

100 ЛЕТ ВОЙСКАМ РАДИАЦИОННОЙ, ХИМИЧЕСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ



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, № 4

2018

ISSN 2587-5728



9 772587 572003 >

В НОМЕРЕ:

- Американский центр общественного здравоохранения им. Ричарда Лугара в Грузии – угроза биологической безопасности России
- Методы идентификации возбудителей опасных и особо опасных инфекционных заболеваний, основанные на анализе нуклеиновых кислот
- Научно-историческая конференция «100 лет – войскам радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации»

Включен в научную электронную библиотеку libraru.ru. On-line версия журнала: ofhim.ru



Наша замечательная Россия

Осень в лесопарковой зоне Кусково, Москва



Кусковская лесопарковая зона, расположенная в пределах Мещерской низменности, считается одним из самых посещаемых мест столицы. Ее площадь около 300 га, несколько красивых старинных прудов. Когда сюда попадаешь, забываешь, что находишься внутри мегаполиса. С северо-восточной стороны Большого Дворцового пруда сохранился один из древнейших московских парков — графский, он занимает площадь более 30 га. С юго-западной стороны Большого Дворцового пруда находится изумительный лесной массив, в котором есть просеки, дорожки для прогулок и скамейки, спортивные площадки, уютные местечки для семейного пикника. Сюда можно прийти просто для того, чтобы подышать воздухом и полюбоваться природой. Ну, а осень? Нужно обладать незаурядным художественным талантом, чтобы передать все ее краски в Кусково. Проще привести стихи Ивана Бунина:

*Лес, точно терем расписной,
Лиловый, золотой, багряный,
Веселой, пестрою стеной
Стоит над светлою поляной.
Березы желтою резьбой
Блещат в лазури голубой ...*

На фотографии вверху – один из старинных прудов парка. Нижний ряд – аллеи лесопарковой зоны.

Фотографии М.В. Супотницкого



ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

Рецензируемый научно-практический журнал



Том 2, № 4

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: Сластилова Л.М.

СОДЕРЖАНИЕ

Войскам Радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации 100 лет (1918–2018 гг.) 3
Американский Центр общественного здравоохранения им. Ричарда Лугара в Грузии – угроза биологической безопасности России
И.А. Кириллов 7

Химическая безопасность и защита от химического терроризма

Нормативно-правовые и научно-производственные аспекты состояния и перспектив развития системы антитоксической терапии в Российской Федерации
В.Д. Гладких, М.М. Мурадов, Н.А. Колосова,
И.К. Касаткин, Л.М. Сластилова 10

Биологическая безопасность и защита от биологических угроз

Методы идентификации возбудителей опасных и особо опасных инфекционных заболеваний, основанные на анализе нуклеиновых кислот
Я.А. Кибирев, С.Е. Бурлачук, А.С. Грудцына, Д.О. Ситяков, С.Г. Исупов, В.И. Дробков 22

Разработка способа обнаружения и идентификации ДНК токсигенных штаммов *Clostridium botulinum* типов А, В, Е методом ПЦР в реальном времени
Д.С. Янов, А.В. Кузнецовский, М.Ю. Дубровин, А.В. Миронин,
Н.В. Онучина, А.В. Филиппов 36

Биотехнология рекультивации и восстановления экологического статуса почвы в местах постоянной дислокации войск с использованием препарата нефтедеструктора на основе микробно-растительной ассоциации
И.П. Погорельский, А.А. Лещенко, А.Г. Лазыкин, К.И. Гурин,
В.В. Тетерин, Д.А. Шаров 44

Использование зарегистрированных в России дезинфицирующих средств войсками РХБ защиты в чрезвычайных ситуациях биологического характера
В.В. Канищев, А.С. Морозов, В.П. Лакомов, Ю.В. Омеляненко,
С.Р. Бухаева, Р.Г. Трошев, А.Г. Муравьев 57

Устройство для аэрозольной дезинфекции вооружения, внутренних объемов военной техники и сооружений
А.В. Крючков, М.Б. Смирнов, В.Д. Красаков 68

Исторический архив

К 60-летию создания Научно-исследовательского технического бюро
Д.Л. Поклонский 75

Хроника

Научно-историческая конференция «100 лет – войскам радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации» 82

Указатель авторов и статей журнала за 2018 год 91

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: 02.11.2018 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. Позиция редакции может не совпадать с точкой зрения авторов. Условия оферты для авторов приведены в п. 11 Правил направления и опубликования научных статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты» (Вестник войск РХБ защиты. 2018. № 1. С. 91–92)



JOURNAL OF NBC PROTECTION CORPS

Peer Reviewed Scientific and Practical Journal



Vol. 2 No 4
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.

Kamyranov 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: Slavilova L. M.

Contents

NBC Protection Troops of the Russian Federation – 100 years (1918–2018)	3
Richard Lugar Public Health Research Center in Georgia is a threat to Russia's biosafety I. A. Kirillov	7

Chemical Security and Protection against Chemical Terrorism

Statutory, legal, scientific and productive aspects of conditions and prospects of development of antidote therapy in the Russian Federation V. D. Gladikh, M. M. Muradov, N. A. Kolosova, I. K. Kasatkin, L. M. Slavilova	10
--	----

Biological Security and Protection against Biological Threats

Methods for identification of causative agents of dangerous and particularly dangerous infections based on the analysis of nucleic acids Y. A. Kibirev, S. E. Burlachuk, A. S. Grudchina, D. O. Sityakov, S. G. Isupov, V. I. Drobkov	22
Development of a technique for DNA detection and identification of toxigenic strains of <i>Clostridium botulinum</i> types A, B, E by the Real-Time PCR method D. S. Yanov, A. V. Kuznetsovskiy, M. I. Dubrovin, A. V. Mironin, N. V. Onuchina, A. V. Filippov	36
Biotechnology for remediation and restoring the ecological status of soil in the places of permanent disposition of the troops by oil-destructor preparation on the basis of the microbial-plant association I. P. Pogorelskiy, A. A. Leshchenko, A. G. Lazykin, K. I. Gurin, V. V. Teterin, D. A. Sharov	44
Use of disinfectants, registered in Russia, by the NBC protection troops in biological emergencies V. V. Kanishev, A. S. Morozov, V. P. Lakomov, Yu. V. Omelyanenko, S. R. Buhaeva, R. G. Troshev, A. G. Muravyov	57
Aerosol disinfection of weapons, internal volumes of military equipment and facilities A. V. Kryuchkov, M. B. Smirnov, V. D. Krasakov	68

Historical Archives

For the 60th anniversary of the creation of the Scientific and Research Technical Bureau D. L. Poklonskiy	75
--	----

Cronicle

Scientific and historical conference «NBC Protection Troops of the Russian Federation – 100 years»	82
---	----

2018 Index	91
----------------------	----

Address of the Editorial Office

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

Tel.: 8 (499) 265-42-90, e-mail: 27nc@mail.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 November 2, 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@cniihm.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.*

*The information and views set out in this publication are those of the author(s) and do not necessarily reflect
the official opinion of the Editorial Board.*

*Terms of the offer for the authors are given in the Article 11 of the Rules for the authors (Journal of NBC
Protection Corps. 2018. V. 2. № 1. P. 91-92).*

**ВОЙСКАМ
РАДИАЦИОННОЙ, ХИМИЧЕСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ
ВООРУЖЕННЫХ СИЛ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
100 ЛЕТ (1918–2018 гг.)**

Уважаемые товарищи!

Сердечно поздравляю вас со 100-летием образования войск радиационной, химической и биологической защиты!

Их создание и последующее развитие является закономерным процессом, связанным с совершенствованием средств и способов вооруженной борьбы, необходимостью защиты личного состава и гражданского населения от поражающих факторов оружия массового уничтожения.

На всех этапах строительства и применения войск воины-химики неизменно проявляли мужество, героизм и высокую выучку.

Так было на фронтах Первой мировой и Великой Отечественной войн, при выполнении интернационального долга в Афганистане, в ходе контртеррористических операций на Северном Кавказе, в Сирийской Арабской Республике, при ликвидации последствий Чернобыльской трагедии и других чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера.

За доблестное выполнение воинского долга в военное и мирное время десятки тысяч солдат и офицеров войск РХБ защиты удостоены государственных наград, пятерым из них присвоено звание Героя Российской Федерации, тридцати – Героя Советского Союза и пятерым – Героя Социалистического Труда.

Сегодня военнослужащие войск достойно приумножают лучшие традиции своих предшественников, настойчиво совершенствуют профессиональное мастерство, хранят верность присяге и Отечеству.

Уверен, что высокий уровень технического оснащения, качественная подготовка соединений и воинских частей, современная экспериментально-лабораторная база научно-исследовательских организаций позволят и впредь войскам радиационной, химической и биологической защиты с честью выполнять возложенные на них задачи.

Желаю всем крепкого здоровья, благополучия и дальнейших успехов на благо России.



**Министр обороны
Российской Федерации
генерал армии**

A stylized handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke.

С. Шойгу

Уважаемые товарищи!



Примите искренние и сердечные поздравления со знаменательной датой – 100-летием со дня образования войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации!

История войск – это летопись самоотверженного ратного труда, мужества и героизма солдат, офицеров, генералов – настоящих патриотов Родины и истинных профессионалов своего дела, прошедших через горнило Великой Отечественной войны и многочисленные вооруженные конфликты, с честью выполнивших свой воинский долг.

Опираясь на опыт своих предшественников, воины-химики Красной Армии за короткие исторические сроки создали прочную систему противохимической защиты, которая в годы Великой Отечественной войны не дала фашистской Германии возможность эффективно применять химическое оружие.

Военнослужащие огнеметных и дымовых подразделений активно участвовали в боевых действиях, проявляя при этом мужество и самоотверженность.

В послевоенные годы химические войска обеспечили защиту Вооруженных Сил от оружия массового поражения, а также выполнение задач по применению в боевой обстановке огнеметно-зажи-

гательных и аэрозольных средств в Афганистане и на Северном Кавказе. Особая страница в летописи войск – ликвидация последствий аварии на Чернобыльской АЭС, где военнослужащие войск проявили стойкость и героизм.

