Recombinant plasmid DNA pro PF5, which determines the synthesis of the capsule antigen F1 of the plague and the protective antigen of the anthrax pathogen, and the method for constructing the recombinant plasmid DNA pro PF5. Bulletin No. 13 dated 10.05.1998. (in Russian).
16. Tedikov V.M., Dobritsa A.P. Cloning and expression of the determinant of the *Bacillus anthracis* protective antigen in cells of *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus anthracis* // Molecular genetics, microbiology and virology. 1993. № 2. P. 13–16. (in Russian).
17. Chauhan V., Singh A., Waheed S. et al. Constitutive expression of protective antigen gene of *Bacillus anthracis* in *Escherichia coli* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2001. V. 283. P. 308–315.
18. Coulson N.M., Fulop M., Titball R.W. *Bacillus anthracis* protective antigen, expressed in *Salmonella typhimurium* SL3261, affords protection against anthrax spore challenge // Vaccine. 1994. V. 12. P. 1395–1401.
19. Zegers N., Kluter E., van Der Stap H. et al. Expression of the protective antigen of *Bacillus anthracis* by *Lactobacillus casei*: Towards the development of an oral vaccine against anthrax // J. Appl. Microbiol. 1999. Vol. 87. P. 309–314.
20. Pavlov V., Tedikov V., Mokrievich A. Cloning of pXOI and *pag*-gene of *Bacillus anthracis* in *Francisella tularensis* // International Workshop on Anthrax, 19–21 September 1995. Winchester, England. 1995. P. 108–109.
21. Baillie L. W. J., Moir A., Manchee R. The expression of the protective antigen *Bacillus anthracis* in *Bacillus subtilis* // J. Appl. Microbiol. 1998. V. 84. P. 741–746.
22. Cohen S., Mendelson L., Altboum Z. et al. Attenuated nontoxinogenic and nonencapsulated recombinant *Bacillus anthracis* spore vaccines protect against anthrax // Infect. and Immun. 2000. V. 68. P. 4549–4558.
23. Ivins B.E., Welkos S.L. Cloning and expression of the *B. anthracis* protective antigen in *B. subtilis* // Infect. and Immun. 1986. V. 54. P. 537–542.
24. Barnard J.P., Friedlander A.M. Vaccination against anthrax with attenuated recombinant strains of *Bacillus anthracis* that produce protective antigen // Infect. and Immun. 1999. V. 67. P. 562–567.
25. Cloning DNA. Methods / Ed. Glover D. Translation from English. Moscow: Mir, 1988. (in Russian).
26. Experimental production schedule of production of anthrax vaccine combined liquid and dry for subcutaneous application № 862-99. Kirov, 1999. (in Russian).
27. *Bacillus subtilis* expression vectors product information and instructions, 2005.
28. Molecular clinical diagnosis. Methods/ Ed. Khyerrington S., Makgi J. Translation from English. Moscow: Mir, 1999. (in Russian).
29. Maniatis T., Fritsch E., Sambrook Dzh. Molecular cloning. Translation from English. Moscow: 1984. (in Russian).
30. MUK 4.1/4.2.588–96. Methods for monitoring medical immunobiological drugs administered to people. Moscow, 1996. (in Russian).

Authors

Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation.

Onuchina N.V. Junior Researcher of the Scientific and Research Department. Candidate of Biological Sciences.

Kuznetsovskiy A.V. Chief of the Scientific and Research Branch. Candidate of Biological Sciences.

Vorobyov A.A. Leading Researcher of the Scientific and Research Department. Doctor of Biological Sciences.

Filippov A.V. Deputy Chief of the Scientific and Research Department – Head of the Group of the Scientific and Research Department. Candidate of Medical Sciences.

Address: Onuchina Natalia Victorovna; NIC48CNII@mil.ru

НЕКОТОРЫЕ ОПАСНЫЕ И ОСОБО ОПАСНЫЕ ЭМЕРДЖЕНТНЫЕ ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ НАЧАЛА XXI ВЕКА: ВОЗНИКНОВЕНИЕ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

С.В. Борисевич, Т.Е. Сизикова, С.И. Сыромятникова, В.Б. Пантюхов, В.Н. Лебедев

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации,
141306, Российская Федерация, г. Сергиев Посад, ул. Октябрьская, д. 11

Поступила 23.04.2018 г. Принята к публикации 05.06.2018 г.

Эмерджентные вирусные инфекции возникают вследствие спонтанного появления вирулентных для человека штаммов возбудителей инфекционных заболеваний, снижения уровня естественного иммунитета на популяционном уровне, изменений в окружающей среде, способствующих трансмиссии инфекционных заболеваний, повышения уровня контактов между различными регионами. В статье рассмотрены заболевания, вызванные новыми коронавирусами (тяжелый острый респираторный синдром, SARS; Ближневосточный респираторный синдром, MERS), геморрагическая лихорадка Луйо, вызываемая новым аренавирусом с одноименным названием и острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом, вызываемая новым флебовирусом. Приведены время выявления и идентификации возбудителей, их таксономическая принадлежность, структурная организация генома, возможные пути появления вирулентных для человека штаммов, регион распространения заболеваний, вероятные пути заражения, резервуар инфекции и переносчики, общее количество заболевших и летальность заболевания. Их опасность для здравоохранения обусловлена тяжестью вызываемых заболеваний, отсутствием характерных клинических признаков, что затрудняет проведение диагностики (особенно в неэндемичных регионах), отсутствием средств специфической профилактики и лечения и возможности выявления и идентификации возбудителей только в специализированных научных центрах. Наибольшую угрозу для здравоохранения Российской Федерации в случае завоза их возбудителей на российскую территорию представляют заболевания, вызванные новыми коронавирусами SARS-CoV и MERS-CoV.

Ключевые слова: Ближневосточный респираторный синдром; вирулентность; геморрагическая лихорадка Луйо; заболеваемость; идентификация возбудителя; летальность; острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом; переносчики; резервуар инфекции; тяжелый острый респираторный синдром; эмерджентная вирусная инфекция.

Библиографическое описание: Борисевич С.В., Сизикова Т.Е., Сыромятникова С.И., Пантюхов В.Б., Лебедев В.Н. Некоторые опасные и особо опасные эмерджентные вирусные инфекции начала XXI века: возникновение, распространение, опасность для здравоохранения // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2. № 2. С. 61–68.

По мере увеличения численности населения Земного шара и расширения ареала его обитания эмерджентные инфекции представляют перманентную угрозу для людей. В ходе эпидемий, вызванных такими эмерджентными (по отно-

шению к их современникам) инфекциями как натуральная оспа и чума, погибало свыше одной трети от общего числа населения. Развитие медицины позволяет в настоящее время избежать таких катастрофических потерь. Тем не менее

в перечне эмерджентных вирусных инфекций относительно недавно прошедшего XX в. фигурируют «испанка» – заболевание, вызванное вирусом гриппа А, подтип H1N1, особо опасные фило и аренавирусные геморрагические лихорадки, американские энцефалиты лошадей, лихорадка Западного Нила, СПИД, гепатиты В и С и многие другие инфекционные заболевания, общее количество жертв которых исчисляется миллионами.

Цель обзора – анализ возникновения и распространения некоторых опасных и особо опасных эмерджентных вирусных инфекций начала XXI века (тяжелый острый респираторный синдром, Ближневосточный респираторный синдром, геморрагическая лихорадка Луйо, острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом) и оценка представляемой ими опасности для здравоохранения с учетом возможности проникновения их возбудителей в неэндемичные регионы.

В качестве основных причин появления и идентификации эмерджентных инфекций следует назвать изменения микроорганизмов (спонтанное появление вирулентных для человека штаммов), изменение уровня естественного иммунитета человека, изменения в окружающей среде, способствующие трансмиссии инфекционных заболеваний, социально-экономические изменения, повышение уровня контактов между различными регионами.

Возбудители эмерджентных вирусных инфекций относятся к различным таксономическим группам вирусов.

В качестве естественного временного рубежа при характеристике эмерджентных вирусных инфекций нами принято начало XXI в. Основными критериями отбора эмерджентных вирусных инфекций для последующего рассмотрения являются время выявления и идентификации возбудителя заболевания (после 01.01.2001 г.), а также опасность заболевания для здравоохранения с учетом возможности завоза возбудителя на территорию Российской Федерации. С учетом первого из рассматриваемых критериев нами не рассматриваются ряд нозологических форм, вспышки которых в последнее время вызвали пристальное внимание системы здравоохранения. Это заболевания, вызванные вирусами Эбола (возбудитель впервые был выделен в 1976 г.), Зика (1946 г.) Чикунгунья (1953 г.), лихорадки долины Рифт (1930 г.) и рядом других возбудителей.

В качестве опасных и особо опасных эмерджентных вирусных инфекций начала XXI в рассмотрены заболевания, вызванные новыми коронавирусами (тяжелый острый респираторный синдром (SARS), Ближневосточный респираторный синдром (MERS)),

геморрагическая лихорадка Луйо, вызываемая новым аренавирусом с одноименным названием, а также острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом, вызываемая новым флебовирусом.

Заболевания, вызываемые коронавирусами SARS и MERS

Коронавирусы – это оболочечные вирусы с одноцепочечной «плюс» РНК, с размерами генома от 25 до 32 тыс. нуклеотидов, вызывающие респираторные и кишечные заболевания животных и человека [1–3].

На глобальном популяционном уровне у человека поддерживается циркуляция четырех различных коронавирусов. До 2002 г. были известны только два коронавируса, HCoV-OC43 и HCoV-229E, вызывающие инфекционный процесс верхних дыхательных путей у человека. Они считались одной из составных частей спектра патогенов, вызывающих респираторные заболевания (до 15 % от всех зарегистрированных случаев острых респираторных вирусных заболеваний) [1, 3].

В декабре 2002 г. зарегистрировано появление нового коронавируса, являющегося этиологическим агентом тяжелого острого респираторного синдрома (SARS). Коронавирусы, вызывающие SARS (SARS-CoV), циркулировали в течение 2002–2003 гг., и вызвали пандемию, охватившую около 8 тыс. человек. Летальность среди заболевших составляла около 10 % [4]. Клиническая картина заболевания характеризовалась первичной вирусной пневмонией с выраженным респираторным синдромом.

Вирус, вызвавший пандемию SARS, совсем недавно появился в человеческой популяции из зоонозного резервуара [4]. Именно зоонозная трансмиссия коронавирусов животных могла стать причиной нового опасного инфекционного заболевания человека. Пандемия, начавшаяся в 2002 г., показала эпидемический потенциал этого семейства РНК-вирусов.

Информация о выявлении другого, представляющего угрозу для здравоохранения коронавируса, впервые появилась на сайте ВОЗ 25 сентября 2012 г. Сообщено о двух случаях новой тяжелой респираторной инфекции, один из которых закончился летальным исходом. У больных зарегистрированы лихорадка, респираторные симптомы, носовое кровотечение, нарастающая пневмония, острая почечная недостаточность.

В обоих случаях заболевание было ассоциировано с постоянным пребыванием или посещением стран, расположенных на Аравийском полуострове.

Секвенирование полученного из клинических проб возбудителя в Медицинском

Центре Эразма Роттердамского (ЕМС) в г. Роттердам (Нидерланды) позволило открыть новый человеческий коронавирус NCoV (который впоследствии получил название «коронавирус – возбудитель Ближневосточного респираторного синдрома (MERS-Cov)) [5, 6].

Сравнение нуклеотидных последовательностей возбудителя, выделенного от обоих больных, выполненное в ЕМС, показало 99,5 % гомологию. Полученные результаты дали основание утверждать, что этиологическим агентом в этих двух случаях заболевания является один и тот же новый человеческий коронавирус [6].

В дальнейшем выяснилась информация о случаях заболевания, вызванного коронавирусом MERS, членов одной семьи, проживающих в одном и том же доме, что явилось первым свидетельством возможности передачи этой инфекции от больного человека здоровому [7–9]. Затем это было подтверждено выявлением групповых случаев заболевания в семьях, а также случаями заболевания среди обслуживающего персонала госпиталей [10]. Вполне вероятно, что инфекция от человека к человеку передается респираторным путем. Для оценки потенциальной опасности заболевания важно оценить потенциальные видовые барьеры MERS. Эпителий дыхательных путей человека представляет собой входные ворота и первичную мишень для респираторных вирусов. Установлено, что человеческий бронхиальный эпителий является высокочувствительным к MERS инфекции, при этом вирус MERS не входит в клетки, используя рецепторы TOPC – человеческий ангиотензин-превращающий рецептор-2. Идентификация хозяйского клеточного рецептора, используемого вирусом MERS, обеспечит понимание патогенеза легочного и почечного заболевания, а также позволит предложить эффективные способы лечения [11].

Инкубационный период заболевания при MERS составляет от 2 до 15 (в среднем 6) суток [12].

В 2013–2016 гг. случаи MERS были выявлены в государствах, расположенных на Аравийском полуострове, в Великобритании, ФРГ, Греции, Италии, Франции, Бельгии, Нидерландах, Люксембурге, Алжире, Египте, США, Австралии, Южной Корее, Китае [8, 13–17].

Всего к настоящему времени зарегистрировано около 1,8 тыс. лабораторно подтвержденных случаев заболеваний, вызванных вирусом MERS, из которых 643 завершили летальным исходом [18, 19].

Все первичные случаи заболевания в том или ином регионе так или иначе связаны с посещением стран Ближнего Востока. Для эпидемиологической характеристики заболевания это имеет весьма важное значение, т.к. Саудовскую Аравию во время хаджа ежегодно посещают миллионы мусульман, проживающих во многих странах.

Если число случаев заболевания в европейских странах (14) и США (3) является ограниченным, то во время вспышки MERS в Южной Корее выявлено в общей сложности 169 лабораторно подтвержденных случаев заболевания, более трети из которых завершились летальным исходом [16].

При анализе первичного случая заболевания в Южной Корее установлено, что больной, прибывший в Южную Корею 4 мая 2015 г. и заболевший 11 мая 2015 г., перед этим посетил ряд стран, расположенных на Аравийском полуострове [20].

Случаи MERS вызвали тревогу органов здравоохранения в глобальном масштабе, поскольку явились напоминанием о потенциальной угрозе коронавирусов для здравоохранения, что впервые было отмечено после вспышки SARS в 2003 г. [13].

До сих пор нет однозначного ответа на вопрос о том, является ли вирус MERS результатом мутации коронавируса человека, продуктом генетической рекомбинации между двумя ранее известными коронавирусами или, подобно SARS-CoV, зоонозным коронавирусом, непосредственно, либо опосредованно перенесенным к человеку.

Резервуар инфекции и способ передачи человеку в настоящее время окончательно не установлен [7, 21]. Вполне вероятно зоонозная природа инфекции, вызванной вирусом MERS. Кроме того, поскольку вирус MERS по структуре генома наиболее тесно связан с коронавирусами летучих мышей, возможно, что рукокрылые являются естественным резервуаром вируса. Однако не ясно, имеет ли место непосредственная передача NCoV человеку, или передача происходит через промежуточное звено, в качестве которого могут рассматриваться верблюды-дромадеры (рисунок 1) [22].

Геморрагическая лихорадка Луйо

Геморрагическая лихорадка Луйо (ГЛЛ) – вирусное заболевание, сопровождающееся повышением температуры, головной болью, рвотой, диареей, артралгией, миалгией и кровоизлияниями [24].

Этиологическим агентом заболевания является вирус Луйо, выделенный в 2008 г. от больного, умершего в Йоханнесбурге (ЮАР) [25].

Возбудитель – РНК содержащий вирус, семейства Arenaviridae, рода Arenavirus, группа аренавирусов Старого Света (комплекс лимфоцитарный хореоменингит (ЛХМ) – Ласса) [26].

Вероятно, что естественным резервуаром возбудителя в природе являются грызуны неустановленных видов, заболевание которых протекает в хронической и персистирующей формах [27].

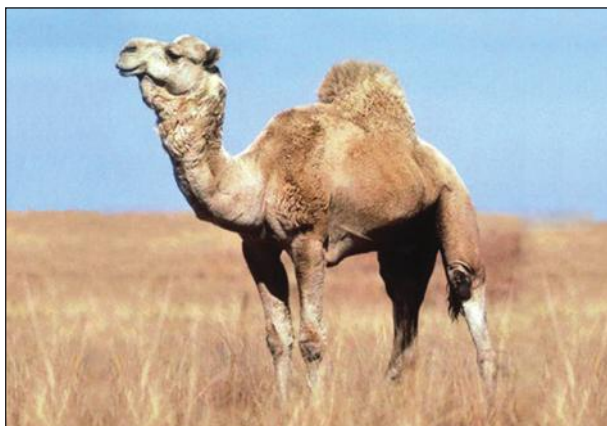


Рисунок 1 — Одногорбый верблюд (*Camelus dromedaries*), может служить природным резервуаром коронавируса MERS-CoV

Из всех аренавирусных геморрагических лихорадок, геморрагическая лихорадка Луйо, наряду с Бразильской геморрагической лихорадкой, является наименее изученной нозологической формой. До настоящего времени имеются сообщения только о пяти случаях заболеваний (одном первичном, трех вторичных и одном третичном). В то же время чрезвычайно высокая летальность заболевания (четыре из пяти заболевших погибли) заставляет обратить на него пристальное внимание [27].

Клинические признаки заболевания, обобщенные по всем пяти зарегистрированным случаям, свидетельствуют о том, что клиническая картина ГЛЛ является неспецифической и вариабельной, что затрудняет установление диагноза. Патогномоничные признаки в начальный ее период отсутствуют и, в общем, соответствуют таковым не только при вирусных геморрагических лихорадках, но и по целому ряду других нозологических форм. Без проведения лабораторной диагностики с использованием вирусологических и молекулярно-биологических методов исследований поставить диагноз «ГЛЛ» невозможно [28].

Четыре зарегистрированных случая нозокомиальной инфекции (без отмеченных нарушений специальной техники безопасности) указывают на опасность, которой подвергается больничный персонал при лечении и уходе за больными [29]. Поскольку при всех вторичных случаях заболевания отсутствует информация о возможном повреждении кожных покровов, наиболее вероятный способ заражения – аэрозольный. По косвенным данным (с учетом использования всеми заболевшими сотрудниками медицинских учреждений хирургических масок), можно сделать вывод о том, что инфицирующая доза для человека достаточно мала.

Исключительно высокая летальность заболевания, вызываемого вирусом Луйо (80 %),



Рисунок 2 — Гималайская циветта (*Paguma larvata*), промежуточный резервуар SARS

определяет ее серьезную опасность для человека. В результате расширения торгово-экономических связей между РФ и ЮАР в рамках БРИКС и возрастания числа наших соотечественников, посещающих ЮАР (около 10 тыс. в 2015 г.), нельзя исключить возможность завоза вируса Луйо в нашу страну, что обуславливает необходимость разработки мер противодействия в отношении данной инфекции, и, в первую очередь, методов ускоренной диагностики.

Острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом

В период с марта по июль 2009 г. в сельских районах провинций Центрального Китая выявлено новое заболевание, характеризующееся выраженной лихорадкой (38°C и выше), тромбоцитопенией (концентрация тромбоцитов менее $1 \times 10^5 \text{ мл}^{-1}$), лейкоцитопенией, симптомами поражения желудочно-кишечного тракта, в 30 % случаев заканчивающееся гибелью больных. Непосредственной причиной гибели заболевших являются выраженная лейкоцитопения и тромбоцитопения на фоне массового выброса цитокинов, приводящая к явлениям дисфункции внутренних органов (мультиорганной недостаточности) [30–34].

Начиная с марта 2010 г. стали поступать сообщения о новых случаях заболевания в Центральном и Северо-восточных районах Китая со сходными клиническими признаками. Заболевание получило название «острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом» (англ. Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS)).

В результате проведенных лабораторных исследований в июне 2009 г. был выделен ранее неизвестный вирус, по результатам генотипирования отнесенный к роду *Phlebovirus* семейства *Bunyaviridae*. Позднее этот же возбудитель (вирус SFTS) был выделен и от других больных, а впоследствии и от клещей [34–37].



Рисунок 3 — Клеши *Haemaphysalis longicornis*, резервуар и переносчик SFTS



Рисунок 4 — *Oenanthe oenanthe* – обыкновенная каменка, возможный переносчик инфицированных клещей *H. longicornis*

В 2011–2012 г.г. в КНР зарегистрировано 2047 случаев SFTS (46,65 % мужчин и 53,35 % женщин) из которых 129 (55,04 % мужчин и 44,96 % женщин) завершились летальным исходом. Средняя продолжительность заболевания до гибели (при летальных случаях) составляла 9 сут. Из всех летальных случаев заболевания гибель в 75,97 % случаях наступала в течение 14 сут от начала заболевания. Большая часть (74,89 %) случаев заболевания была зарегистрирована в период с мая по август [32, 38].

Группа риска включает в себя рабочих, занятых в сельском хозяйстве, а также пожилых женщин, проживающих в сельских районах [39, 40].

Результаты исследований, направленных на поиск возможного переносчика инфекции, показали, что таковым являются клещи *Haemaphysalis longicornis* (рисунок 3), в которых с помощью ОТ-ПЦР была выявлена РНК вируса SFTS [41, 42]. У 14,9 % заболевших были отмечены укусы клещами в течение 14 сут, предшествующий началу заболевания [38].

Клещи *Haemaphysalis longicornis* широко распространены на материковой части Китая и на Корейском полуострове. Первичные случаи заражения человека происходят вследствие укусов инфицированными клещами данного вида. Именно возможный контакт с инфицированными клещами следует рассматривать как основной фактор риска заражения SFTS. В дальнейшем вирус SFTS был выделен также от клещей *Rhipicephalus microplus* [34, 42].

Упомянутые виды клещей являются естественным резервуаром вируса SFTS. Сохранение возбудителя в природе происходит за счет вертикальной передачи вируса. С учетом возможности распространения клещей данного вида с перелетными птицами *Oenanthe oenanthe* – обыкновенная каменка (рисунок 4) не исключено расширение ареала распространения инфекции [43].

Заболевание, вызванное вирусом SFTS, было зарегистрировано не только на территории КНР, но и в КНДР [31] и Японии [39].

Имеются данные, подтверждающие возможность трансмиссии вируса от больного человека здоровому [44–48]. Непосредственной причиной заражения, вероятно, являются контакты с кровью больных [46–48]. Вероятным условием возможности вторичного заражения, видимо, является высокий уровень вирусемии у первичного больного. Кроме того, нельзя исключить возможность аэрогенного заражения [46].

Анализ доступной информации о заболевании, вызываемом новым флебовирусом SFTS, свидетельствует, что оно представляет серьезную потенциальную опасность для здравоохранения РФ. Это обуславливается наличием эпидемических очагов SFTS в сопредельных с Дальневосточным регионом РФ территориях, широким ареалом распространения клещей видов *Haemaphysalis longicornis* и *Rhipicephalus microplus*, являющихся вектором передачи инфекции, высокой летальностью заболевания, сложностью идентификации заболевания по его клинической картине, а также отсутствием средств диагностики, профилактики и лечения.

Некоторые эпидемиологические характеристики рассмотренных нозологических форм вирусных эмерджентных инфекций представлены в таблице.

Как следует из данных, представленных в таблице, возбудители эмерджентных вирусных инфекций начала XXI в относятся к различным таксономическим группам вирусов, различающихся по структурной организации генома и возможным способам появления вирулентных для человека штаммов. Соответствующие нозологические формы различаются по резервуару и векторам передачи инфекции, заболеваемости и летальности среди заболевших. Общим для всех рассмотренных заболеваний является возмож-

Таблица — Некоторые характеристики возбудителей опасных и особо опасных эмерджентных вирусных инфекций начала XXI в. и эпидемиологические особенности вызываемых ими заболеваний

Показатель	Возбудитель			
	SARS	MERS	Луйо	SFTS
Год первичного выявления и идентификации	2002	2012	2008	2009
Место первичного появления	КНР	Саудовская Аравия	ЮАР	КНР
Семейство, род вирусов	Coronaviridae, Coronavirus	Coronaviridae, Coronavirus	Arenaviridae, Arenavirus	Bunyaviridae, Phlebovirus
Структурная организация генома	Одноцепочечная «плюс» РНК	Одноцепочечная «плюс» РНК	Одноцепочечная «минус» РНК, состоящая из 2 сегментов	Одноцепочечная «минус» РНК, состоящая из 3 сегментов
Возможные пути появления вирулентных для человека штаммов	Генетическая рекомбинация	Генетическая рекомбинация	Генетическая рекомбинация, реассортация	Реассортация
Вероятный способ заражения	Аэрозольный	Аэрозольный	Аэрозольный	Трансмиссивный, возможно, аэрозольный
Резервуар инфекции	Кошки циветты	Рукокрылые, возможно верблюды	Неизвестен, возможно, дикие грызуны	Клещи
Переносчик	Больные люди	Больные люди, возможно, верблюды	Больные люди	Клещи
Общее количество заболевших	Свыше 9000	Около 1800	5	Около 3000
Летальность среди заболевших, процент	10	35	80	6

ность расширения нозоареала инфекции за пределы эндемичного для возбудителя региона.