Нынешнее поколение военнослужащих войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации достойно продолжает славные традиции своих предшественников.

Спасибо вам за добросовестный ратный труд, высокий профессионализм, неизменную верность избранному делу! Особые слова благодарности – ветеранам.

Сформированные вами славные традиции – это крепкий фундамент, на котором войска радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации будут развиваться и в дальнейшем.

Желаю ветеранам, всему личному составу войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации крепкого здоровья, счастья, благополучия и дальнейших успехов в военной службе и труде на благо укрепления обороноспособности нашей Родины!

**Начальник Генерального штаба
Вооруженных Сил Российской Федерации –
первый заместитель Министра обороны
Российской Федерации
генерал армии**

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'V. Gerasimov'.

В. Герасимов

Уважаемые товарищи!

Товарищи солдаты и матросы, сержанты и старшины, прапорщики и мичманы, офицеры!

Уважаемые ученые, конструкторы, работники оборонной промышленности! Дорогие ветераны!

В этом году Вооруженные Силы Российской Федерации отмечают 100-летие создания войск радиационной, химической и биологической защиты.

Их становление проходило в сражениях Первой мировой и на фронтах Великой Отечественной войны, где личный состав огнеметных и дымовых подразделений демонстрировал стойкость, смелость и высокую выучку.

В послевоенные годы химические войска успешно решали задачи по организации защиты соединений и частей от поражающих факторов оружия массового уничтожения.

Военнослужащие войск РХБ защиты самоотверженно действовали в боевой обстановке в Афганистане и на Северном Кавказе, при ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС, в других чрезвычайных ситуациях природного и техногенного характера. Память о них и искренняя благодарность навсегда останутся в сердцах тысяч спасенных ими людей.

Сегодня военные химики достойно продолжают традиции, заложенные старшими поколениями. Они успешно осваивают сложную современную технику, совершенствуют свою профессиональную подготовку, эффективно решают поставленные задачи.

Уважаемые товарищи! Поздравляю вас со знаменательной датой – вековым юбилеем!
Желаю крепкого здоровья, благополучия и новых свершений на благо Отечеству!



***С искренним уважением, наилучшими пожеланиями,
Первый заместитель Министра обороны
Российской Федерации***

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Р. Цаликов'.

Р. Цаликов

Уважаемые товарищи, боевые друзья!



13 ноября 2018 года войскам радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации исполняется 100 лет. Именно тогда, в далеком 1918 году, в молодой Советской республике становление и развитие военно-химического дела обрело свою структуру и организацию.

Для каждого из нас – тех, кто служил в химических войсках, продолжает службу и трудовую деятельность в войсках радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации, тех, кто посвятил этой службе не просто годы, а часть своей души – это великий праздник.

Войска РХБ защиты прошли длительный исторический путь развития, который неразрывно связан со славной историей наших Вооруженных Сил, претерпевали кардинальные изменения, развивались по мере совершенствования вооружения и военной техники, форм и способов вооруженной борьбы.

Военнослужащие войск храбро сражались в действующей армии против фашистских агрессоров и внесли огромный вклад в победу над врагом в Великой Отечественной войне. Прошедшие события на Чернобыльской АЭС, в Афганистане, Северо-Кавказском регионе, Сирийской Арабской Республике еще раз доказали, что солдаты и офицеры войск РХБ защиты в полной мере отвечают своему должност-

ному предназначению и соответствуют морально-нравственным нормам, предъявляемым к воинам России.

В день славного юбилея я выражаю сердечную признательность нашим ветеранам, которые создавали и преумножали боевой потенциал наших войск, сохранили славные традиции беззаветного служения Отчизне. Вместе с нами они искренне переживают за будущее войск, радуются нашим победам и успехам.

Благодарю их за стойкость и мужество, беззаветный ратный труд, за огромную помощь в воспитании молодого поколения воинов.

Столетний юбилей войск РХБ защиты – это праздник, который требует от нас достойно продолжать эстафету честного служения Родине, трепетно относиться к защите мирного труда граждан России.

Искренне и от всей души желаю ветеранам, личному составу войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации здоровья, счастья и благополучия, удачи в добрых начинаниях, успехов в воинской службе, в деле укрепления мощи и славы нашей Родины – великой России.

С искренним уважением и наилучшими пожеланиями,

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

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'I' and 'K'.

И. А. Кириллов

АМЕРИКАНСКИЙ ЦЕНТР ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ИМ. РИЧАРДА ЛУГАРА В ГРУЗИИ – УГРОЗА БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РОССИИ



В Министерстве обороны России проведен анализ материалов, опубликованных бывшим министром госбезопасности Грузии Игорем Гиоргадзе, которые проливают свет на темную сторону деятельности США в Центре общественного здравоохранения им. Ричарда Лугара, расположенном в Грузии.

Документы, представленные Игорем Гиоргадзе, подтверждают ранее возникшие у нас опасения в отношении противозаконной деятельности США на территории Грузии, в том числе попыток обхода ими ряда положений Конвенции о запрещении биологического и токсинного оружия (КБТО).

Об этом свидетельствуют следующие факты:

два этажа нового здания полностью отведены подразделениям сухопутных войск США и оборудованы для работы с пациентами, зараженными возбудителями особо опасных инфекций;

грузинские специалисты ограничены в перемещениях по Центру, не имеют права ознакомления с результатами исследований, проводимых американскими военными биологами;

масштабы площадей зонированных помещений в Центре значительно превышают те, что необходимы для проведения эпиднадзора в регионе (например, площадь таких помещений современной типовой противочумной станции – 500 м², площадь зонированных помещений в Центре – 8000 м². Соответственно возросла и численность персонала, работающего в условиях повышенной биобезопасности – с 50 до 200 человек);

американские военные биологи, работающие в Центре, имеют дипломатический иммунитет, перевозка ими биоматериалов осуществляется по дипломатическим каналам без проверок и декларирования их перед местными надзорными органами, что позволяет представителям вооруженных сил США решать задачи и выполнять поручения своего правительства в обход грузинского законодательства;

коммунальные услуги и охрана объекта до последнего доллара оплачиваются Соединенными Штатами;

мониторинг санитарно-эпидемиологической обстановки в Грузии осуществляется не Центром по контролю за заболеваниями министерства здравоохранения США в Атланте, как это происходит по всему миру в соответствии с регламентом его работы в Африке, Латинской Америке и Азии, а Пентагоном;

контракты, заключенные между Министерством здравоохранения Грузии и Научно-исследовательским институтом сухопутных войск им. Уолтера Рида, Управлением по снижению угрозы министерства обороны, Национальной администрацией по ядерной безопасности министерства энергетики США, показывают, что в списке приоритетных американских исследований находятся потенциальные агенты биологического оружия – возбудители туляремии, сибирской язвы, бруцеллеза, лихорадки Денге, Крымской-Конго геморрагической лихорадки и других заболеваний, передающихся кровососущими членистоногими;

специалисты США целенаправленно ищут атипичные штаммы возбудителей инфекционных болезней, в частности, возбудителя чумы, которые способны преодолевать защитное действие вакцин и антибиотиков;

в регионе дислокации Центра им. Лугара за последние годы значительно ухудшилась эпидемическая ситуация по инфекционным болезням, распространяемым насекомыми-переносчиками. При этом на территории Грузии и в прилегающих к ней регионах России выявлено смещение ареалов различных видов комаров, ранее встречавшихся только в странах, расположенных южнее;

не типичная для естественных условий динамика расширения ареала переносчиков заставляет обратить внимание на информацию Игоря Гиоргадзе о разработке американцами технических средств доставки и применения биологического оружия. В частности, им был продемонстрирован выданный Агентством США по патентам и товарным знакам патент № 8 967 029 на беспилотный летательный аппарат для распространения зараженных насекомых в воздухе. В описании к патенту указано, что с помощью данного устройства войска противника могут быть уничтожены или выведены из строя без риска для военнослужащих США. Подобные разработки не сочетаются с международными обязательствами Вашингтона о запрещении биологического и токсинного оружия. В других патентах, продемонстрированных Гиоргадзе, показаны различные типы боеприпасов для доставки химических и биологических рецептур. Возникает закономерный вопрос: «Для чего такие документы хранятся в Центре общественного здравоохранения имени Ричарда Лугара?» Рассчитываем получить внятный ответ на него от грузинской и американской сторон.

Кроме нашей уверенности в том, что США на территории Грузии нарушают КБТО, у нас есть основания полагать, что американскими военными учеными в Центре им. Лугара проводятся испытания на людях принципиально новых биологических поражающих агентов, далеко выходящих за рамки тех, что оговорены КБТО. В этой связи интересны предоставленные Игорем Гиоргадзе документы о результатах исследований на грузинских гражданах препарата, проходящего как Совалди, американской фирмы «Гилеад Сайенсиз». Примечательно, что одним из ее основных акционеров является бывший министр обороны США Дональд Рамсфельд.

Препарат Совалди по своему научному уровню и представлениям о лечении гепатита С соответствует концу 1980-х гг., его клинические исследования давно завершены, благодаря чему на рынке он присутствует уже два десятилетия и даже имеет большое семейство дженериков. Поэтому массовые летальные исходы среди пациентов объяснить применением Совалди невозможно. Но такого количество умерших за один день не бывает даже в африканских стационарах во время эпидемии лихорадки Эбола. А вот о деятельности самой «Гилеад Сайенсиз» нам известно немного больше, чем думают американские «партнеры».