Выводы:

1. Эмерджентные вирусные инфекции возникают вследствие спонтанного появления вирулентных для человека штаммов возбудителей инфекционных заболеваний, снижения уровня естественного иммунитета на популяционном уровне, изменений в окружающей среде, способствующих трансмиссии инфекционных заболеваний, повышения уровня контактов между различными регионами.

2. Среди опасных и особо опасных эмерджентных вирусных инфекций начала XXI века (SARS, MERS, геморрагическая лихорадка Луйо, острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом) наибольшую потенциальную опасность для здравоохранения в плане возможности возникновения эпидемических вспышек

представляют заболевания, вызванные новыми коронавирусами SARS-CoV и MERS-CoV.

3. Опасность возбудителей эмерджентных вирусных инфекций для здравоохранения обусловлена тяжестью вызываемых ими заболеваний, отсутствием характерных клинических признаков, что затрудняет проведение диагностики (особенно в неэндемичных регионах), отсутствием средств специфической профилактики и лечения и возможности выявления и идентификации возбудителей только в специализированных научных центрах.

4. Потенциальная опасность завоза в РФ возбудителей эмерджентных вирусных инфекций определяет возможные пути совершенствования системы биологической защиты. В первую очередь необходимо проведение разработки и совершенствования методов выявления и идентификации вирусов и диагностики вызываемых ими заболеваний.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. De Groot R.J. Family Coronaviridae / Virus taxonomy, the 9th report of the international committee on taxonomy of viruses. ses / Ed. King AMQ, Adams M.J., Cartens E.B., Lefkowitz E.J. San Diego: Academic Press,

2012. P. 806–828.

2. Gorbalenya A.E., Enjuanes L., Ziebuhr J., Snijder E.J. Nidovirales: evolving the largest RNA virus genome // *Virus Res.* 2006. V. 117, № 1. P. 17–37. doi: 10.1016/j.virusres.2006.01.017.

3. Lauber C., Gorbalenya A.E. Partitioning the genetic diversity of a virus family: approach and evaluation through a case study of picornaviruses // *J. Virol.* 2012. V. 86. № 7. P. 3890–3904. doi:10.1128/JVI.07173-11.

4. Peiris J.S., Yuen K.Y., Osterhaus A.D., Stohr K. The severe acute respiratory syndrome // *N. Engl. J. Med.* 2003. V. 349. № 25. P. 2431–2441. DOI: 10.1056/NEJMra032498.

5. Health Protection Agency. A Case of novel coronavirus identified in the UK. 2013. URL: <http://hpa.org.uk/News/Centre/National/Press/Releases/2013/PressReleases/130211statementonlatestcoronaviruspatient> (дата обращения: 11.02.2013).

6. Zaki A.M., van Boheemen S., Bestebroer T.M. et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia // *N. Engl. J. Med.* 2012. V. 367. № 19. P. 1814–1820. doi: 10.1056/NEJMoa1211721.

7. Al Barrak A.M., Stephens G.M., Hewson R. et al. Recovery from severe novel coronavirus infection // *J. Saudi Med.* 2012. V. 33. № 12. P. 1265–1269.

8. Novel coronavirus – Saudi Arabia. URL: <http://www.promedmail.org/direct.php?id=20121123.1421664> (дата обращения: 15.09.2015).

9. Pollack M.P., Pringle C., Madoff L.C., Memish Z.A. Novel coronavirus - Middle East // *Int. J. Infect. Dis.* 2013. V. 17. № 2. P. 143–144. doi: 10.1016/j.ijid.2012.12.001.

10. Novel Coronavirus - Eastern Mediterranean (04): UK, person to person transmission suspected. URL: <http://www.promedmail.org/directphp?id=20130213.154153> (дата обращения: 11.03.2014).

11. WHO. Epidemiological update: additional confirmed cases of novel coronavirus including sixth case diagnosed in Europe. URL: http://www.who.int/csr/don/2013_03_27/en/index/html (дата обращения: 13.05.2014).

12. Khan G. A novel coronavirus capable of lethal human infections: an emerging picture // *J. Virol.* 2013. V. 10. P. 66. doi.org/10.1186/1743-422X-10-66.

13. Bermingham A. Severe respiratory illness caused by a novel coronavirus, in a patient transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012. URL: <http://www.curosurveillance.org/ViewArticle.aspx> (дата обращения: 11.02.2013).

14. European Center for Disease Control. Severe respiratory disease associated with MERS coronavirus. URL: [http://www.ecdr.europa.eu/publications/Publications/MERS update 14/02/2014](http://www.ecdr.europa.eu/publications/Publications/MERS%20update%2014/02/2014). (дата обращения: 23.02.2015).

15. Kossyvakis A., Tao H., Li X., Podka V. et al. Laboratory investigation and phylogenetic analysis of an imported MERS coronavirus case in Greece // *PLOS ONE.* 2015. V. 10. № 4. P. 1–6. doi: 10.1371/journal.pone.0125809.

16. Nishiura H., Endo A., Saitoh M., et al. Identifying determinants of the MERS outbreak in the Republic of Korea, 2015: a retrospective

epidemiological analysis // *BMJ Open.* 2016. V. 6. № 2. P. 1–10. doi: 10.1136/bmjopen-2015-009936.

17. Su S., Wong G., Liu Y., Gao G.F., Li S., Bi Y. MERS in South Korea and China: a potential outbreak threat? // *Lancet.* 2015. V. 385. № 9985. P. 2349–2350. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60859-5.

18. Vergara-Alert J., van den Brand J.M.A., Widagdo W. et al. Livestock susceptibility to infection with MERS coronavirus // *Emerg. Infect. Dis.* 2017. V. 23. № 2. P. 232–240. DOI: 10.3201/eid2302.161239.

19. World Health Organization. Middle East respiratory syndrome (MERS-Cov). URL: <http://www.int/emergencies/mers-cov/tn/>. (дата обращения: 12.06.2015).

20. World Health Organization Regional office for the Western Pacific. Middle East respiratory syndrome coronavirus – Republic of Korea. URL: http://www.who.int/csr/don/30_may_2015/mers-korea/en/ (дата обращения: 15.08.2014).

21. Pebody R., Chand M., Thomas H. et al. The United Kingdom public health response to an imported laboratory confirmed case of a novel coronavirus in September 2012 // *Euro Surveill.* 2012. V. 17. № 40. P. 20292.

22. Woo P.C., Lau S.K., Li K.S. et al. Genetic relatedness of the novel human group C betacoronavirus to Tylonycteris bat coronavirus HKU4 and Pipistrellus bat coronavirus HKU5 // *Emerg. Microb. Infect.* 2012. V. 1. P. 35.

23. Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q. et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China // *Science.* 2003. V. 302. P. 276–278. DOI:10.1126/science.1087139.

24. Tani H., Iha K., Shimojams M. Analysis of Lujo virus using pseudotype vesicular stomatitis virus // *J. Virol.* 2014. V. 88. № 13. P. 7317–7330. doi: 10.1128/JVI.00512-14.

25. Paweska J.T., Sewlall X.N., Ksiazek T.G. et al. Nosocomial outbreak of novel arenavirus infection, Southern Africa // *Emerging Inf. Dis.* 2009. V. 15. № 10. P. 1596–1602. doi: 10.3201/eid1510.090211.

26. Buchmeier M.J., de la Torre J.C., Peters C.J. Arenaviridae: viruses and their replication // *Fields Virology* / Ed. Knipe D.M., Howley P.M. Philadelphia. 2007. P. 1791–1827.

27. Sewlall N.H., Richards G., Duse A. et al. Clinical features and patient management of Lujo hemorrhagic fever // *PLoS Neglected Trop. Dis.* 2014. V. 8. № 11. P. 1–11. doi: 10.1371/journal.pntd.0003233.

28. Milazzo M.L., Maria N.B., Cajimat G.D. et al. Transmission of Guanarito and Pirital Viruses among Wild Rodents, Venezuela // *Emerg. Infect. Dis.* 2011. V. 17. P. 2209–2215. doi: 10.3201/eid1712.110393.

29. Tran K., Cimon E., Severn M., et al. Aerosol generating procedures and risk of transmission of acute respiratory infections to healthcare workers: a systematic review // *PLoS ONE.* 2012. V. 7. P. 1–8. doi: 10.1371/journal.pone.0035797.

30. Cui F., Cao H.F., Wang L. et al. Clinical and epidemiological study on severe fever with thrombocytopenia syndrome in Yiyuan country, Shandong province, China // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2013. V. 88. P. 510–512. doi: 10.4269/ajtmh.11-0760.

31. Denes S., Janbein J., Nair S., et al. Acute thrombocytopenia, leucopenia and multiorgan dysfunction: the first case of SFTS Bunyavirus outside China? // Hindawi Publ. Corp. Case Rep. Inf. Dis. 2011. P. 1-4. doi:10.1155/2011/204056.
32. Ling F., Zhang W., Wang L. et al. Epidemiologic feature of severe fever with thrombocytopenia syndrome in China, 2011-2012 // Clin. Infect. Dis. 2013. V. 56. № 11. P. 1682-1683. doi: 10.1093/cid/cit100.
33. Sun Y., Jin C., Zhan C. et al. Host cytokine storm in associated with disease severity of severe fever with thrombocytopenia syndrome // J. Infect. Dis. 2012. P. 1-10. doi 10.1093/infdis/jis452.
34. Yu X.J., Liang M.F., Zhang S.Y. et al. Fever with thrombocytopenia associated with novel Bunyavirus in China // New. Eng. J. Med. 2011. V. 364. P. 1523-1532. doi: 10.1056/NEJMoa1010095.
35. Lam T., Liu W., Bowden T.A. et al. Evolutionary and molecular analysis of the emergent severe fever with thrombocytopenia syndrome virus // Epidemics. 2013. V. 5. № 1. P. 1-10. doi: 10.1016/j.epidem.2012.09.002.
36. Xu B., Liu L., Huang X. et al. Metagenomic analysis of fever, thrombocytopenia and leucopenia syndrome (FTLS) in Henen province, China: Discovery of a new Bunyavirus // PLOS Patogens. 2011. V. 7. № 11. P. 1-10. doi: 10.1371/journal.ppat.1002369.
37. Zhang Y.Z., Zhou D.J., Xiong Y. et al. Hemorrhagic fever caused by a novel tick-borne Bunyavirus in Huaiyanshan, China // Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2011. V. 32. P. 209-220. PMID: 21457654.
38. Ding F., Guan X.H., Kang K. et al. Risk factors for bunyavirus-associated severe fever with thrombocytopenia syndrome, China // PLOS Neglected Trop. Dis. 2014. V. 8. № 10. P. 1-6. doi: 10.1371 / journal.pntd.0003267.
39. Kim K.H., Yi J., Kim G. et al. Severe fever with thrombocytopenia syndrome, South Korea, 2012 // Emerg. Infect. Dis. 2013. V. 19. P. 1892-1894. Doi: org/10.3201/eid1911.130792.
40. Xiong W., Feng Z., Matsui T., Foxwell A.R. Risk assessment of human infection with a novel bunyavirus in China // WPSAR. 2012. V. 3. № 4. P. 61-66. doi: 10.5365/WPSAR.2012.3.4.002.
41. Jiang X.L., Wang X.J., Li J.D. et al. Isolation, identification and characterization of severe fever with thrombocytopenia syndrome bunyavirus from ticks collected on the surface of domestic animals // J. Chin Virusol. 2012. V. 28. P. 252-257.
42. Zhang Y.Z., Zhou D.J., Qin X.C. et al. The ecology, genetic diversity, and phylogeny of Huaiyangshan virus in China // J. Virol. 2012. V. 86. P. 2864-2868. doi: 10.1128/JVI.06192-11.
43. Lee K.H., Medlock J.M., Heo S.T. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, and migratory birds // J. Bacteriol. Virol. 2013. V. 43. № 4. P. 235-243. doi.org/10.4167/jbv.2013.43.4.235.
44. Bao C.J., Guo X.L., Qi X. et al. A family cluster of infection by a newly recognized bunyavirus in eastern China, 2007: further evidence of person-to-person transmission // Clin. Infect. Dis. 2012. V. 53. № 12. P. 1208-1214. doi: 10.1093/cid / cir732.
45. Chen H., Hu K., Xiao J. A cluster of cases of human-to human transmission caused by severe fever with thrombocytopenia syndrome SFTS bunyavirus // Int. J. Infect Dis. 2013. V. 17. № 3. P. 206-208. doi: 10.1016/j.ijid.2012.11.006.
46. Gai Z., Liang M., Zhang Y.Z. et al. Person-to-person transmission of severe fever with thrombocytopenia syndrome bunyavirus through blood contact // Clin. Infect. Dis. 2012. V. 54. № 2. P. 249-252. doi: 10.1093/cid/cir776.
47. Liu Y., Li Q., Hu W., et al. Person-to-person transmission of SFTS virus // Vector Borne Zoonotic Dis. 2012. V. 12. № 2. P. 156-160. doi.org/10.1089/vbz.2011.0758.
48. Tang X., Wu W., Wang H. et al. Human-to human transmission caused by severe fever with thrombocytopenia syndrome bunyavirus through contact with infected blood // J. Infect Dis. 2013. V. 207. № 5. P. 736-739. doi: 10.1093/infdis/jis748.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, Российская Федерация, г. Сергиев Посад, ул. Октябрьская, д. 11

Борисевич Сергей Владимирович. Начальник Федерального государственного бюджетного учреждения «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р биол. наук, проф., чл.-корр. РАН, полковник медицинской службы.