С 1990-х гг. эта фирма с большим размахом разрабатывает технологии и средства воздействия на геном различных вирусов и человека, маскируя эти работы разработкой средств терапии СПИДа и гепатита С. Именно непредсказуемостью последствий применения таких средств можно объяснить как то, что их изучают за пределами США, так и одномоментную гибель большого числа добровольцев. Последнее не удивительно. Еще в начале нулевых годов в США имели место летальные исходы при применении методов соматической генной терапии наследственных болезней, когда смерть пациента наступала в течение 98 часов от начала эксперимента, а ее причина оказывалась не ясной исследователям. Поэтому и в Центре им. Лугара в графе «причина смерти» написано «неизвестно». Кстати, при гепатите С, от которого якобы лечили погибших испытуемых, умирают от цирроза печени. Этот диагноз давно известен. Со своей стороны могу подсказать, на фоне каких симптомов умирали пациенты Центра им. Лугара – диссеминированная внутрисосудистая коагуляция, синдром системного воспалительного ответа, множественная органная недостаточность, изменения в психике пациентов, желтуха. Хотя нам и понятно, от чего умерли пациенты в Центре им. Лугара, мы надеемся, что наши грузинские и американские партнеры не будут лукавить и дадут более убедительную версию их гибели, чем уже ими приведенная.

Опасные эксперименты, проводимые вблизи границ России, не могут не вызывать беспокойства по поводу соблюдения специальной техники безопасности в выросших, как грибы после дождя, американских биологических лабораториях. Нам известно, что далеко не все такие лаборатории имеют надежное инженерно-техническое обеспечение, гарантирующее безопасность работающему персоналу и окружающей среде. И это несет прямую угрозу Российской Федерации. В этой связи по Центру им. Лугара в Грузии нас интересует следующее:

- герметизация оборудования, используемого при работе с опасными микроорганизмами, боксирование операций и процессов на этом оборудовании;
- зонирование помещений, в которых проводятся такие эксперименты;
- специализация строительных конструкций;
- очистка технологического и вентиляционного воздуха;
- обработка жидких отходов;
- уничтожение трупов использованных в экспериментах животных;
- шлюзование и обработка материальных потоков на границах зон;
- надежность средств индивидуальной защиты персонала;
- обеззараживание помещений и оборудования;
- техническое обслуживание оборудования и систем, обеспечивающих профессиональную технику безопасности в лабораториях;
- медицинский контроль за состоянием здоровья сотрудников;
- лечение заболевших в ходе экспериментов сотрудников, карантинизация сотрудников, бывших с ними в контакте.

Рассчитываем, что грузинская и американская стороны как-то объяснятся и по вопросам специальной техники безопасности в Центре им. Лугара в Грузии.

*По материалам брифинга Минобороны России
«Анализ военно-биологической деятельности США на территории Грузии»
4 октября 2018 г.*

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

И.А. Кириллов

НОРМАТИВНО-ПРАВОВЫЕ И НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ АСПЕКТЫ СОСТОЯНИЯ И ПЕРСПЕКТИВ РАЗВИТИЯ СИСТЕМЫ АНТИДОТНОЙ ТЕРАПИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

В.Д. Гладких, М.М. Мурадов, Н.А. Колосова, И.К. Касаткин, Л.М. Сластилова

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

Поступила 20.04.2018 г. Принята к публикации 15.10.2018 г.

Современный период развития мирового сообщества и Российской Федерации, в частности, характеризуется глобализацией химической опасности. Усиление химической опасности обусловлено ростом потенциала химической промышленности развитых стран, широким использованием высокотоксичных веществ на промышленных предприятиях, наличием за рубежом не уничтоженного запаса химического оружия (ХО), активизацией террористических проявлений и пр. В этих условиях, одной из составляющих концепции медицинского обеспечения химической безопасности является наличие научно-обоснованной системы разработки и применения медицинских технологий лечения и профилактики химических отравлений. Существующая в Российской Федерации система оказания токсикологической помощи предусматривает использование средств антидотной терапии, однако отчеты центров/отделений острых отравлений свидетельствует о крайне низкой их укомплектованности значимыми средствами специфической фармакотерапии. Также на фармацевтическом рынке России отсутствует ряд значимых антидотов: цианидов, веществ раздражающего действия, суррогатов алкоголя. На основании анализа состояния научно-технологической и производственной базы, исходя из потенциальных опасностей химической природы к основным направлениям оптимизации системы антидотной терапии в РФ следует отнести экспериментально-клинические исследования, направленные на разработку и создание инновационных антидотов (либо адаптацию и лицензирование тех или иных фармакопейных лекарственных средств). Ближнесрочные задачи научно-производственного и нормативного развития системы антидотной терапии в Российской Федерации связаны с: окончанием разработки, регистрации и принятия на снабжение отечественных средств антидотной терапии (антидотов цианидов, продуктов горения, веществ раздражающего действия, психодислептиков), совершенствованием технических средств применения имеющихся антидотов, нормативно-правовым урегулированием в сфере обеспечения антидотами медицинских формирований и организаций.

Ключевые слова: аминостигмин; антидот; атропин; ацетилицистеин; ацизол; высокотоксичные вещества; карбоксим; лекарственные средства; налоксон; натрия тиосульфат; пеликсим; пентацин; пиридоистигмин; резерв медицинского имущества; ферроцин; химическая безопасность; химическое оружие; чрезвычайные ситуации.

Библиографическое описание: Гладких В.Д., Мурадов М.М., Колосова Н.А., Касаткин И.К., Сластилова Л.М. Нормативно-правовые и научно-производственные аспекты состояния и перспектив развития системы антидотной терапии в Российской Федерации // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2. № 4. С. 10–21.

В комплексе вредных факторов, негативно сказывающихся на здоровье человека в повседневной

жизни и в условиях экстремальных ситуаций, одним из ведущих является химический фактор. В

связи с этим обеспечение химической безопасности населения и силовых структур превращается в одно из важнейших направлений укрепления национальной безопасности государства.

Одной из составляющих концепции медицинского обеспечения химической безопасности является наличие научно-обоснованной системы разработки и применения медицинских технологий диагностики, лечения и профилактики химических отравлений. При этом ведущее место в системе оказания токсикологической помощи при острых химических отравлениях принадлежит своевременно проводимой этиоспецифической (антидотной) терапии [1–4].

В настоящей статье на основании анализа содержания и сущности химической опасности, общей характеристики нормативно-правовых и научно-производственных аспектов состояния системы антидотной терапии в Российской Федерации (РФ) рассматриваются системные проблемы антидотного обеспечения РФ и пути их решения.

Содержание и сущность химической опасности на современном этапе

Современный период развития мирового сообщества и Российской Федерации, в частности, характеризуется глобализацией химической опасности. «Усиливающееся негативное влияние химических факторов на население, социальную инфраструктуру и экологическую систему, увеличение риска чрезвычайных ситуаций (в том числе ввиду террористических воздействий) на потенциально опасных химических объектах представляют возрастающую угрозу жизнедеятельности человека, национальной безопасности, социально-экономическому развитию Российской Федерации», – подчеркивается в «Основах государственной политики

в области обеспечения радиационной, химической и биологической безопасности РФ на период до 2010 г. и дальнейшую перспективу».

К объективным причинам усиления химической опасности относится возрастание химической нагрузки на общество, что, в свою очередь, обусловлено ростом потенциала химической промышленности развитых стран, широким использованием высокотоксичных веществ на промышленных предприятиях, наличием за рубежом не уничтоженного запаса химического оружия (ХО), активизацией террористических проявлений и пр.

В этих условиях, наряду с постоянным риском возникновения отравлений на бытовом уровне, сохраняется потенциальная опасность возникновения случаев массовых острых отравлений вследствие чрезвычайных ситуаций (ЧС) химической природы.

Характеризуя химическую опасность по таким показателям, как условия и вероятность возникновения экстремальных ситуаций химической природы, этиологические факторы возможного поражения, прогнозируемые масштабы поражения, характер воздействия и последствия поражений (таблица 1), можно констатировать качественные изменения в содержании и сути самой химической опасности (рисунок 1).

Перечисленные реалии должны приниматься во внимание при разработке концепции медицинского обеспечения химической безопасности, направленной на предотвращение сверхнормативного воздействия факторов химической природы в ходе повседневной деятельности и минимизацию ущерба здоровью, а также сохранение жизни населения и личного состава силовых структур при ЧС химической природы [5–6].

Таблица 1 – Сравнительная характеристика химической опасности в XX и XXI вв.

Характеристика химической опасности	Вторая половина XX века	Начало XXI века
Условия возникновения ЧС химической природы	Крупномасштабная война с применением химического оружия (ХО)	Аварии на химически опасных объектах; Террористические акты; Локальные военные конфликты и силовые акции для восстановления правопорядка с применением нелетальных химических средств
Вероятность возникновения ЧС химической природы	Низкая	Постоянно возрастает
Этиологические факторы возможного поражения	Боевые отравляющие вещества	Аварийно химически опасные вещества (АХОВ). Боевые токсичные химические вещества. Средства химического терроризма
Прогнозируемые масштабы поражения	Обширные зоны химического заражения. Очаги массового поражения	Ограниченные зоны химического заражения. Очаги группового поражения
Характер воздействия	Острое воздействие	Острые и подострые воздействия
Последствия поражения	Острые интоксикации. Большое количество безвозвратных потерь	Разнообразие форм манифестации токсического процесса. Преобладание несмертельных форм поражения. Высокая вероятность развития отдаленных последствий

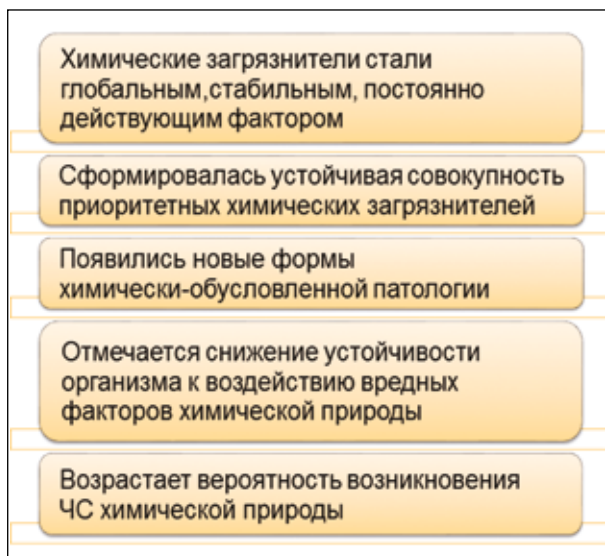


Рисунок 1 – Содержание и сущность химической опасности на современном этапе

Следует также отметить, что конвенциональные ограничения существенно изменили тактику применения специальных видов оружия. Вероятные угрозы и сценарии применения ХО диктуют выработку новой стратегии медицинского противодействия и, в частности, разработку индивидуальных систем индикации, средств патогенетической и симптоматической терапии, алгоритмов оказания помощи при поражении химически опасными веществами.