Сизикова Татьяна Евгеньевна. Научный сотрудник, канд. биол. наук.

Сыромятникова Светлана Ивановна. Старший научный сотрудник, канд. биол. наук.

Пантюхов Владимир Борисович. Начальник научно-исследовательского управления, канд. мед. наук, полковник медицинской службы.

Лебедев Виталий Николаевич. Ведущий научный сотрудник, д-р биол. наук, проф.

Адрес для переписки: Борисевич Сергей Владимирович; 48cnii@mail.ru

HAZARDOUS AND EXTREMELY HAZARDOUS EMERGENT VIRAL INFECTIONS OF THE BEGINNING OF XXI CENTURY: RISE, SPREAD, HAZARD FOR PUBLIC HEALTH

S.V. Borisevich, T.E. Sizikova, S.I. Syromyatnikova, V.B. Pantukhov, V.N. Lebedev

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Oktyabrskaya Street 11, Sergiev Posad 141306, Russian Federation

The article is dedicated to the review of some hazardous and extremely hazardous emergent viral infections of the beginning of the XXI century – severe acute respiratory syndrome (SARS), Middle-East respiratory syndrome (MERS), Lujo hemorrhagic fever (LHF) and severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS). Special attention is paid to the time of reveal and identification of infectious agents, their taxonomic belonging, genome organization, possible ways of the appearance of strains, virulent for human beings, to endemic regions, probable ways of infection, reservoirs and transmitters of infection, morbidity and mortality. These infections should be of particular concern because of the severity of illnesses, caused by the above mentioned viruses, the absence of characteristic clinical signs that makes diagnostics more difficult, especially in non-endemic areas, the absence of means of specific prophylaxis and treatment and the difficulties in their identification. The analyze of this emergent viral infections reveals their potential threat for the Armed Forces and population of the Russian Federation in case of accidental or intentional delivery of causative agents of these diseases to the Russian territory.

Keywords: *Middle-East respiratory syndrome; virulence; Lujo hemorrhagic fever; morbidity; identification of agent; mortality; severe fever with thrombocytopenia syndrome; vectors; reservoir of infection; severe acute respiratory syndrome; emergent viral infection.*

For citation: : Borisevich S.V., Sizikova T.E., Syromyatnikova S.I., Pantukhov V.B., Lebedev V.N. *Hazardous and Extremely Hazardous Emergent Viral Infections of the Beginning of XXI Century: Rise, Spread, Hazard for Public Health // Journal of NBC Protection Corps. 2018. V. 2. № 2. P. 61–68.*

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

List see P. 67–68.

Authors

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Oktyabrskaya Street 11, Sergiev Posad 141306, Russian Federation

Borisevich S.V. Head of the Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Corresponding member of the Russian Academy of Sciences. Doctor of Biological Sciences, Professor.

Sizikova T. E. Researcher. Candidate of Biological Sciences.

Syromyatnikova S.I. Senior Researcher. Candidate of Biological Sciences.

Pantukhov V.B. Head of Scientific Research Department. Candidate of Medical Sciences.

Lebedev V. N. Leading Researcher. Doctor of Biological Sciences, Professor.

Adress: Borisevich Sergey Vladimirovich, 48cnii@mail.ru

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ОГНЕМЕТНО-ЗАЖИГАТЕЛЬНОГО ВООРУЖЕНИЯ ВОЙСК РАДИАЦИОННОЙ, ХИМИЧЕСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ВООРУЖЕННЫХ СИЛ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

М.А. Харитонов, М.А. Хоменко, А.О. Смирнов, К.В. Егоров

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт»
Министерства обороны Российской Федерации, 412918,
Российская Федерация, Саратовская обл., г. Вольск-18, ул. Краснознаменная, д. 1

Лекция предназначена для повышения квалификации и уровня знаний курсантов и выпускников военно-учебных заведений в области огнеметно-зажигательного вооружения войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации. В лекции рассмотрены два учебных вопроса:

- 1) существующая система огнеметно-зажигательного вооружения войск радиационной химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации;
- 2) современные взгляды на направления дальнейшего совершенствования образцов огнеметно-зажигательного вооружения.

Ключевые слова: боевая машина огнеметчиков; дымозажигательный состав; ЛПО-97; огнеметно-зажигательное вооружение; огнеметный комплекс; огнеметный тренажер; огнесмесь; ПДМ-А «Приз»; пехотный огнемет; пиротехнический состав; РПО; ТОС-1А; тяжелая огнеметная система.

Библиографическое описание: Харитонов М.А., Хоменко М.А., Смирнов А.О., Егоров К.В. Совершенствование огнеметно-зажигательного вооружения войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2. № 2. С. 70–77.

Анализ опыта ведения боевых действий в локальных войнах и контртеррористических операциях последнего времени выявил, что одним из основных мероприятий РХБ обеспечения является поражение противника огнеметно-зажигательным вооружением, применяемым огнеметными частями и подразделениями. В частности, для уничтожения противника в опорных пунктах, на плацдармах и других объектах, имеющих большое скопление живой силы, вооружения и военной техники, централизованно применялись подразделения тяжелых огнеметных систем. Огнеметные части и подразделения, как правило, придаются для усиления мото-

стрелковым соединениям и частям. Однако они могут применяться самостоятельно для решения специального вида задач.

1. Существующая система огнеметно-зажигательного вооружения войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации

Система огнеметно-зажигательного вооружения войск РХБ защиты ВС РФ, претерпев значительные изменения в начале 2000-х гг., в настоящее время может считаться сформированной и включает в себя (рисунок 1):

- средства массированного применения огнесмесей;



Рисунок 1 — Система огнеметно-зажигательного вооружения войск РХБ защиты ВС РФ

- транспортно-боевые средства;
- пехотные огнеметы, дополнительно подразделяющиеся на подгруппы реактивных пехотных огнеметов и пехотных огнеметов для городского боя (штурмовых).

В отдельные группы можно выделить учебно-тренировочные средства, а также огнесмеси и пиротехнические составы.

Средства массированного применения огнесмесей представлены тяжелой огнеметной системой ТОС-1А, которая принята на вооружение в 2003 г. в составе боевой, транспортно-заряжающей машин и 4 типов неуправляемых реактивных снарядов. ТОС-1А зарекомендовала себя как эффективное средство поражения одиночных целей типа занятого противником здания, сосредоточения огневых точек, колонны техники и площадных целей при ведении одиночной и залповой стрельбы на дальности от 600 до 6000 м за счет нанесения массированных огневых ударов высокой плотности, обеспечивая гарантированное уничтожение различных целей.

Для повышения площади и эффективности поражающего действия с 2005 г. разрабатывались НУРС с новым снаряжением, которые были приняты на вооружение в 2007 г.

На сегодняшний день прослеживается явно выраженная тенденция увеличения количества зарубежных стран, использующих реактивные системы залпового огня (РСЗО). В качестве ближайших аналогов по назначению и техническим характеристикам можно рассматривать следующие реактивные системы залпового огня (рисунок 2):

- 122- и 220-мм SR5(Китай);
- 227-мм HIMARS (США);
- 122-мм Т-122 «Sakarya» (Турция).

Основные ТТХ вышеперечисленных РСЗО представлены в таблице 1.

Следует отметить, что тяжелая огнеметная система ТОС-1А по своим основным характеристикам несколько не уступает зарубежным РСЗО.

Наряду с ТОС-1А, на сегодняшний день востребована и подсистема пехотных огнеметов, ко-



SR5(Кумай)



HIMARS (США)



Т-122 «Sakarya» (Турция)

Рисунок 2 — Реактивные системы залпового огня зарубежных стран

Таблица 1 — Основные ТТХ зарубежных реактивных систем залпового огня

Характеристика	Значение			
	SR5 (Китай)		HIMARS (США)	T-122 «Sakarya» (Турция)
Количество направляющих, шт.	40	12	6	40
Калибр, мм	122	220	227	122
Расчет БМ, чел.	3		3	3
Дальность стрельбы, м: максимальная минимальная	50000 10000	70000 25000	92000 30000	100000 40000
Максимальная скорость по шоссе, км/ч	85		85	75
Запас хода по шоссе, км	600		480	970
Масса в боевом положении, т	25		16	22,5

Таблица 2 — Основные ТТХ зарубежных гранатометов

Характеристика	Значение	
	SHIPON (Израиль)	MATADOR (Германия)
Калибр, мм	100	90
Масса образца, кг	9	10
Длина образца, мм	1000	1000
Дальность стрельбы, м: максимальная минимальная	1000 600	500 500

торая, в свою очередь, делится на реактивные пехотные огнеметы и огнеметы для городского боя (штурмовые). Подгруппа реактивных пехотных огнеметов представлена огнеметами РПО-А (З, Д) «Шмель» и РПО ПДМ-А «Приз».

Реактивный пехотный огнемет РПО-А в термобарическом снаряжении предназначен для поражения укрытой и открыто расположенной живой силы и легкобронированной техники противника, в зажигательном (РПО-З) и дымовом (РПО-Д) снаряжении – для создания очагов пожаров, ослепления огневых точек противника и создания непрерывных условий пребывания живой силы без средств защиты органов дыхания.

Огнемет РПО ПДМ-А «Приз» по праву может считаться представителем огнеметно-зажигатель-

ного вооружения нового поколения. Реализация в образце новых нетрадиционных технических решений позволила достичь высоких технических характеристик, в частности: увеличения дальности стрельбы, повышения тротилового эквивалента заряда, улучшения эргономических характеристик. Особо следует отметить, что при увеличении массы снаряжения выстрела по сравнению с РПО-А с 2 до 3 кг, общая масса огнемета снизилась на 3 кг.

В качестве зарубежных аналогов пехотных огнеметов представляется целесообразным рассматривать гранатометы SHIPON и MATADOR производства Израиля и Германии соответственно. Внешний вид гранатометов представлен на рисунке 3.

Основные ТТХ вышеперечисленных гранатометов представлены в таблице 2.



SHIPON (Израиль)



MATADOR (Германия)

Рисунок 3 — Ручные пехотные гранатометы зарубежных стран



AT-4 (Швеция)



SMAW-D (США)



XM-25 (США)

Рисунок 4 — Штурмовые гранатометы зарубежных стран

Следует отметить, что при практически одних и тех же предъявляемых к образцам требованиям, превосходство РПО ПДМ-А «Приз» как по боевым, так и по эксплуатационным показателям не вызывает сомнений.

К огнеметам городского боя (штурмовым) относятся: малогабаритный реактивный огнемет МРО-А (З, Д), легкий пехотный огнемет ЛПО-97 и струйный пехотный огнемет СПО.

Малогабаритный реактивный огнемет МРО-А (З, Д) предназначен для уничтожения огневых точек, поражения живой силы и легкобронированной техники, а также ослепления огневых точек и создания пожаров в условиях наличия административной, жилой и промышленной застройки. Габаритно-весовые характеристики МРО позволяют обеспечить мобильность и маневренность огнеметчиков при ведении боевых действий в населенных пунктах.

Отличительными от РПО свойствами МРО являются:

- значительное снижение интенсивности вредных воздействующих на огнеметчика факторов при стрельбе;
- возможность ведения стрельбы из помещений с внутренним объемом от 30 м³;
- улучшение эргономических характеристик;
- обеспечение возможности введения температурных поправок в установки стрельбы.

Легкий пехотный огнемет ЛПО-97 предназначен для уничтожения огневых точек, поражения живой силы и автомобильной техники.

Легкий пехотный огнемет ЛПО-97, в отличие от других огнеметов, обеспечивает возможность ве-

дения стрельбы в помещениях и лестничных проемах, а также является средством многообразного применения и имеет боекомплект из шестнадцати выстрелов, четыре из которых находятся в огнемете, а двенадцать – размещены на разгрузке.

Струйный пехотный огнемет СПО предназначен для уничтожения огневых точек, поражения живой силы, а также создания пожаров в условиях наличия административной, жилой и промышленной застройки.

Конструктивной особенностью огнемета является то, что огнесмесь, воспламененная в стволе от продуктов сгорания порохового вышибного заряда, доставляется к цели в открытом виде, в металлической армирующей сетке.