Общая характеристика состояния системы антидотной терапии в Российской Федерации

Ведущее место в системе оказания токсикологической помощи при острых химических отравлениях принадлежит своевременно проводимой этиоспецифической (антидотной) терапии. Согласно определению экспертов Международной программы химической безопасности Всемирной организации здравоохранения (МПХБ ВОЗ), антидотом является препарат, обладающий способностью устранять или ослаблять специфические эффекты ксенобиотика за счет его иммобилизации, уменьшения концентрации или противодействия на уровне эффективных систем [1, 4].

Главная задача применения антидотов заключается в спасении жизни и максимальном сохранении здоровья пострадавших с острыми химическими отравлениями. Антидоты существенно сокращают количество медицинских ресурсов, необходимых для лечения пораженных, уменьшают нагрузку на медицинский персонал и приносят существенную экономическую выгоду [1, 7].

При оценке роли и места антидотной терапии в системе оказания медицинской помощи при

острых химических отравлениях необходимо учитывать ряд обстоятельств [5–7]:

- список антидотов, применяемых при острых химических отравлениях, постоянно пополняется как за счет разработки новых, так и за счет расширения показаний к использованию известных фармакологических препаратов;

- национальные традиции использования антидотов в разных странах связаны с особенностями разрешительной системы медицинского применения лекарственных средств, наличием собственной производственной базы, доступностью тех или иных зарубежных препаратов, опытом их применения и другими причинами;

- антидоты могут быть разработаны лишь для ограниченного числа токсикантов.

К критериям, позволяющим определить перечень токсичных химических веществ, разработка антидотов к которым актуальна в современных условиях, относятся:

- потенциальная возможность применения токсиканта с полицейскими (средства борьбы с беспорядками) и военными (боевые отравляющие вещества) целями, а также в качестве средств химического терроризма;

- большие масштабы производства химических соединений и высокая вероятность вовлечения их в качестве источника ЧС химической природы, сопровождающейся формированием групповых и массовых поражений мирного и военного времени;

- установленные механизмы токсического действия химических соединений, позволяющие предполагать возможность разработки противоядия [5–7].

В соответствии с этими критериями, к приоритетным токсичным химическим веществам, способным приводить к массовым (групповым) отравлениям, при лечении которых необходимо использование антидотов, следует отнести: фосфорорганические соединения (ФОС), включая фосфорорганические отравляющие вещества (ФОВ); продукты горения (оксид углерода и пр.); цианиды (синильная кислота и ее производные); фосгеноподобные вещества; металлы и их соли (ртуть, таллий, соединения мышьяка); отравляющие вещества кожно-резорбтивного действия (иприты); гидразин и его производные; спирты (метанол, этиленгликоль); психодислептики; наркотики группы опия, опиоиды (производные фентанила и пр.); вещества раздражающего действия (CS, CR, хлорацетофенон и др.) [5, 8–9].

Антидотные средства показаны для использования на догоспитальном и госпитальном этапах лечебно-эвакуационного обеспечения. На догоспитальном этапе антидоты используются при оказании первой помощи, скорой медицинской и первичной медико-санитарной (доврачебной, врачебной, специализированной) помощи. Госпитальный этап ЛЭО реализуется

с помощью функционирующих или дополнительно развернутых вне очага химического поражения медицинских формирований и организаций, предназначенных для оказания исчерпывающих видов медицинской помощи, объединенных в категорию госпитальных видов медицинской помощи для лечения пострадавших до окончательного исхода [10–12].

По срочности применения антидотов МПХБ ВОЗ предлагает классифицировать их на группы: «А» – применяемые незамедлительно (в течение 30 мин) после контакта с ядом; «В» – применяемые в течение 2 часов; «С» – используемые в течение 6 часов после отравления [4]. Отнесение тех или иных антидотов к группам, с учетом экстренности оказания медицинской помощи, представляет определенную проблему, так как мнения специалистов по этому вопросу достаточно противоречивы [5, 9, 13–14].

Для своевременного и максимально эффективного использования метода специфической фармакотерапии при ликвидации медико-санитарных последствий ЧС, в Российской Федерации создан резерв антидотов. Номенклатура антидотов, включенных в резерв медицинских

ресурсов Минздрава России, с учетом предоставляемого вида медицинской помощи, приведена в таблице 2 [15].

Нормативно-производственные аспекты состояния системы антидотного обеспечения в Российской Федерации

Комитетом экспертов ВОЗ по использованию лекарственных средств постоянно уточняется номенклатура антидотов, являющаяся базой для определения государствами своих приоритетов в области разработки и использования средств антидотной терапии. Одним из наиболее авторитетных является перечень антидотов, рекомендованный МПХБ ВОЗ [4].

Список антидотов, рекомендованных к применению в клинической практике, определен Приказом Минздрава РФ от 8 января 2002 г. № 9 «О мерах по совершенствованию организации токсикологической помощи населению Российской Федерации».

Перечень антидотов, включенных в резерв медицинских ресурсов Минздрава РФ, предназначенный для ликвидации медико-санитарных последствий ЧС, регламентируется Приказом Ми-

Таблица 2 – Номенклатура антидотов резерва с учетом предоставляемого вида медицинской помощи

Наименование антидота/ токсичное химическое вещество	Использование на этапах медицинской эвакуации			Количество препарата на пораженного
	первичная доврачебная медико-санитарная помощь	первичная врачебная медико-санитарная помощь	специализированная медицинская помощь	
Атропина сульфат (ампулы)* 0,1% – 1 мл в/в (в/м) / ФОС и карбаматы	Может использоваться	До достижения переатропинизации	В режиме поддерживающей атропинизации	До 100 ампул
Ацетилцистеин (ампулы)** 10–20% раствора для инъекций / отравления фосгеном, галогенизированными углеводородными нитрилами, паракватом, солями тяжелых металлов	Не используется	Используется при подтвержденном диагнозе	Используется	До 10 ампул
Ацизол (ампулы, капсулы)* 6% – 1 мл в/м / оксидом углерода	Перорально с профилактической целью за 30 мин до входа в зону загрязнения	Используется в 1 дозе (вводить в 0,5 % растворе новокаина в объеме 1 мл на человека)	Инъекционно до 4 раз в сутки	До 8 ампул, далее – поддерживающая терапия – 14 капсул
Галантамин (ампулы)* 0,5% – 2 мл / отравление ВЗ и холинолитиками	Не используется	Используется	При возобновлении симптоматики	До 5 ампул
Карбоксим (амп.)* 15% – 1 мл в/в (в/м) / поражение фосфорорганическими соединениями	Не используется	Используется в 1 дозе	Используется в 1 дозе	До 2 ампул

Наименование антидота/ токсичное химическое вещество	Использование на этапах медицинской эвакуации			Количество препарата на пораженного
	первичная доврачебная медико- санитарная помощь	первичная врачебная медико-санитарная помощь	специализированная медицинская помощь	
Налоксон (ампулы)* 0,04% – 1 мл в/в (в/м) / при отравлении наркотическими анальгетиками	Может использоваться (начальная доза 1–2 мг п/кожно)	Используется повторно при отсутствии асфиксии и рецидивах проявления отравления	Используется при отсутствии асфиксии	До 3 ампул
Натрия тиосульфат (ампулы)* 30% – 10–20 мл в/в / отравления мышьяком, ртутью, свинцом, цианидом, синильной кислотой, солями йода, брома	Не используется	Используется внутривенно, капельно	Используется внутривенно, капельно	До 5–10 ампул
Пеликсим (шприц- тюбик)* 1 мл в/м / при отравлении фосфорорганическими соединениями	1 шприц-тюбик	1 шприц-тюбик	Не используется	До 2 шприц- тюбиков
Пентацин (ампулы)** 5% – 5 мл в/м / при отравлениях плутонием, иттрием, церием, цинком, кадмием, кобальтом, марганцем, и смесью продуктов деления урана	Не используется	Не используется	После лабораторного подтверждения диагноза (разовая доза 5–30 мл в течение 1–2 сут)	10–20 ампул
Пиридоксин (ампулы)* 5% – 1 мл в/в (в/м) / при отравлении гидразином	Может использоваться	Используется	Используется	До 30 ампул
Уголь активированный (таблетки)* 0,25–0,5 г / при отравлении неизвестным ядом	Может использоваться по 25 г на 100 мл воды	Используется	Используется	До 50 г
Унитиол (ампулы)** 5% – 5 мл в/м / при отравлении ртутью, мышьяком, люизитом	Не используется	Используется	Используется	До 10 ампул
Ферроцин (таблетки)** по 0,5 г / при отравлении радиоизотопами таллия, цезия, рубидия и т.д.	Не используется	Не используется	После уточнения диагноза (перорально по 250 мг/кг в сутки в 4 приема)	До 60 таблеток
Примечания: * Антидоты группы «А». ** Антидоты группы «В».				



Рисунок 2 – Комплект индивидуальный медицинский гражданской защиты¹

¹ Фотография с ресурса URL: <http://ntcpoisk.ru/komplekt-individualnyy-meditsinskiy-grazhdanskoy-zashchity> (дата обращения: 8.10.2018)

Министерства здравоохранения РФ от 5 июня 2017 г. № 298 «О внесении изменений в приложения № 1 и 2 к приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 26 августа 2013 г. № 598 «Об

утверждении Положения о резерве медицинских ресурсов Министерства здравоохранения Российской Федерации для ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций, его номенклатуры и объема»¹.

Ацизол, карбоксим, ферроцин включены в комплект индивидуальный медицинский гражданской обороны (КИМГЗ), принятый на снабжение МЧС и Минздравом² (рисунок 2).

Перечень средств антидотной терапии, включенных в нормы снабжения (запасы) медицинским имуществом соединений, воинских частей и организаций Вооруженных Сил РФ (ВС РФ) на мирное и военное время, определен нормативными актами³, в соответствии с Формуляром лекарственных средств медицинской службы ВС РФ, утвержденным Начальником Главного Военно-медицинского Управления⁴ включает: активированный уголь, аминистигмин, атропин, ацетилцистеин, ацизол, налоксон, карбоксим, натрия тиосульфат, пеликсим, пентацин, пиридостигмин, ферроцин, этанол. Из них пеликсим, ферроцин и пентацин включены в комплекты медицинского имущества для войскового звена медицинской службы ВС РФ⁵ (рисунок 3).



Рисунок 3 – Комплектно-табельное оснащение войскового звена медицинской службы ВС РФ (аптечки первой помощи, сумки медицинские войсковые)

¹ В соответствии с приказом Минздрава России от 5.06.2017 г. № 298 необоснованно сокращена номенклатура антидотов в составе резерва медицинских ресурсов на случай ликвидации последствий ЧС. Исключены из перечня: карбоксим, пеликсим, ферроцин, пентацин, унитиол, налоксон, нивалин.

² Комплектация и порядок использования КИМГЗ определены Приказами Минздрава РФ от 15.02.2013 г. № 70н «Об утверждении требований к комплектации лекарственными препаратами и медицинскими изделиями комплекта индивидуального медицинского гражданской защиты для оказания первичной медико-санитарной помощи и первой помощи» и МЧС России от 23.01.2014 г. № 23 «О внесении изменений в приказ МЧС России от 1.11.2006 № 633 и признании утратившим силу приказа МЧС России от 25.05.2007 г. № 289».

³ Приказ Министра обороны Российской Федерации от 12.08.2013 г. № 590 «Об утверждении норм снабжения медицинским имуществом соединений, воинских частей и организаций Вооруженных Сил Российской Федерации на мирное время». Приказ Министра обороны Российской Федерации от 18.12.2012 г. № 3740 «Об утверждении норм снабжения медицинским имуществом соединений, воинских частей и организаций Вооруженных Сил Российской Федерации и запасов на военное время». Директива Министра обороны Российской Федерации от 3.04.2010 г. № Д-29 «Об утверждении расчетных норм медицинского имущества для оказания медицинской помощи и лечения раненых и больных в военное время».

⁴ Формуляр лекарственных средств медицинской службы ВС РФ. М. – ГВМУ МО РФ. 2010 г.

⁵ Аптечки первой помощи (индивидуальные и групповые), сумки медицинские (первой помощи, фельдшерские войсковые, врачебные войсковые) приняты на снабжение Приказами Министра Обороны РФ № 562 от

**Таблица 3 – Перечень антидотов, рекомендованных МПХБ ВОЗ
и разрешенных к применению в Российской Федерации [7]**

Антидоты, рекомендованные МПХБ ВОЗ	Антидоты, разрешенные к применению в РФ
Амилнитрит	Амилнитрит*
Атропин	Атропина сульфат
Ацетилцистеин	Ацетилцистеин
N-ацетил пеницилламин	-
-	Ацизол
Бензилпенициллин	Бензилпенициллин
Гексацианоферрат калия (Берлинская лазурь С177520)	Гексацианоферрат калия (Ферроцин)
Гидроксикобаламин	-
Глюконат кальция	Глюконат кальция
Глюкагон	Глюкагон
Глюкоза гипертоническая	Глюкоза гипертоническая
Дантролен	-
Дефероксамин	Десферал*
Диазепам	Диазепам
Этилендиаминтетраацетат кобальта (Co-EDTA)	-
Дигоксин-специфические антитела	-
Динатриевая соль этилендиамин-тетраацетата кальция (CaNa ₂ -EDTA)	CaNa ₂ -EDTA - Тетацин кальция*
Димеркапрол	Димеркапрол*
4-диметиламинофенол (4-DMAP)	Антициан*
Изопреналин	Изопреналин*
Кислород	Кислород
Метиленовый синий	Метиленовый синий (хромосмон)*
Метионин	Метионин
4-метилпиразол	-
Налоксон	Налоксон
Неостигмин	Прозерин
Нитропруссид натрия	Нитропруссид натрия*
Нитрит натрия	Нитрит натрия*
Обидоксим	Карбоксим
Пеницилламин	Купренил
Пентетовая кислота (DTPA)	Пентацин
-	Пеликсим
Пиридоксин	Пиридоксин
Протамин сульфат	Протамин сульфат
Сукцимер (DMSA)	Сукцимер*
Тиосульфат натрия	Тиосульфат натрия
Уголь активированный	Уголь активированный
Унитиол (DMPS)	Унитиол
Физостигмин	Аминостигмин* (галантамин)
Фитоменадион (Витамин К-1)	Викасол
Флумазенил	Флумазенил
Фолиновая кислота	Фолиновая кислота
Этанол	Этанол
Примечание: * В настоящее время в РФ не производятся.	

Таблица 4 – Производство антидотов в Российской Федерации [18]

Поражающие факторы	Антидоты	Наличие производства в РФ
Фосфорорганические соединения	Атропина сульфат (амп. 0,1% – 1 мл)	ОАО «Дальхимфарм» и др. предприятия
	Карбоксим (амп. 15% – 1 мл)	ФГУП НПЦ «Фармзащита»
	Пеликсим (1 мл в шприц-тюбике)	ФГУП «Московский эндокринный завод»
Синильная кислота и ее производные	Натрия тиосульфат (амп. 30% – 10 мл)	ОАО «Мосхимфармпрепараты им. Н.А. Семашко» и др. предприятия
Мышьяк-содержащие соединения, ртуть	Унитиол (амп. 5% – 5 мл)	ОАО «Мосхимфармпрепараты им. Н.А. Семашко» и др. предприятия
Тяжелые металлы	Пентацин (амп. 5% – 5 мл)	ФГУП НПЦ «Фармзащита»
Таллий	Ферроцин (табл. по 0,5 г)	ФГУП НПЦ «Фармзащита»
Оксид углерода и продукты горения	Ацизол (амп. 6% – 1 мл)	ООО «Ацизол Девелопмент»
Опиоиды	Налоксон (амп. 0,04% – 1 мл)	ФГУП «Московский эндокринный завод»
Гидразин	Пиридоксина гидрохлорид (амп. 5% – 1 мл)	ОАО «Мосхимфармпрепараты им. Н.А. Семашко» и др. предприятия
Фосгеноподобные соединения, галогенизированные углеводороды	Ацетилцистеин (порошок для раствора)	ОАО «Марбиофарм»

Сравнение перечней антидотов, изложенных в информационно-справочной системе МПХБ ВОЗ и рекомендованных к применению нормативно-правовыми актами РФ, свидетельствует, что номенклатура антидотов как средств оказания экстренной медицинской помощи в рутинной медицинской практике и при возможных массовых отравлениях в условиях ЧС мирного и военного времени в целом согласуется между собой. В таблице 3 представлен сравнительный перечень антидотов, рекомендованных МПХБ ВОЗ и разрешенных к применению в РФ.

Анализ информационных данных о состоянии производства (и импорта) антидотов, рекомендованных к применению на территории РФ, свидетельствует об отсутствии на фармацевтическом рынке России ряда значимых антидотов цианидов (амилнитрит, 4-диметиламинофенол, кальция динатрия ЭДТА, метиленовый синий, натрия нитрит), веществ раздражающего действия, суррогатов алкоголя (отсутствие лекарственной формы 5% раствора этанола для инъекций) [16–18].

В соответствии с приказом Минздрава РФ от 15.11.2012 г. № 925н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи больным с острыми химическими отравлениями», существующая система оказания неотложной специализированной токсикологической помощи предусматривает использование средств специфической (антидотной) терапии. В то же время анализ отчетов центров/отделений острых отравлений (Форма № 64) свидетельствует о крайне низкой их укомплектованности значимыми средствами специфической фармакотерапии [16].

Данные, характеризующие состояние производства основных отечественных антидотов, предназначенных для оказания медицинской помощи при ликвидации чрезвычайных ситуаций мирного и военного времени, представлены в таблице 4.

Перспективы развития системы антидотной терапии в Российской Федерации

На основании анализа состояния научно-технологической и производственной базы, исходя из потенциальных опасностей химической природы, к основным направлениям оптимизации системы антидотной терапии в РФ следует отнести экспериментально-клинические исследования, направленные на разработку и создание инновационных антидотов (либо адаптацию и лицензирование тех или иных фармакопейных лекарственных средств) в качестве:

- антидотов целевого назначения (прежде всего, антидотов цианидов, веществ раздражающего действия, продуктов горения, опиоидов и суррогатов алкоголя);
- средств купирования критических состояний, угрожающих жизни, безотносительно этиологического фактора и особенностей патогенеза острого отравления (токсический отек легких, токсический судорожный синдром);
- антидотов широкого спектра действия, опосредующих активность за счет модификации естественных систем метаболизма и детоксикации ксенобиотиков (на основе модуляторов системы митохондриального окисления, стимуляторов процессов конъюгации и пр.);

22.04.2011 г., № 744 от 21.05.2011 г. Описи комплектов утверждены Приказами начальника Главного Военно-медицинского управления МО РФ № 77 от 12.05.2011 г., № 26 от 25.03.2015 г.

- средств восстановления и сохранения дееспособности при формировании транзиторных реакций токсического генеза (антихолинергический синдром и пр.);

- средств, ускоряющих течение реабилитационного периода и снижающих вероятность развития отдаленных последствий воздействия токсикантов [5, 7, 19–20].

При разработке средств антидотной терапии в интересах военной медицины следует учитывать специфику деятельности военнослужащих, то есть современные медикаментозные средства протихимической защиты должны отвечать определенным требованиям.

По фармакокинетике: быстродействие препарата должно обеспечивать купирование симптомов поражения до развития осложнений или угрожающих жизни состояний, а продолжительность действия – обеспечение сохранения эффектов во время оказания медицинской помощи на этапах эвакуации и при транспортировке пораженных.