Помимо высокой поджигающей способности, выстрел огнемета обладает значительным деморализующим эффектом. Огнемет обеспечивает возможность ведения стрельбы в помещениях и лестничных проемах. При горении зажигательного состава в замкнутом объеме создаются условия, непереносимые для пребывания живой силы противника без средств защиты органов дыхания.

В качестве зарубежных аналогов штурмовых огнеметов представляется целесообразным рассматривать гранатометы AT-4 (Швеция), SMAW-D (США) и комплекс XM-25 (США) (рисунок 4), основные характеристики которых представлены в таблице 3.

Что касается огнеметов городского боя, то в данном случае, хотя в качестве аналогов и выбран перечень гранатометов зарубежного производства, обеспечивающих ведение стрельбы из

Таблица 3 — Основные ТТХ штурмовых зарубежных гранатометов

Характеристика	Значение		
	AT-4 (Швеция)	SMAW-D (США)	XM-25 (США)
Калибр, мм	84	83	25
Масса образца, кг	6	7,26	6,35
Масса снаряжения, кг	3	1-3	не более 0,1
Длина образца, мм	1000	813	737
Максимальная дальность стрельбы, м	500	500	1000

помещений ограниченного объема, проведение сравнительной оценки было бы не совсем корректным с технической точки зрения. Дело в том, что для решения задачи обеспечения условий безопасной стрельбы при создании отечественных и зарубежных образцов используются принципиально различные подходы.

В отечественной практике это, как правило, снижение интенсивности вредных воздействующих факторов за счет уменьшения калибра и массы вышибного заряда, а, следовательно, и дальности стрельбы. За рубежом – использование в конструкциях гранатометов различных технических решений типа энергопоглотителей. Опыт показывает, что решение, по которому идут наши разработчики, является наиболее оправданным.

Подсистема транспортно-боевых средств включает боевые машины огнемечиков БМО-1 и БМО-Т. В качестве положительных аспектов в конструктивном исполнении образцов можно отметить усиленную защиту боекомплекта огнеметов и улучшенные эргономические характеристики.

Имеющаяся в настоящее время номенклатура зажигательных составов достаточно разнообразна, причем характерно заметное преобладание металлизированных огнесмесей, обладающих наиболее высокими тепловыми характеристиками по сравнению с остальными типами огнесмесей. По основному поражающему действию огнесмеси можно разделить на термобарические, дымозажигательные и зажигательные.

Термобарические составы явились результатом разработки принципиально нового направления в создании огнесмесей, способных при срабатывании боеприпаса обеспечивать комплексное поражающее воздействие на цель высокотемпературного поля и поля избыточного давления. В состав ТБС входят компоненты, имеющие широкую отечественную сырьевую и промышленную базу, что создает предпосылки для их неограниченного производства. Сочетание поражающих факторов при действии термобарических боеприпасов позволяет значительно увеличить эффективность действия на цель. Отсутствие в ТБС взрывчатых веществ, низкая чувствительность к механическим воздействиям и детонационному импульсу, отсутствие перехода горения во взрыв и простая технология изготовления снаряжения позволили повысить эффективность применения и безопасность образцов вооружения. Вместе с тем, ТБС имеют ряд недостатков – недостаточно высокий уровень температуры и времени ее воздействия на цель.

Дымозажигательные составы используются в дымовых и дымозажигательных боеприпасах, обладают высокими аэрозолеобразующими свойствами и, в качестве дополнительного эффекта, поджигающей способностью. Использо-

вание дымовых и дымозажигательных боеприпасов для маскировки своих войск и ослепления огневых точек противника является одной из основных задач огнеметных подразделений.

Зажигательные составы используются для поражения живой силы, находящейся в укрытии, а также уничтожения материальных запасов противника, создания пожаров на местности и в сооружениях. При применении зажигательных составов, помимо поражающего действия самого состава на живую силу, необходимо учитывать сильное психологическое воздействие огня на противника.

2. Современные взгляды на направления дальнейшего совершенствования образцов огнеметно-зажигательного вооружения

Рассматривая направления дальнейшего совершенствования образцов огнеметно-зажигательного вооружения, следует учитывать анализ мировых тенденций развития образцов вооружения, который показывает, что на современном этапе происходит их стремительная модернизация за счет внедрения новейших технологий. Вместе с тем, внедрение новых образцов вооружения в войска требует качественной подготовки специалистов, способных умело использовать их на всех этапах жизненных циклов.

Для снижения затрат при сохранении качества самой подготовки различных специалистов все чаще используются тренажеры, моделирующие условия реального функционирования образцов.

Использование комплексного тренажера для подготовки экипажей системы ТОС-1А «Каунас» является значительным шагом в совершенствовании системы боевой подготовки огнеметных подразделений.

Использование тренажеров играет значительную роль и при подготовке специалистов огнеметных подразделений, оснащенных пехотными огнеметами. Для этих целей в настоящее время в таких подразделениях имеются мелкокалиберный огнеметный тренажер МОТ и приспособление для управления стрельбой из огнеметов ПУС.

Для обеспечения выполнения современных требований, предъявляемых к тренажерным средствам, по заказу УНВ РХБЗ был разработан тренажер «Янычар», один комплект которого представляет собой электронный тир, на экране которого имитируется фоно-целевая обстановка со звуковым сопровождением, два макета огнемета, имеющих реальные массогабаритные характеристики, рабочее место для контроля стрельбы и формирования обстановки для каждого огнемечика. При размещении нескольких комплектов в зале оборудуется место руководителя занятий, с которого он может контролировать ход всего за-

нения в целом и действия каждого экипажа или огнеметчика.

Использование тренажеров «Каунас» и «Янычар» позволяет подготовить личный состав огнеметных подразделений, снизив расход выстрелов НУРС и огнеметов, а также отработать приемы стрельбы в составе нескольких боевых машин, групп огнеметчиков или огнеметного отделения.

Во исполнение указаний Президента Российской Федерации и Правительства РФ о необходимости полного постепенного обновления вооружения и военной специальной техники в Министерстве обороны РФ Управлением начальника войск РХБ защиты ВС РФ с 2013 г. уделяется самое пристальное внимание развитию номенклатуры вооружения и средств РХБ защиты, в том числе огнеметно-зажигательному как ее составной части.

В настоящее время ведется активная работа УНВ РХБЗ ВС РФ совместно с научно-исследовательскими и испытательными организациями войск РХБ защиты ВС РФ и предприятиями оборонно-промышленного комплекса по модернизации системы ОЗВ.

В части совершенствования подсистемы массированного применения огнесмесей, на наш взгляд, целесообразно разработать перспективную тяжелую огнеметную систему ТОС-2, которую необходимо оснастить высокоэффективной автоматизированной системой управления огнем, современными средствами навигации, ориентирования, связи и управления.

В отличие от существующего образца, боевую машину системы ТОС-2 предлагается разместить на колесном шасси и установить автономную систему заряжания, что позволит исключить из состава тяжелых огнеметных подразделений транспортно-заряжающие машины и обеспечить сокращение времени на выполнение мероприятий подготовки стрельбы и управления огнем. При этом будет возможно выполнение большей части огневых задач с закрытых огневых позиций, что позволит увеличить дальность стрельбы и обеспечит повышение живучести боевой машины.

Одновременно с созданием тяжелой огнеметной системы ТОС-2, целесообразно разрабатывать и перспективные боеприпасы. В качестве одного из таких боеприпасов предлагается многоблочный термобарический НУРС с многорежимным дистанционным взрывателем, который должен обеспечивать возможность стрельбы как из существующей ТОС, так и из ТОС-2. Разработка такого боеприпаса обеспечит прирост эффективности применения при поражении целей.

Кроме того, предлагается разработать касетный термобарический НУРС с увеличенной дальностью стрельбы и повышенной приведенной зоной поражения целей за счет касетного

конструктивного исполнения и использования технологии многоточечной системы инициирования взрыва, обеспечивающей одновременный подрыв боевых элементов.

Следует отметить, что термобарические боеприпасы, обладая высоким поражающим действием по открыто расположенным целям, имеют некоторые ограничения по поражению живой силы, укрытой в фортификационных сооружениях. На наш взгляд, повышение эффективности поражения таких целей возможно за счет разработки для тяжелой огнеметной системы боеприпаса с объемно-детонирующим составом. Отличительной особенностью таких составов является способность на стадии формирования топливовоздушного облака на цели проникать в негерметичные объекты и образовываться по профилю рельефа местности. Попадая в замкнутые объемы, топливовоздушные смеси оказываются в более благоприятных условиях для развития детонационного процесса и производят разрушение несущих конструкций этих объектов. Возрастание длительности фазы сжатия в ударной волне обеспечивает, в частности, барическое поражение живой силы на дне укрытий (эффект «затекания»).

Для повышения эффективности аэрозольного противодействия в перспективе целесообразно разработать два касетных НУРС в зажигательном и дымовом снаряжении с увеличенной дальностью стрельбы, что обеспечит повышение эффективности создания пожаров на местности и непереносимых условий на площади групповых объектов и постановки ослепляющих аэрозольных завес за счет оптимального распределения касетных элементов на площади цели, вскрытия головной части на заданной высоте и удалении от цели с учетом использования электронного дистанционного взрывателя.

Наряду с модернизацией ТОС, необходимо проводить модернизацию подсистемы пехотных огнеметов в направлении повышения эксплуатационных характеристик, а также создания разведывательно-прицельного комплекса, использование которого значительно повысит точность стрельбы и обеспечит ведение огня в любое время суток. Огнеметный комплекс, на наш взгляд, должен быть оснащен универсальным оптико-электронным прибором управления огнем и включать в себя:

- комплект транспортно-пусковых контейнеров одноразового применения с боевыми частями различного назначения;
- многоспектральный разведывательно-прицельный комплекс.

Предполагается, что огнеметный комплекс по назначению должен обеспечивать:

- уничтожение открытой и укрытой живой силы, укрепленных огневых точек, боевой лег-

кобронированной, транспортной и специальной техники;

- создание проломов в стенах зданий и сооружений;
- создание очагов пожаров в различных строениях, сооружениях и на местности;
- создание непереносимых условий для живой силы противника, находящейся без средств индивидуальной защиты органов дыхания.

Параллельно с разработкой огнеметного комплекса предприятиями промышленности совместно со специалистами научно-исследовательских учреждений Министерства обороны ведутся работы по созданию перспективных составов термобарического и зажигательного действия, обладающих повышенными энергетическими характеристиками с возможностью пробивного (запреградного) и зажигательного действия.

Совершенствование образцов группы транспортно-боевых средств позволит обеспечить эффективную огневую поддержку различным подразделениям во всех видах боевых действий, а также постановку ослепляющих аэрозольных завес стрельбой из пусковой установки с открытых и закрытых огневых позиций. Изменение тактики ведения боевых действий и многоуровневая система защиты БМО обеспечит повышение ее живучести. При этом предлагается использовать шасси с передним расположением двигателя и модульным принципом конструкции, что обеспечит эргономичное размещение и выход из машины десанта огнеметчиков, а также позволит повысить возимый боезапас огнеметов.

Кроме того, БМО должна обеспечивать возможность транспортировки и управления перспективными огнеметными роботизированными комплексами на базе универсальных роботизированных платформ легкого и среднего класса,

а также разведывательно-ударного воздушного робототехнического комплекса для разведки и поражения целей штатными и перспективными пехотными огнеметами.

Учитывая все направления развития, систему огнеметно-зажигательного вооружения, включающую в себя перспективные образцы, на данный момент можно представить:

- средства массированного применения огнесмесей (ТОС-2, перспективные НУРС);
- транспортно-боевые средства (БМО-2);
- пехотные огнеметы (универсальный огнеметный комплекс);
- учебно-тренировочные средства (тренажер обучения экипажа ТОС-2, тренажер обучения огнеметчиков);
- огнесмеси и пиротехнические составы с повышенными боевыми и эксплуатационными характеристиками.

Таким образом, существующая система огнеметно-зажигательного вооружения является неотъемлемой частью системы огневого поражения противника. Реализация основных направлений развития огнеметно-зажигательного вооружения, в том числе совершенствование штатных и поиск новых рецептур огнесмесей, являющихся источником тепловой энергии, необходимой для поражения цели, позволит повысить боевую эффективность огнеметных подразделений и органично вписаться в перспективную разведывательно-огневую систему Сухопутных Войск.

Широкая унификация и модульный принцип построения основных элементов перспективной системы огнеметно-зажигательного вооружения позволят значительно сократить расходы на этапах разработки и производства, а в дальнейшем провести их низкочастотную модернизацию путем замены морально устаревших элементов на элементы нового поколения.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт» Министерства обороны Российской Федерации, 412918, Российская Федерация, Саратовская обл., г. Вольск-18, д. 1.