По фармакодинамике: спектр защитного действия лекарственных средств должен обеспечивать эффективность их применения при совместном действии с препаратами патогенетической и симптоматической терапии острых химических отравлений.

По эргономике: медицинские средства защиты и средства их введения должны быть интегриро-

ваны в индивидуальную экипировку военнослужащих или в комплектацию групповых аптек, введение лекарственных препаратов – учитывать возможность введения через защитное обмундирование и ингаляционное введение в подмасочное пространство.

Ближнесрочные задачи научно-производственного развития системы антидотной терапии в Российской Федерации связаны [5–7] с:

- окончанием разработки, регистрации и принятия на снабжение отечественных средств антидотной терапии на основе имеющегося экспериментально-технологического обоснования, которое в том или ином объеме выполнено научно-исследовательскими учреждениями РФ (антидоты цианидов, продуктов горения, веществ раздражающего действия, психодислептиков);

- совершенствованием технических средств применения имеющихся антидотов;

- нормативно-правовым урегулированием в сфере обеспечения антидотами медицинских формирований и организаций.

Реализация рассмотренных выше перспективных направлений разработки специальных средства медикаментозной протихимической защиты позволит оптимизировать ресурсное обеспечение функциональных элементов национальной системы радиационно-химической безопасности Российской Федерации.

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 двойное рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Медицинская токсикология: национальное руководство / Под ред. Лужникова Е.А. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. С. 928.
2. Элленхорн М.Дж. Медицинская токсикология: Диагностика и лечение отравлений у человека: Пер. с англ. Т. 1. М.: Медицина, 2003. С. 1004.
3. The Encyclopedia of Poisons and Antidotes / Ed. Turkington C., Mitchell D. New York, 2010. 324 p.
4. Руководство по контролю за ядами. Публикация ВОЗ в сотрудничестве с ЮНЕП и МОТ. Женева, 1998. Т. IX. Пер. с англ. М.: Медицина, 1998. С. 113.
5. Концептуальные подходы к развитию системы антидотного обеспечения Российской Федерации: монография / Под ред. Уйба В.В., Назарова В.Б., Гладких В.Д. М.: Изд-во «Комментарий», 2013. С. 300.
6. Антидотная терапия отравлений

высокотоксичными веществами в условиях чрезвычайных ситуаций. Руководство / Под ред. Гладких В.Д., Сарманаева С.Х., Остапенко Ю.Н. М.: Изд-во «Комментарий», 2014. С. 271.

7. Назаров В.Б., Гладких В.Д., Беловолов А.Ю. Антидотная терапия в системе мероприятий, направленных на ликвидацию медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций: состояние и перспективы развития // Медицина экстремальных ситуаций. 2013. № 1 (43). С. 6–18.

8. Назаров В.Б., Гладких В.Д., Беловолов А.Ю., Николаев В.А. Концептуальные аспекты научнопроизводственного и нормативного развития системы антидотной терапии в Российской Федерации / В кн.: Материалы научно-практической конференции «Состояние и перспективы развития средств медицинской защиты от экстремальных

факторов» М.: 2012. С. 9–22. 9. Остапенко Ю.Н., Николаев В.А., Назаров В.Б., Гладких В.Д. К вопросу определения номенклатуры средств антидотной терапии, предназначенных для ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций химической природы / В кн.: Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы радиационной медицины и промышленной токсикологии». Красноярск, 2012. С. 148–151.

10. Назаров В.Б., Гладких В.Д., Беловолов А.Ю. и др. Роль и место антидотной терапии в системе оказания медицинской помощи при острых производственных отравлениях высокотоксичными химическими веществами / В кн.: Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы медико-санитарного обеспечения химически опасных объектов». Волгоград, 2012. С. 119–124.

11. Гладких В.Д., Чиж И.М., Белых В.Г. Антидотная терапия в системе мероприятий, направленных на ликвидацию медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций // Медицина катастроф. 2015. № 3. С. 29–33.

12. Симоненко В.Б., Сарманаев С.Х., Гладких В.Д., Простакишин Г.П. Острая химическая травма: актуальные вопросы организации оказания экстренной помощи // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2012. Т. 1–2. № 47–48. С. 102–103.

13. Чиж И.М., Гладких В.Д., Белых В.Г. и др. К вопросу формирования резервов средств антидотной терапии для ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций // Кремлевская медицина. Клинический вестник. 2015. № 2. С. 119–124.

14. Методологические аспекты формирования региональных резервов средств специфической фармакотерапии острых отравлений с учетом оценки

потенциального влияния нестационарных факторов воздействия окружающей среды в условиях чрезвычайных ситуаций химической природы: монография / Под ред. Гладких В.Д., Викторова А.А., Назарова В.Б. М.: Изд-во «Комментарий», 2015. С. 272. 2013. С. 300.

15. Концептуальные подходы к развитию антидотного обеспечения РФ / Под ред. Уйба В.В., назарова В.Б., Гладких В.Д. М.: ФМБА, 2013. 304 с.

16. Остапенко Ю.Н., Рожков П.Г., Казачков В.И. и др. Острые отравления в России и состояние токсикологической помощи. // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные направления развития медицинских средств защиты от экстремальных факторов». М. 2017. С. 25–30.

17. Гладких В.Д., Дружков А.В., Баландин Н.В. Состояние и перспективы развития антидотов и противолучевых средств в Российской Федерации // Известия Российской Военно-Медицинской академии, 2017. Т. 36. № 2 (прил. 1). С. 134.

18. Гладких В.Д. Острые отравления аварийноопасными химическими веществами. Диагностика и лечение. Руководство. М.: Изд-во «Комментарий», 2018. С. 264.

19. Гладких В.Д., Белых В.Г., Тимошевский А.А., Чиж И.М. Специальные средства медицинской противохимической и противорадиационной защиты: современное состояние и перспективы развития // Военно-медицинский журнал. 2018. Т. 339. № 1. С. 29–36.

20. Гладких В.Д., Беловолов А.Ю., Баландин Н.В. Нормативно-правовые и научно-производственные аспекты состояния антидотного обеспечения в Российской Федерации // Биомедицинский журнал. 2015. Т. 16, Ст. 2. С. 8–18.

Об авторах

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

Гладких Вадим Дмитриевич. Старший научный сотрудник, д-р мед. наук, проф.

Мурадов Михаил Михайлович. Начальник отдела, канд. хим. наук.

Колосова Наталья Александровна. Старший научный сотрудник, канд. биол. наук.

Касаткин Игорь Константинович. Старший научный сотрудник, канд. техн. наук, доц.

Сластилова Любовь Михайловна. Младший научный сотрудник.

Контактная информация для всех авторов: 27nc_1@mail.ru
Контактное лицо: Гладких Вадим Дмитриевич; 27nc_1@mail.ru

STATUTORY, LEGAL, SCIENTIFIC AND PRODUCTIVE ASPECTS OF CONDITIONS AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT OF ANTIDOTE THERAPY IN THE RUSSIAN FEDERATION

V.D. Gladkikh, M.M. Muradov, N.A. Kolosova, I.K. Kasatkin, L.M. Slastilova

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

The modern period in the development of the world community and the Russian Federation in particular is characterized by the globalization of chemical danger. The increase of chemical hazards is determined by the growing potential of the chemical industry in developed countries, widespread use of highly toxic substances in industry, presence of not destroyed stockpiles of chemical weapons abroad, bolstering terrorist manifestations etc. In these circumstances one of the components of the concept of medical support for chemical safety is the existence of a scientifically based system for the development and application of medical technologies for the treatment and prophylaxis of chemical poisoning. The system of emergency specialized toxicological assistance that exists in the Russian Federation suggests the use of means of antidote therapy. However, the analysis of the reports of centers / departments of acute poisoning indicates the lack of significant means of specific pharmacotherapy there. Also there are no important antidotes to cyanides, irritants or alcohol substitutes on Russia's pharmaceutical market. After the analysis of the state of the scientific, technological and industrial base, as well as the analysis of the potential hazards of a chemical nature, it is necessary to underline, that the main directions for the optimization of the antidote therapy system in the Russian Federation should include experimental and clinical studies aimed at the development and creation of innovative antidotes (or adaptation and licensing of various pharmacopeial drugs). The short-term tasks of research, production and regulatory development of the antidote therapy system in the Russian Federation are connected with the completion of the development, registration and acceptance of domestic means of antidote therapy (antidotes to cyanides, combustion products, irritants, psychodisruptors), improvement of technical means of applying existing antidotes, legal regulations in the sphere of providing access to antidotes for medical units and organizations.

Keywords: aminostigmine; antidote; atropine; acetylcysteine; acizole; highly toxic substances; carboxime; drugs; naloxone; sodium thiosulfate; pelixim; pentacinum; pyridostigmine; reserve of medical materiel; ferrocine; chemical safety; chemical weapons; emergencies.

For citation: Gladkikh V.D., Muradov M.M., Kolosova N.A., Kasatkin I.K., Slastilova L.M. Statutory, legal, scientific and productive aspects of conditions and prospects of development of antidote therapy in the Russian Federation // *Journal of NBC Protection Corps*. 2018. V. 2. № 4. P. 10–21.

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. Medical toxicology: national leadership / Ed. E.A. Luzhnikov. Moscow: GEOTAR-Media, 2012. 928 p. (in Russian).
2. Ellenhorn M. Dzh. Medical toxicology: diagnosis and treatment of human poisoning. Transl. from Engl. V. 1. Moscow: Meditsina, 2003. P. 1004 (in Russian).