Харитонов Максим Александрович. Научный сотрудник.

Хоменко Максим Александрович. Заместитель начальника отдела – начальник группы, канд. тех. наук, доцент.

Смирнов Александр Олегович. Старший научный сотрудник, канд. тех. наук.

Егоров Константин Викторович. Старший научный сотрудник, канд. тех. наук, доцент.

Адрес для переписки: Хоменко Максим Александрович; 27nc_1@mail.ru

IMPROVEMENT OF FLAMETHROWER-INCENDIARY WEAPONS OF THE TROOPS OF RADIOLOGICAL, CHEMICAL AND BIOLOGICAL PROTECTION OF THE RUSSIAN FEDERATION ARMED FORCES

M.A. Kharitonov, M.A. Khomenko, A.O. Smirnov, K.V. Egorov

Federal State Budgetary Establishment «33 Central Scientific Research Test Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Krasnoznamennaya Street 1, Volsk-18, Saratov Region 412918, Russian Federation

The lecture is aimed at the improvement of the professional level of military personnel in the sphere of flamethrower-incendiary weapons of the Troops of Radiological, Chemical and Biological Protection of the Armed Forces of the Russian Federation. It is dedicated to two issues:

- 1). The existing system of flamethrower-incendiary weapons of the Troops of Radiological, Chemical and Biological Protection of the Armed Forces of the Russian Federation.
- 2). Contemporary views on the directions for further improvement of flamethrower-incendiary weapons.

Keywords: *flamethrower combat vehicle; smoke and incendiary composition; infantry flamethrower LPO-97; flamethrower-incendiary weapons; flamethrower system; flamethrower simulator; incendiary composition; PMD «Prize»; infantry flamethrower; pyrotechnic compound; infantry rocket flamethrower; heavy flamethrower system TOS-1A; heavy flamethrower system.*

For citation: *Kharitonov M.A., Khomenko M.A., Smirnov A.O., Egorov K.V. Improvement of Flamethrower-Incendiary Weapons of the Troops of Radiological, Chemical and Biological Protection of the Russian Federation Armed Forces // Journal of NBC Protection Corps. 2018. V. 2. № 2. P. 70–77.*

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

Authors

Federal State Budgetary Establishment «33 Central Scientific Research Test Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Krasnoznamennaya Street 1, Volsk-18, Saratov Region 412918, Russian Federation.

Kharitonov M.A. Researcher.

Khomenko M.A. Deputy Head of the Department - Head of the Group. Candidate of Technical Sciences, Associate Professor.

Smirnov A.O. Senior Researcher. Candidate of Technical Sciences.

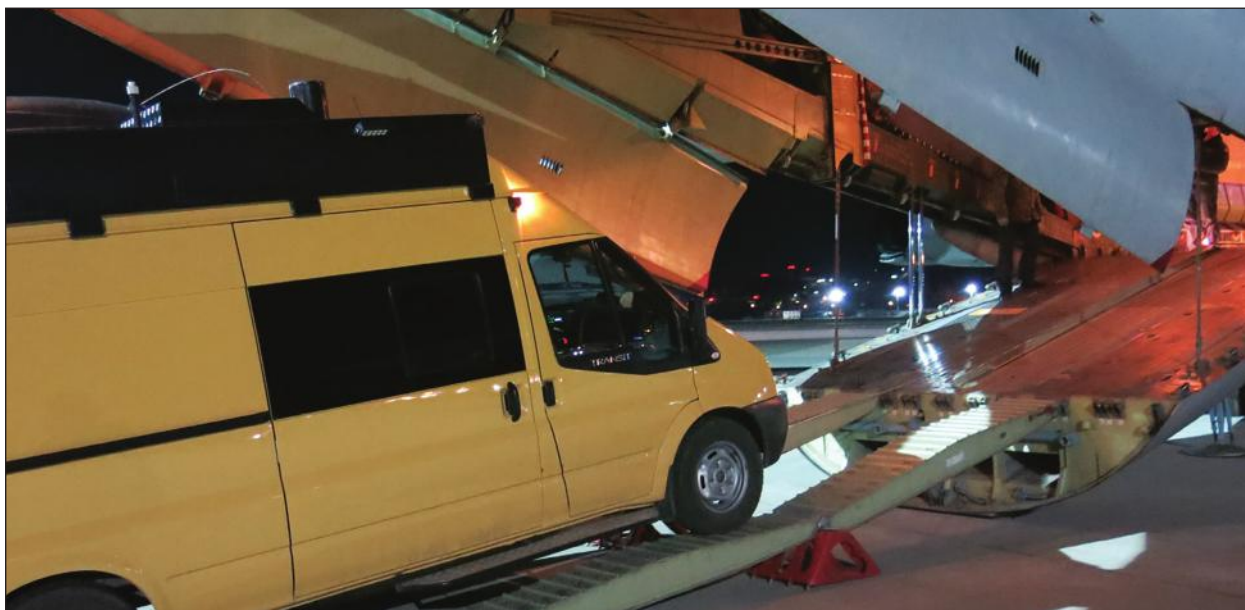
Egorov K.V. Senior Researcher. Candidate of Technical Sciences, Associate Professor.

Adress: Khomenko Maxim Alexandrovich; 27nc_1@mil.ru

Войска радиационной, химической и биологической защиты на конгрессе национального диалога Сирии

Мир народу Сирии – под таким лозунгом в Сочи 30 января 2018 г. состоялся конгресс национального диалога Сирии. На мероприятия были приглашены более 1600 делегатов, представлявших все слои сирийского общества, а также иностранные наблюдатели и журналисты. Как и ожидалось, были приняты итоговые документы и избраны постоянно работающие комитеты, в том

числе по реформе конституции. Главным итогом конгресса сирийского национального диалога стало создание специальной конституционной комиссии, которая будет работать в Женеве. Кроме того, участники встречи приняли заявление с принципами будущего устройства Сирии, которые предполагают уважение суверенитета, территориальной целостности и независимости САР, а



Прибытие мобильных комплексов на аэродром выгрузки г. Сочи



Подготовка метеокомплекта к работе

также обеспечение прав всех этнических и религиозных групп.

Основные события форума развернулись на площадке главного медиацентра. Здесь же совместно с сотрудниками полиции, МЧС и ФСБ России, выполняли задачу по мониторингу РХБ обстановки подразделения войск радиационной, химической и биологической защиты. В период подготовки и проведения форума силами взвода РХБ защиты, роты РХБ защиты, батальона РХБ защиты (чрезвычайного реагирования) был выполнен комплекс мероприятий по РХБ разведке объектов государственной охраны.

С периодичностью в два часа проводилась РХБ разведка маршрута следования делегаций от аэропорта города Сочи до главного медиацентра, на территории которого был развернут пост РХБ наблюдения.

Ежедневно проводилась пешая РХБ разведка главного медиацентра, конгресс-центра, гостиницы и прилегающих к ним территорий общей площадью до 10 км² с использованием новейших приборов РХБ разведки, позволяющих осуществлять идентификацию радионуклидов и определение

веществ в закрытых емкостях. В ходе выполнения задач было обнаружено порядка 30 емкостей с неизвестным содержимым, при анализе которых отравляющих и представляющих вред здоровью человека веществ не обнаружено.

Радиационный фон в зоне ответственности регистрировался в пределах естественного.

По отдельным указаниям проводилась РХБ разведка маршрутов следования делегаций – до 150 км.

В самое ближайшее время войскам радиационной, химической и биологической защиты предстоит ответственная задача по обеспечению безопасности предстоящего летом 2018 г. Чемпионата мира по футболу.

Заместитель командира в/ч 29753 по работе с личным составом, подполковник
Соколов А.В.

Командир роты РХБ защиты батальона РХБ защиты (чрезвычайного реагирования) в/ч 29753, капитан
Гаврильчев А.Э.



Подготовка мобильного комплекса РХБ разведки к выполнению задач по предназначению

16 мая 2018 года – 75 лет со дня образования войсковой части 19893

16 мая 1943 г. из нескольких рот фугасных огнеметов в пригороде Сталинграда – поселке Сакко и Ванцетти – был сформирован 4-й отдельный моторизованный противотанковый огнеметный батальон. Через некоторое время за образцовое выполнение боевых задач при форсировании реки Днестр, овладении городом и важным железнодорожным узлом Бельцы, а также за выход на государственную границу СССР и проявленные при этом доблесть и мужество батальон был награжден орденом Боевого Красного Знамени. За освобождение Трансильвании ему приказом Верховного Главнокомандующего было присвоено наименование «Трансильванский», а за овладение городом Зволнен и проявленное при этом мужество он был награжден орденом Александра Невского.

В 1970 г. на основе 4-го отдельного моторизованного противотанкового огнеметного батальона и был сформирован 282-й учебный Трансильванский Краснознаменный, ордена Александра Невского центр войск РХБ защиты.

Учебный центр готовит специалистов сразу по девяти специальностям – от командиров огнеметных отделений до начальников хранилищ средств защиты и приборов дозиметрического и химического контроля. Для проведения полно-

ценных занятий в центр поступает самая современная техника. И это не случайно – ведь здесь готовят специалистов для всех родов войск и видов Вооруженных Сил. Каждые полгода отсюда выпускается около 600 человек.

Подготовка младших специалистов войск РХБ защиты, осуществляемая в учебном центре, включает в себя как теоретические, так и практические занятия. Сначала обучение проводится не только с помощью традиционных форм и методов (лекции и т.д.), но и с использованием компьютеров. Обучаемый при этом имеет возможность ознакомиться с внешним видом и тактико-техническими характеристиками различных видов техники и вооружения, а также с рецептурами и образцами обрабатываемых материалов и покрытий. Здесь же он получает возможность изучить опыт работы на радиационно-опасных авариях, например, при ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС в 1986 г.

При подготовке грамотного специалиста войск РХБ защиты необходимо учитывать и то, что специальности, получаемые здесь, очень наукоемкие, так что без знаний основ фундаментальных наук – физики, химии, математики (в частности, интегральных и



Обнаружение в воздухе паров отравляющих веществ при помощи автоматического газосигнализатора ГСА-4



Защитные комплекты ФЗО-Р, ОЗК-Ф, КЗВП и ОЗК



Разведывательная химическая машина РХМ-4



Комплект метеорологический АМК-П



Специальная обработка РХМ-4 тепловой машиной ТМС-65У



Постановка аэрозольных завес дымовой машиной ТДА-3



Робот, дистанционно управляемый, радиационной и химической разведки РД-РХР

дифференциальных исчислений) здесь не обойтись. Поэтому требования, предъявляемые к курсантам в учебном центре, очень и очень серьезные.

Кроме хороших базовых знаний, военнослужащие, обучающиеся здесь, должны быть и физически подготовленными, ведь им предстоит работать, не снимая средств защиты, по шесть часов кряду. А если взять, к примеру, огнеметчиков, то они, кроме обычного снаряжения мотострелка, должны носить с собой два огнемета весом по 11 кг каждый. В сумме получается около полуцентнера. Выдержит такую нагрузку только тренированный воин. Тем более, что со всем этим еще и бегать, и ползать надо...

В данный момент большой упор в обучении делается на военнослужащих по контракту, кото-

рые прибывают в учебный центр на трехмесячную подготовку по специальности со всех уголков России. Обучение производится на новейших образцах военной техники, принятых на вооружение в 2016–2017 гг.

Символично, что в год столетия войск РХБ защиты войсковой части 19893 исполняется 75 лет. Командование части от всей души поздравляет личный состав с этой знаменательной датой.

Командир 2 учебного взвода
учебной роты сержантов, капитан
Ланюгов С.В.

Пятая Спартакиада войск РХБ защиты

В период с 12 по 17 февраля 2018 г. в городе Костроме на базе Военной академии радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко проходила пятая Спартакиада войск РХБ защиты Вооруженных Сил Российской Федерации. В соревнованиях приняли участие двадцать команд. Спортсмены, участвовавшие в соревнованиях, представляли Центральный, Западный, Восточный и Южный военные округа, а также Северный флот. В нелегкой борьбе состязались спортсмены высокого профессионального уровня – 2 заслуженных мастера спорта России, 2 мастера спорта России международного класса, 20 мастеров спорта России, 22 кандидата в мастера спорта России, 15 первоуровневых.

С каждым годом уровень спортивной подготовленности воинов-спортсменов растет, так что победить на соревнованиях такого уровня становится все сложнее. Настойчивость, целеустремленность и волевой дух каждого участника двигают всю команду по сетке занятых мест

все выше и выше, несомненно, приближая ее к победе.

В Спартакиаду были включены командирские старты, состав команды – три офицера трех возрастных групп. В содержание программы соревнований вошли стрельба из штатного оружия, плавание на 100 метров (вольный стиль), подтягивание на перекладине, лыжная гонка на 5 км.