3. The Encyclopedia of poisons and antidotes / Ed. Turkington C., Mitchell D. New York, 2010. 324 p.
4. Guideline for poison control. WHO publication. Geneva, 1998. V. IX. Transl. from Engl. M.: Meditsina, 1998. P. 113 (in Russian).
5. Conceptual approaches to the development of the antidote system of the Russian Federation / Ed. Uyba V.V., Nazarov V.B., Gladkikh V.D. M.: «Comment» Publishing House, 2013. P. 300 (in Russian).
6. Antidote therapy of poisoning with highly toxic substances in emergency situations. Guide / Ed. Gladkikh V.D., Sarmanayev S.Kh., Ostapenko Yu.N. M.: «Comment» Publishing House, 2014. P. 271.
7. Nazarov V.B., Gladkikh V.D., Belovolov A.Y. Antidote therapy in protection arrangement system aimed to eliminate medical and sanitary consequences in emergency situations: status and prospects // *Medicine of Extreme Situations*. 2013. № 1 (43). P. 6–18 (in Russian).
8. Nazarov V.B., Gladkikh V.D., Belovolov A.Y., Nikolayev V.A. Conceptual aspects of scientific and legal development of the antidote therapy system in the Russian Federation / In: *Materials of the Scientific and Practical Conference «The State and Prospects for the Development of Medical Protection from Extreme Factors»* Moscow: 2012. P. 9–22 (in Russian).
9. Ostapenko Yu.N., Nikolaev V.A., Nazarov V.B., Gladkikh V.D. On the issue of the determination of the nomenclature of means of antidote therapy intended for the elimination of medical and sanitary consequences of chemical emergencies / In: *Materials of the scientific and practical conference «Actual issues of radiation medicine and industrial toxicology»*. Krasnoyarsk, 2012. P. 148–151 (in Russian).
10. Nazarov V.B., Gladkikh V.D., Belovolov A.Yu. et al. The role and place of antidote therapy in the system of medical care for acute industrial poisoning with highly toxic chemicals / In the book: *Materials of the scientific and practical conference «Actual issues of health care of chemically hazardous facilities»*. Volgograd, 2012. P. 119–124 (in Russian).
11. Gladkikh V.D., Chizh I.M., Belykh V.G. Antidote therapy in the system of measures aimed at eliminating the health consequences of emergency situations // *Medicine of Extreme Situations*. 2015. № 3. P. 29–33 (in Russian).
12. Simonenko V.B., Sarmanayev S.Kh., Gladkikh V.D., Prostakishin G.P. Acute chemical injury: current issues in the organization of emergency assistance // *Health. Medical ecology. The science*. 2012. V. 1–2. No. 47–48. P. 102–103 (in Russian).
13. Chizh I.M., Gladkikh V.D., Belykh V.G. et al. On the issue of the formation of the reserves of means of antidote therapy for the elimination of medical and sanitary consequences of emergency situations // *Kremlin medicine. Clinical Herald*. 2015. No. 2. P. 119–124 (in Russian).
14. Methodological aspects of the formation of regional reserves of means of specific pharmacotherapy of acute poisoning, taking into account the assessment of the potential impact of non-stationary environmental factors in emergency situations of chemical nature: monograph / Ed. Gladkikh V.D., Viktorov A.A., Nazarov V.B. M.: «Comment» Publishing House, 2015. P. 272. 2013. P.300 (in Russian).
15. Conceptual approaches to the development of antidote security of the Russian Federation / Ed. Uyba V.V., Nazarov V.B., Gladkikh V.D. M.: FMBA, 2013. 304 p. (in Russian).
16. Ostapenko Yu.N., Rozhkov P.G., Kazachkov V.I. et al. Acute poisoning in Russia and the state of toxicological assistance. // *Collection of materials of the All-Russian scientific and practical conference «Actual directions of development of medical means of protection against extreme factors»*. M. 2017. P. 25–30 (in Russian).
17. Gladkikh V.D., Druzhkov A.V., Balandin N.V. The state and prospects for the development of antidotes and antiradiation drugs in the Russian Federation // *News of the Russian Military Medical Academy*, 2017. V. 36. No. 2 (Appendix 1). P. 134 (in Russian).
18. Gladkikh V.D. Acute poisoning with hazardous chemicals. Diagnosis and treatment. Guide. M. Publishing House «Comment», 2018. P. 264 (in Russian).
19. Gladkikh V.D., Belykh V.G., Timoshevsky A.A., Chizh I.M. Special means of medical anti-chemical and radiation protection: current status and development prospects // *Military Medical Journal*, 2018. V. 339. № 1. P. 29–36 (in Russian).
20. Gladkikh V.D., Belovolov A.Yu., Balandin N.V. Regulatory, scientific and production aspects of the state of antidote support in the Russian Federation // *Biomedical journal*, 2015. V. 16, 2. P. 8–18 (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.

Gladkikh Vadim Dmitryevich. Senior Researcher. Doctor of Medicinal Sciences, Professor.

Muradov Mikhail Mikhaylovich. Chief of the Department. Candidate of Chemical Sciences.

Kolosova Natalia Aleksandrovna. Senior Researcher. Candidate of Biological Sciences.

Kasatkina Igor Konstantinovich. Senior Researcher. Candidate of Technical Sciences, Associate Professor.

Slastilova Lubov Mikhaylovna. Junior Researcher.

Contact information for all authors: 27nc_1@mil.ru

Contact person: Gladkikh V.D.; 27nc_1@mil.ru

МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОПАСНЫХ И ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ОСНОВАННЫЕ НА АНАЛИЗЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Я.А. Кибирев, С.Е. Бурлачук, А.С. Грудцына,

Д.О. Ситяков, С.Г. Исупов, В.И. Дробков

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

Поступила 17.07.2018 г. Принята к публикации 15.10.2018 г.

Одной из основных задач войск радиационной, химической и биологической защиты при установлении факта биологического заражения является точная и быстрая идентификация вызвавшего заражение возбудителя инфекционной болезни. Среди современных способов идентификации опасных и особо опасных патогенных микроорганизмов этим требованиям наиболее полно удовлетворяют способы, основанные на анализе нуклеиновых кислот. Наиболее пригодным из них для индикации с начальной идентификацией считается метод амплификации ДНК посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для регистрации результатов ПЦР используют электрофоретическое разделение продуктов амплификации, а также детекцию флуоресцентного сигнала по конечной точке (вариант FLASH) или в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Рассмотрены другие варианты амплификации фрагментов ДНК, включая лигазную цепную реакцию (ЛЦР) и изотермическую амплификацию. В статье также описаны способы идентификации микроорганизмов, основанные на секвенировании нуклеиновых кислот, такие как метод мультилокусного сиквенс-типирования (МЛСТ), секвенирование отдельных генов, полногеномное секвенирование. Сделан вывод о том, что выбор методов идентификации микроорганизмов необходимо осуществлять, исходя из целей и задач, материальной базы лаборатории, наличия обученного персонала и объемов финансирования. Несмотря на то, что наиболее информативными являются методы, основанные на секвенировании нуклеотидных последовательностей, в силу своих технологических требований пока их реализация в полевых условиях затруднена.

Ключевые слова: изотермическая амплификация; лигазная цепная реакция; методы идентификации микроорганизмов; мультилокусное сиквенс-типирование; мультилокусный анализ переменных тандемных повторов; полимеразная цепная реакция; полногеномное секвенирование; секвенирование отдельных генов; термостат-амплификатор; флуоресцентные зонды.

Библиографическое описание: Кибирев Я.А., Бурлачук С.Е., Грудцына А.С., Ситяков Д.О., Исупов С.Г., Дробков В.И. Методы идентификации возбудителей опасных и особо опасных инфекционных заболеваний, основанные на анализе нуклеиновых кислот // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2. № 4. С. 22–35.

Идентификация возбудителей инфекционных заболеваний бактериальной природы с минимальными затратами времени и сил – одна

из основных задач биологической защиты войск и населения Российской Федерации. Это особенно актуально в связи с усилением угрозы

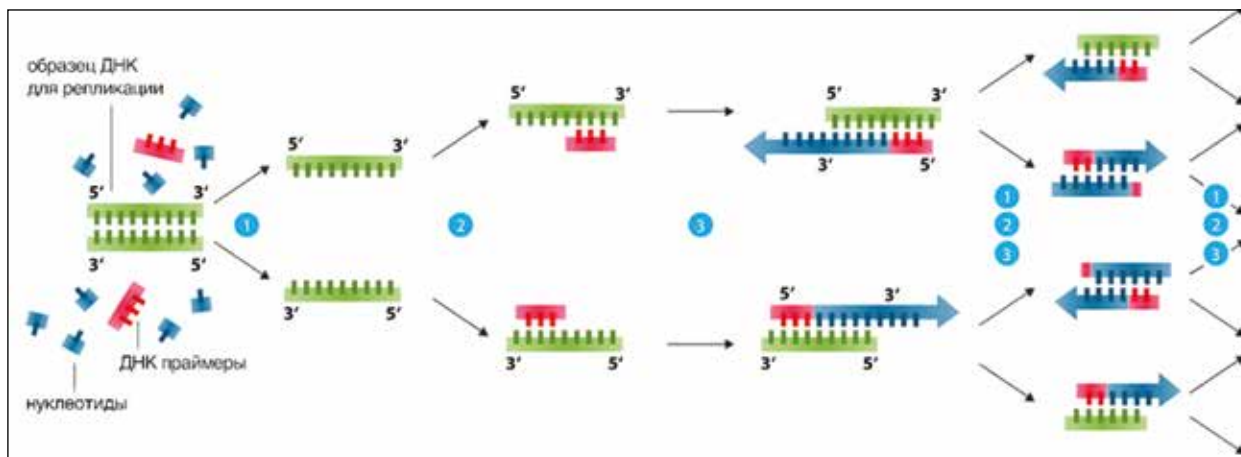


Рисунок 1 – Схема полимеразной цепной реакции

(1 – денатурация при температуре 94–96 °С; 2 – отжиг (гибридизация); 3 – элонгация при 72 °С) [8]

возникновения и распространения опасных и особо опасных инфекций в результате неблагоприятной эпидемической ситуации в мире, наличия природных очагов опасных и особо опасных инфекций на территории Российской Федерации и сопредельных государств, а также функционирования биологически опасных объектов [1–3]. Решение данной задачи непосредственно зависит от наличия эффективных методов идентификации микроорганизмов.