Уровень результативности по сравнению с прошлым годом значительно вырос. В нелегком сражении тройку лидеров в общем зачете командирских стартов определили: III место – в/ч 62563, II место – в/ч 34081, I место – ВА РХБЗ.

Другие виды Спартакиады: стрельба из ПМ, III место – в/ч 11262, II место – в/ч 65363, I место – ВА РХБЗ.

гиревой спорт (толчок двух гирь по длинному циклу), III место – в/ч 65363, II место – в/ч 62563, I место – в/ч 34081.

военный биатлон, III место – в/ч 07059, II место – в/ч 34081, I место – ВА РХБЗ.





ориентирование на маркированной трассе, III место – в/ч 12086, II место – в/ч 18664, I место – ВА РХБЗ.

лыжная гонка (эстафета 4 x 5 км), III место – ВА РХБЗ, II место – в/ч 12086, I место – в/ч 34081.

бег в военной форме 100 м, III место – в/ч 62563, II место – в/ч 34081, I место – ВА РХБЗ.

перетягивание каната, III место – в/ч 71432, II место – в/ч 29753, I место – в/ч 55121.

На протяжении недели наблюдалась напряженная борьба лучших спортсменов войск РХБ защиты. Все участники достойно прошли испытания.

Примером высокого спортивного мастерства стала сборная команда Военной академии радиационной, химической и биологической

защиты имени Маршала Советского союза С.К. Тимошенко, занявшая высшую ступень спортивного пьедестала в третий раз подряд. Начальник военной академии – генерал-майор И.М. Емельянов. Второе место заняла команда в/ч 34081. И заключила тройку лидеров команда в/ч 07059.

Участники соревнований основательно подошли к подготовке к данному спортивному мероприятию, заранее изучив силы и возможности своих соперников по итогам прошлых выступлений.

Всем известный Олимпийский лозунг «Быстрее, выше, сильнее» помог самым целеустремленным участникам Спартакиады завоевать почетные степени спортивного пьедестала.

Об авторах

Федеральное государственное казенное военное образовательное учреждение высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» Министерства обороны Российской Федерации. 156015, Российская Федерация, г. Кострома, ул. Горького, д. 16.

Зацепин В.С. Старший преподаватель кафедры физической подготовки и спорта, подполковник.

Адрес для переписки: varhzbz@mil.ru

Военно-историческая конференция: «Войскам РХБ защиты – 100 лет. Военная академия РХБ защиты в разрезе истории развития войск»

17 мая 2018 г. в Военной академии радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко в г. Костроме состоялась военно-историческая конференция: «Войскам РХБ защиты – 100 лет. Военная академия РХБ защиты в разрезе истории развития войск».

Конференция проходила в формате пленарного заседания и заседаний по трем секциям, сформированным по циклам дисциплин подготовки слушателей и курсантов в академии.

Пленарное заседание было посвящено общим вопросам истории войск и академии, а также практики деятельности войск РХБЗ.

С приветственным словом к собравшимся и с докладом «Войска радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Россий-

ской Федерации как важнейшее условие сдерживания угроз и провокаций на современном этапе развития России» выступил начальник войск РХБ защиты ВС РФ генерал-майор И.А. Кириллов.

Председатель совета ветеранов войск РХБ защиты ВС РФ генерал-майор Е.Г. Старков напомнил собравшимся о предыстории развития химических войск в 1915-1917 гг.

Помощник начальника войск РХБ защиты ВС РФ полковник О.В. Болтыков проинформировал о ходе подготовки к центральным мероприятиям празднования 100-летия войск.

Проблемам привлечения военспецов на службу в РККА был посвящен доклад м.н.с. 27 НЦ МО РФ В.В. Попова.

Участию войск РХБ защиты ВС РФ в уничтожении запасов химического оружия было посвяще-





но выступление консультанта ФУ БХУХО профессора В.Д. Назарова.

С докладом на тему «Трансформация идеалов, нравственных ценностей офицера (химика, войск РХБ защиты) и пути сохранения их преемственности в современных условиях» выступил профессор кафедры экономических дисциплин И.И. Никонов.

С обзорным докладом «Военно-химическая программа 1918 г. – 1991 г.» выступил начальник кафедры ОВ иностранных армий и токсикологии полковник А.А. Цветков.

Далее конференция продолжила свою работу по секциям.

Так, участники профессионального цикла (тактических, тактико-специальных и общевойсковых дисциплин) заслушали доклады на темы: потеря личного состава и мирного населения в ВОВ; применения маскирующих дымов при обороне Севастополя в 1942 г.; истории создания и современного состояния автоматизированных систем управления войсками; сравнительного анализа современного состояния автоматизированных систем управления войсками тактического звена ВС РФ и США; истории кафедры технического обеспечения РХБ защиты.

В ходе работы секции профессионального и естественно-научного цикла и математики были заслушаны доклады: история образования офицера-химика; внедрение разработок академии в практику войск; история изучения этиологии и эпидемиологии геморрагической лихорадки с почечным синдромом; история развития направления научной школы кафедры «Взаимосвязь между строением, реакционной способностью и физиологической активностью вещества»; бициклические соединения как направление исследований с 1970-х гг. и по настоящее время; история развития ог-

нетно-зажигательного вооружения ближнего действия; роль математики в становлении современного офицера войск РХБ защиты; руководители системы противоэпидемической защиты; история создания, развития и применения оружия нелетального действия на основе раздражающих веществ; развитие средств индивидуальной защиты кожи; жидкие хемоконденсирующие аэрозолеобразующие составы.

На секции гуманитарного, социального и экономического цикла и физической подготовки обсуждали историю формирования традиций в образовании офицера-химика, формирование морально-нравственных качеств у курсантов войск РХБ защиты в современных условиях, историю развития физподготовки в ВА РХБЗ и роль иностранного языка в становлении современного офицера войск РХБ защиты ВС РФ.

В работе конференции принимали участие руководящий и научно-педагогический состав академии, представители сторонних ВУЗов Министерства обороны Российской Федерации, научно-исследовательских организаций войск РХБ защиты ВС РФ, переменный состав (докторанты, адъюнкты, слушатели, курсанты, операторы научной роты).

Для участников конференции была развернута выставка, посвященная истории войск РХБ защиты.

В период работы конференции по инициативе Союза ветеранов войск РХБ защиты на одном из зданий академии была открыта памятная доска в честь генерал-майора Николая Тимофеевича Волкова, который 17 лет – с 1989 по 2006 гг. являлся начальником Костромского высшего военного командного училища химической защиты. Право открытия мемориальной доски было предоставлено курсанту 2 курса Алексею Афанасьеву и юнармейцу Костромского регионального отделения «Юнармии» Егору Евстигнееву.

Под Курском прошли масштабные учения войск радиационной, химической и биологической защиты



В период с 22 по 25 мая 2018 г. на полигоне в Курской области военные специалисты войск радиационной, химической и биологической защиты (далее – РХБ защиты) Вооруженных Сил Российской Федерации и мотострелковые подразделения общевойсковой армии Западного военного округа (далее – ЗВО) в ходе учебно-методического сбора провели учение по отражению атаки «противника» в условиях химического заражения местности.

Всего на первом этапе практических действий в рамках учебно-методического сбора войск РХБ защиты Вооруженных Сил Российской Федерации

было привлечено свыше 300 военнослужащих ЗВО, а также более 30 единиц вооружения, военной и специальной техники.

«На практической части сбора мы обобщили полученный сирийский опыт ведения боевых действий, – заявил начальник войск РХБ защиты Вооруженных Сил РФ генерал-майор Игорь Анатольевич Кириллов, – показали выработанные подходы по РХБ защите войск в условиях современного вооруженного конфликта, а также исследовали передовой опыт в подготовке специалистов войск РХБ защиты для организа-





ции обучения общевойсковых подразделений при применении противником химического оружия. Данный опыт позволяет подготовить личный состав подразделений к любым ситуациям в современных условиях, что способствует их мобильности и живучести на поле боя». При

выполнении задач по дегазации и специальной обработке были использованы авторазливочные станции APC-14KM, установки специальной обработки УССО, а также специальные тепловые машины ТМС-65У, личный состав был экипирован в современные специальные костюмы «Нерехта».



Выставка к 100-летию войск РХБ защиты ВС РФ в Центральном музее ВС РФ

16 мая 2018 г. в Центральном музее Вооруженных Сил Российской Федерации состоялось военно-патриотическое мероприятие для воспитанников кадетских классов московских школ и представителей общественного движения «Юнармия», приуроченное к 100-летию образования войск радиационной, химической и биологической защиты. В общей сложности более ста человек в сопровождении преподавателей пришли на урок-экскурсию, посвященную юбилею войск.

Школьникам и кадетам показали развернутую в музейных залах выставку, специально посвященную истории войск, рассказали об их славной военной и послевоенной истории, о том, как несли и несут свою службу войска РХБ защиты ВС РФ в настоящее время. Экскурсанты познакомились с современным состоянием войск РХБ защиты и перспективами их развития, с эволюцией средств защиты, дымовых и аэрозолеобразующих средств и огнеметно-зажигательного вооружения.

Ребятам представилась уникальная возможность познакомиться с технологиями, которые применялись химической службой и химическими войсками еще во времена Первой мировой и Великой Отечественной войн. Среди выставочных экспонатов – раритетные экземпляры снаряжения и средств защиты времен первой половины XX в. и вплоть до современных образцов вооружения войск РХБ защиты. Особый интерес у ребят вызвал муляж реактивного пехотного огнемета повышенной дальности. Пояснения давал начальник группы 27 НЦ МО РФ Валерий Попов.

Перед юными слушателями и гостями выступили помощник начальника войск РХБ защиты ВС РФ полковник Олег Болтыков, вице-президент Союза ветеранов войск РХБ защиты М.П. Козубай, участник первой чеченской войны подполковник запаса Г.В. Цацорин, преподаватель Военной академии радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко подполковник К.Н. Аккузин, внуч-

ка командира огнеметного отделения 26-ой отдельной роты фугасных огнеметов сержанта И.М. Терехова из села Кривец Добровского района Липецкой области О.М. Москалева, представители администрации Костромской области.

Особенно запомнилось ребятам общение с Героем Российской Федерации Геннадием Цацориным, который рассказал о героизме и мужестве офицеров и солдат подразделений РХБ защиты в ходе борьбы с террористическими группировками в Чеченской Республике.

Зарождение химической службы произошло еще во времена Первой мировой войны, когда отравляющие газы и огнеметы широко применялись на всех фронтах, рассказал учащимся научный сотрудник 27 НЦ МО РФ Владимир Малеев. В Рабоче-Крестьянской Красной Армии химическая служба официально была создана 13 ноября 1918 г. приказом № 220 Реввоенсовета Республики. Уже к концу 1920-х гг. специальные химические подразделения были сформированы во всех стрелковых и кавалерийских дивизиях и бригадах.

В конце урока-экскурсии ребятам показали фильмы о подвиге 26-й отдельной роты фугасных огнеметов 32-й Саратовской Краснознаменной стрелковой дивизии в районе Дютково и Акулово в ходе битвы за Москву в декабре 1941 г., а также о Военной академии войск РХБ защиты.

В конце мероприятия перед собравшимися выступил вокально-хореографический ансамбль «Курсантское братство» Военного университета МО РФ.

О.Ф. Шахбазова, представитель сенатора, члена Комитета Совета Федерации по обороне и безопасности М.В. Козлова, поблагодарила Управление начальника войск РХБ защиты ВС РФ за большую и очень важную работу по патриотическому воспитанию подрастающего поколения, приобщению его к духовно-нравственным ценностям российского общества и сохранению исторической памяти о героическом прошлом.



ЛУКИН ЕВГЕНИЙ ПАВЛОВИЧ (к 90-летию со дня рождения)

17 мая 2018 г. исполнилось 90 лет ветерану Вооруженных Сил Российской Федерации, действительному члену Академии военных наук, академику Академии медико-технических наук, доктору медицинских наук, профессору, полковнику медицинской службы в отставке Евгению Павловичу Лукину.

Е.П. Лукин родился в Курске. В 1959 г. с отличием окончил лечебный факультет второго Московского государственного медицинского института им. Пирогова и был направлен в Научно-исследовательский институт МЗ СССР. После его переподчинения Министерству обороны был призван в ряды Советской Армии. В 1954–1986 гг. последовательно занимал должности от младшего научного сотрудника до заместителя начальника 41 НИИ Министерства обороны СССР.

Сформировавшись под влиянием выдающихся ученых и организаторов науки П.Ф.Здоровского, А.Г.Кравченко, В.Д.Неустроева, А.А. Воробьева, Евгений Павлович среди научной общественности страны известен как талантливый исследователь и крупный ученый в области инфекционной патологии и иммунологии. В содружестве с коллегами по службе и работе он решил ряд проблем по созданию защитных иммунобиологических препаратов против ботулизма, эпидемического сыпного тифа и раневых инфекций. Особо следует отметить создание им, совместно с Г.М. Селиваненко, на основе аттенуированного штамма вакцины против венесуэльского энцефаломиелиита лошадей. Разработанные препараты защищены патентом Российской Федерации, шестью авторскими свидетельствами на изобретение и внедрены в практику.



Среди публикаций 1993–2017 гг. следует отметить работы по таксономии возбудителей риккетсиозов, а также руководство для врачей «Риккетсиозы человека» (совместно с К.М. Лобановым и Ю.В. Лобзиным) и «Руководство по инфекционным болезням», получившим международное признание. Он автор и соавтор более 340 научных работ, семи монографий, четырех руководств, двух изданий учебника «Медицинская микробиология, вирусология и иммунология» (2006, 2015 гг.).

После увольнения из рядов Вооруженных Сил Е.П. Лукин продолжает научно-исследовательскую

работу в ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России в должности ведущего научного сотрудника, регулярно публикуется в научной печати, участвует в подготовке научных кадров в качестве лектора, официального оппонента, рецензента, члена научно-технического совета института. Под его руководством защищено семь диссертаций.

Научные труды Евгения Павловича отмечены медалью им. Л. Пастера (1999 г.), премией им. Е.И. Смирнова Академии военных наук (2005 г.). Он награжден орденом «За службу Родине в Вооруженных Силах СССР» III степени и многими медалями. За активное участие в ветеранском движении он отмечен памятным знаком «Почетный ветеран Подмосковья» (2010 г.).

Командование войск РХБ защиты, коллектив ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, товарищи, ученики и совет ветеранов поздравляют Евгения Павловича Лукина с Юбилеем, желают ему доброго здоровья, счастья и новых творческих успехов.

ПОРЯДОК РЕЦЕНЗИРОВАНИЯ СТАТЕЙ В ЖУРНАЛЕ «ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ»

Редакция придерживается принципа, что рецензирование является основным механизмом оценки качества публикуемых в журнале материалов исследования.

1. Автор статьи представляет в редакцию рукопись, оформленную в соответствии с Правилами направления и опубликования научных статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты»¹.

2. Поступившую рукопись ответственный секретарь редакции регистрирует в специальном журнале в день получения редакцией ее бумажной или электронной версии (дата регистрации) и ей присваивается идентификационный номер, где первая цифра означает номер по порядку в текущем году, вторая – год поступления. Например, статья под № 23–17 означает, что она поступила 23-й по счету в 2018 г. На статью ответственным секретарем редакции заводится учетная карточка, отражающая ход рассмотрения статьи в редакции и содержащая окончательный вывод главного редактора (заместителя главного редактора) о возможности опубликования.

3. Все научные статьи подлежат обязательному рецензированию. Используются две модели рецензирования – двойное слепое и открытое (по выбору авторов).

4. Главный редактор (заместитель главного редактора) в течение двух недель определяет соответствие статьи профилю журнала. Привлекаемые рецензенты должны быть признанными специалистами по тематике рецензируемых материалов и иметь в течение последних 3 лет публикации по тематике рецензируемой статьи. Предпочтительно привлечение к рецензированию специалистов из сторонних организаций. Рецензии постоянно хранятся в редакции журнала.

Рецензенту ответственным секретарем редакции (научным редактором) направляется уведомление (приложение 1), в котором указывается название статьи и срок представление рецензии, рукопись статьи, а также типовая форма рецензии (приложение 2).

5. Срок рецензирования – три недели. При необходимости повторное рецензирование проводится в такие же сроки. В случае принятия к опубликованию или отклонения рукописи, автору высылается мотивированное заключение с приложением рецензий.

6. Замечания и пожелания рецензента должны быть объективными и принципиальными, направленными на повышение научно-методического уровня рукописи. Рецензент должен быть готов к тому, что рецензия будет направлена в ВАК (в случае двойного слепого рецензирования статьи) или опубликована на сайте журнала (в случае открытого рецензирования).

Рецензент имеет определенные обязательства в отношении авторов и редактора.

7. Обязательства рецензента перед автором:

- беспристрастно оценивать научные достоинства и ценность рецензируемой работы;
- уклоняться от личных комментариев и критики;
- не использовать данные или идеи, приведенные в рецензируемой статье, в собственных публикациях без согласия автора(ов) и ссылки на данную работу;
- поддерживать конфиденциальность процесса рецензирования.

8. Обязательства рецензента перед редактором:

- соблюдать правила рецензирования, изложенные в данном документе;
- предупреждать редактора о конфликте интересов с авторами статьи, отказ от рецензирования, если такой конфликт возможен;
- рассматривать рукопись статьи как конфиденциальную информацию (не показывать рукопись кому-либо, не передавать ее на рецензирование другим лицам без согласования с главным редактором или его заместителем);
- предупреждать главного редактора (его заместителя) о невозможности завершить рецензию в определенный срок;
- сообщать главному редактору о любых этических сомнениях в отношении рецензируемой статьи.

9. В рецензии рецензентом как минимум даются ответы на вопросы, изложенные в типовой форме рецензии (приложение 2). По желанию рецензента дополнительно может быть подготовлена развернутая рецензия с подробным критическим разбором или комплексным анализом рукописи. В заключительной части рецензии должны содержаться выводы о рукописи в целом и одно из следующих решений:

- рекомендовать принять рукопись к публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты»;
- рекомендовать принять рукопись к публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты» с внесением технической правки редакцией без повторного рецензирования статьи;
- рекомендовать направить на повторное рецензирование тому же рецензенту после устранения автором замечаний рецензента, с последующим принятием рукописи к публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты»;
- рекомендовать направить на повторное рецензирование к другому рецензенту;
- рекомендовать отказать в публикации статьи в журнале «Вестник войск РХБ защиты».

10. В случае двух отрицательных рецензий статья

¹ Правила опубликованы в журнале «Вестник войск РХБ защиты». 2018. Т. 2. № 1, С. 86–92.

направляется на дополнительное рецензирование другому рецензенту решением главного редактора (его заместителя) или по рекомендации редколлегии журнала.

11. Статья, принятая к публикации, но нуждающаяся в доработке, направляется автору с соответствующими замечаниями рецензентов и (или) главного редактора. Автор обязан реализовать замечания и вернуть в редакцию исправленный вариант рукописи (по электронной почте) не позднее, чем через две недели со дня ее получения. Возвращение статьи в более поздние сроки сдвигает дату ее опубликования.

12. Редакция журнала представляет рецензии на рукописи по запросам соответствующего экспертного совета ВАК. Открытые рецензии могут быть размещены на сайте журнала.

13. В случае несогласия с мнением рецензента, автор статьи имеет право обратиться в редакцию журнала с аргументированной просьбой, в письменном виде, о направлении его рукописи на рецензирование другому рецензенту с приведени-

ем в обращении соответствующих аргументов. В этом случае редакционная коллегия журнала направляет рукопись на повторное (дополнительное) рецензирование, либо предоставляет автору новый мотивированный отказ. Окончательное решение принимает главный редактор журнала (или исполняющий его обязанности заместитель главного редактора).

14. Редколлегия при возникновении сомнений у членов редколлегии в целесообразности опубликования рукописи в журнале или при наличии отрицательной рецензии на нее, может рекомендовать главному редактору направить рукопись на дополнительное рецензирование.

15. Окончательное решение о целесообразности и сроках публикации рукописи после рецензирования принимает главный редактор журнала (или исполняющий его обязанности заместитель главного редактора) исключительно на основе ее научной значимости.



Приложение 1

Уведомление редакции журнала
«Вестник войск РХБ защиты»

Уважаемый _____!

Направляем Вам на рецензирование рукопись _____

Модель рецензирования: двойное слепое; открытое (подчеркнуть)

Просим представить рецензию не позднее _____ 201_ г.

Заместитель главного редактора
_____ 201_ г.

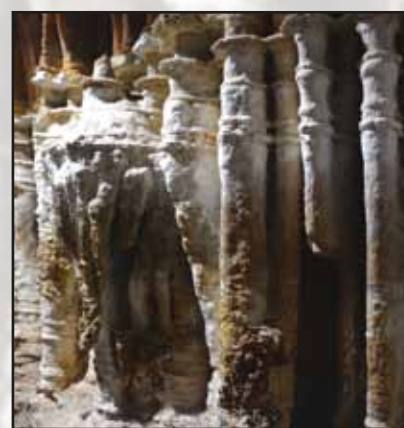
Д. Колесников

Типовая форма рецензии

Название статьи	
Соответствует ли содержание представляемой в редакцию рукописи статьи тематике (научному профилю) журнала?	
Соответствует ли название рукописи статьи ее содержанию?	
Сформулированы ли четко актуальность, цель и задачи исследования?	
Способствует ли достижению цели представленная совокупность задач?	
Содержит ли раздел «Материалы и методы» сведения о методах исследования, достаточные для их воспроизведения?	
Правильно ли применены методы статистического анализа и интерпретированы их результаты?	
Разъяснены ли в тексте рукописи статьи при первом упоминании аббревиатуры и другие условные буквенные сокращения?	
Отражено ли в выводах достижение цели исследования?	
Все ли выводы основываются на приведенных в статье данных?	
Отражает ли аннотация основное содержание работы и полученные результаты?	
Отражают ли приведенные ключевые слова специфику темы, объект и результаты исследования?	
Соответствуют ли библиографические описания цитируемой литературы современному состоянию проблемы, рассматриваемой автором?	
Достоверен ли список источников, приведенный автором?	
Соответствует ли рукопись статьи современным достижениям в той области знания, к которой она относится?	
Доступна ли рукопись статьи читателям, на которых она рассчитана, с точки зрения языка, стиля, расположения материала, наглядности таблиц, диаграмм, рисунков и формул?	
Есть ли признаки плагиата – заимствования частей чужого текста, цитат, таблиц, формул, графиков и т.п. без ссылки на автора и первоисточники?	
Есть ли признаки фальсификации или фабрикации научных данных?	
Целесообразна ли публикация рукописи статьи с учетом ранее выпущенной по данному вопросу литературы?	
В чем конкретно заключаются положительные стороны, а также недостатки рукописи статьи, какие исправления и дополнения должны быть внесены автором?	
Есть ли в рукописи статьи объекты интеллектуальной собственности, которые могут получить правовую охрану в России и за рубежом (вещество, способ, устройство)?	
Содержатся ли в рукописи статьи сведения рекламного характера?	
В чем заключается научный вклад данной рукописи статьи в ту область знания, к которой она относится?	
В каком направлении надо развивать эти исследования в будущем?	
Выводы о рукописи в целом (подчеркнуть нужное): 1) рекомендовать принять рукопись к публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты»; 2) рекомендовать принять рукопись к публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты» с внесением технической правки редакцией без повторного рецензирования статьи; 3) рекомендовать направить на повторное рецензирование тому же рецензенту после устранения автором замечаний рецензента, с последующим принятием рукописи к публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты»; 4) рекомендовать направить на повторное рецензирование к другому рецензенту; 5) рекомендовать отказать в публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты». (см. п. 9 Порядка рецензирования статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты»)	

Наша замечательная Россия

Мраморная пещера горного массива Чатыр-Даг (Крым)



Гигантская пещера в верхнеюрских мраморовидных известняках горного массива Чатыр-Даг, расположенного в южной части Крымского полуострова. Массив представляет собой классический карстовый район: более 200 пещер, шахт, полостей. Пещера Чатыр-Даг открыта местным пастухом в 1987 г. Входит в пятерку красивейших оборудованных пещер мира. Протяженность всех разведанных залов – более 2 км, глубина – 60 м. Пещера открыта для посещения туристами. Включает две галереи и семь залов. В зале с названием «Перестройка» проводятся фестивали авторских песен. Формируясь миллионы лет в полной темноте, пещера при освещении играет удивительными красками.

На фотографии вверху изображен огромный сталагмит – натечное минеральное образование, растущее в виде конуса со дна пещер. С выбранного мной ракурса для съемки сталагмит похож на профиль сурового и злого человека. Его так и называют – «Хозяин пещеры», тем более, что он расположен в ее начальном участке. Фотография слева внизу – сталагмит «Пизанская башня». В центре нижнего ряда сталактиты, кальцитовые натечно-капельные образования, свисающие с потолка пещер в форме сосульки. На этом участке пещеры они формируют «сталактитовый лес». Внизу справа сталагматы – колонноподобные образования, возникающие при соединении сталактитов и сталагмитов. Производят впечатление искусственных сооружений, созданных древними атлантами, однако это обман зрения.

Фотографии М.В. Супотницкого