Идентификация микроорганизмов требует использования целого комплекса методов, наиболее информативными из которых являются молекулярно-генетические. Глубина анализа определяется только возможностью и/или целесообразностью привлечения для его проведения дополнительных сил и средств, а также затраченным на всесторонний анализ временем. В процессе идентификации на основании генетических особенностей бактерий устанавливается их видовая и штаммовая принадлежность, наличие или отсутствие генетических детерминант патогенности и т.п. Возможно также установление первоначального источника, из которого произошло заражение, определение эпидемической значимости патогенных бактерий и т.д.

Цель работы – представить методы, основанные на анализе нуклеиновых кислот, которые могут быть использованы для идентификации возбудителей опасных и особо опасных инфекционных заболеваний.

С конца XX века основным молекулярно-генетическим методом, пригодным для целей индикации с начальной идентификацией, является метод амплификации ДНК посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР) [4–7]. Основанная на прямом выявлении специфических нуклеотидных последовательностей в геноме микроорганизмов, не требующая выделения чистой микробной культуры, позволяющая выявлять нежизнеспособные и мертвые, а также феноти-

пически измененные формы микроорганизмов, ПЦР и в настоящее время является одним из основных методов решения задач молекулярной диагностики.

Метод ПЦР с некоторыми отступлениями имитирует естественный процесс копирования ДНК в клетке с участием специального фермента термостабильной ДНК-полимеразы, а также отдельных элементов ДНК – нуклеотидов, необходимых для построения новой ДНК.

При проведении ПЦР копируется не вся ДНК бактерии, а только ее определенная часть, ограниченная находящимися в реакционной смеси праймерами – короткими одноцепочечными синтетическими олигонуклеотидами, комплементарными концевым участкам амплифицируемой области генома микроорганизмов [8]. Схема ПЦР представлена на рисунке 1.

Еще одно отличие от естественного процесса – многократное копирование ДНК в ходе одной реакции. Это обеспечивается благодаря использованию фермента термостабильной ДНК-полимеразы и быстрой циклической сменой температуры реакционной смеси, обеспечиваемой специализированным программируемым термостатом-амплификатором.

С каждым завершенным температурным циклом количество амплифицированных фрагментов ДНК в реакционной смеси увеличивается. В результате к последнему циклу накапливается количество ДНК, достаточное для ее выявления.

Регистрацию результатов ПЦР-анализа в классическом варианте проводят с помощью метода электрофореза в агарозном геле. Реакционная смесь после проведения ПЦР вносится в специальные лунки в агарозном геле. Молекулы ДНК, содержащиеся в реакционной смеси, движутся внутри геля под действием электрического поля со скоростью, зависящей от их размера.

Визуализацию результатов электрофоретического разделения находящихся в реакционной

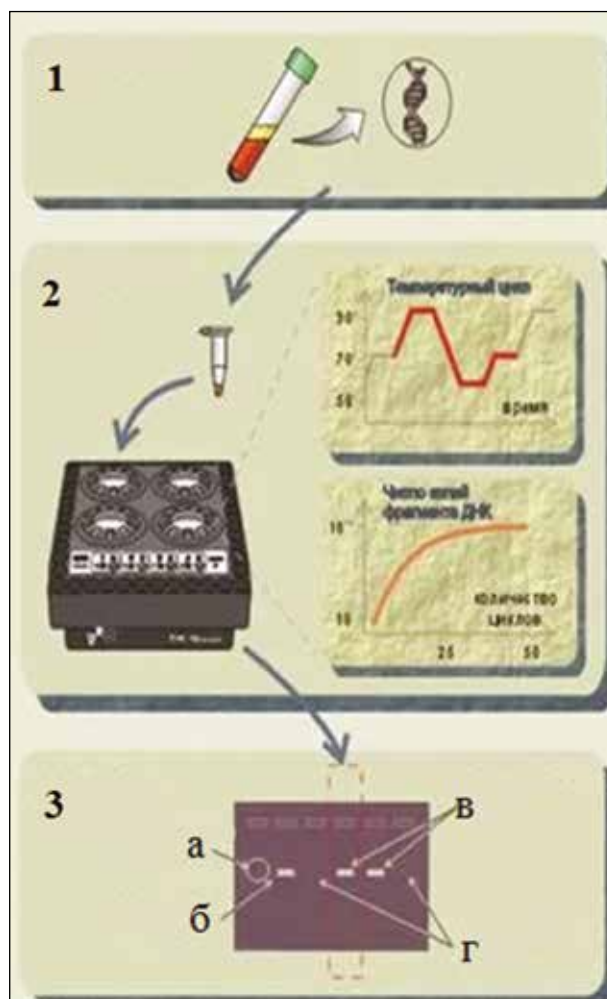


Рисунок 2 – Стадии полимеразной цепной реакции (1 – выделение ДНК; 2 – амплификация; 3 – детекция результатов в агарозном геле, где а – отрицательный контроль, б – положительный контроль, в – положительные образцы, г – отрицательные образцы)¹

¹ URL: <https://studfiles.net/preview/38870-62/page:18>

смеси молекул ДНК осуществляют с использованием специальных флуоресцентных красителей, специфически связывающихся с нуклеиновыми кислотами. При этом определяют наличие амплификата, а также его расчетный размер (по стандартным образцам). Рассмотренные стадии ПЦР представлены на рисунке 2.

Для повышения точности и информативности ПЦР в некоторых случаях могут использоваться различные модификации этого метода [5, 6].

В частности, при подборе соответствующей комбинации олигонуклеотидных праймеров возможно одномоментное, в ходе одной реакции, выявление нескольких генетических детерминант, что позволяет расширить объем получаемой информации, например, определить вид микроорганизма и одновременно оценить его эпидемическую значимость.

При невозможности обеспечить требуемый уровень специфичности возможно проведение так называемой гнездовой ПЦР, в которой последовательно используют две пары праймеров [2]. При этом сначала первой парой праймеров амплифицируется более протяженный участок гена, после чего второй парой праймеров копируется участок гена, расположенный внутри ранее амплифицированной последовательности ДНК.

Еще один метод, используемый для идентификации микроорганизмов и основанный на ПЦР – мультилокусный анализ варибельных тандемных повторов (Multilocus variable number tandem repeat analysis – MLVA) [9]. Этот метод использует варибельность, характерную для участков ДНК, содержащих так называемые тандемные повторы. Участки ДНК, содержащие повторы, часто копируются в бактериальных клетках с ошибками за счет такого явления, как проскальзывание вилок репликации («slipped strand mispairing»). В результате регион удлиняется или укорачивается за счет делеций или инсерций отдельных повторов. Эта изменчивость ДНК может быть легко оценена с помощью ПЦР с фланкирующими праймерами и измерения длины ПЦР-продукта. В случае протяженных повторов для регистрации результатов может быть использован обычный электрофорез в агарозном геле, однако в случае небольших повторов требуется применение более сложных методов (капиллярный электрофорез высокого разрешения или масс-спектрометрия). Количество повторов для каждого из проанализированных локусов преобразуют в цифровой код – своеобразный «генетический шифр», идентифицирующий изучаемую культуру микроорганизма. Выявление отличающихся цифровых кодов у культур бактерий одного вида свидетельствует об их принадлежности к разным штаммам. Совпадение профилей варибельных тандемных повторов (VNTR-профили) исследуемых проб с большей долей вероятности указывает на один штамм.

MLVA в настоящее время успешно применяется для типирования самых разных микроорганизмов [9, 10]. В качестве определенного недостатка метода можно указать необходимость подбора локусов варибельных тандемных повторов для каждого вида микроорганизмов в отдельности. Они должны соответствовать следующим критериям: варибельность, но не гипермутабельность; размер от 10 до 100 п.н.; маленькие повторы, локусы с большим количеством повторов и большие повторы нежелательны; также желательно, чтобы они находились в генетически нейтральных областях во избежание искажения картины вследствие эволюционного давления.

На сегодняшний день существует большое количество баз данных, содержащих информацию о VNTR-профилях различных микроорганизмов. Так, база данных «Genomes, Polymorphisms and MiniSatellites» (GPMS) содержит VNTR-профили около 2000 изолятов *Yersinia pestis*, более 500 – *Bacillus anthracis*, до 1500 – *Yersinia pseudotuberculosis* и т.д.

Ограничение данных методов состоит в том, что различие в VNTR-профилях непосредственно не раскрывает природы, локализации и биологического смысла различия. Так, например, «молчащая» мутация, не приводящая к замене аминокислоты и изменению свойств белка, вполне может привести к изменениям, выявляемым этими методами. Кроме того, методы получения паттернов трудно стандартизовать, а степень их различия не всегда пропорциональна реальной степени различия штаммов.

Несмотря на относительную простоту и универсальность метода, наличие отдельного этапа регистрации результатов ПЦР увеличивает общее время анализа и требует большого количества выполняемых оператором действий. Это повышает вероятность ошибки оператора и, что важнее, значительно повышает риск контаминации оборудования и помещения продуктами амплификации из-за необходимости переноса реакционной смеси из пробирок в агарозный гель, что в дальнейшем может привести к появлению ложноположительных результатов.

Эти недостатки классической ПЦР были преодолены за счет использования для регистрации результатов ПЦР флуоресцентной метки [5, 11]. Существуют две основные модификации метода: регистрация флуоресценции по конечной точке (формат FLASH) и регистрация в режиме реального времени (ПЦР-РВ) (рисунок 3).

Наиболее часто используется вариант ПЦР-РВ, при котором в реакционную смесь вводят третий праймер – зонд, к концам которого ковалентно присоединены молекулы флуорофора и гасителя флуоресценции [11].

В обычном состоянии флуорофор и гаситель флуоресценции на концах этого зонда располагаются вблизи друг от друга и флуоресценции не наблюдается. Во время ПЦР праймеры и зонд присоединяются к ДНК, а фермент ДНК-полимераза расщепляет зонд, находящийся на пути синтеза новой цепи ДНК. Молекулы гасителя и источника флуоресценции при этом освобождаются и становится возможной регистрация флуоресцентного сигнала. Упрощенная схема реакции показана на рисунке 4.

С каждым новым циклом ПЦР освобождаются новые молекулы флуорофора, что приводит к усилению свечения реакционной смеси в геометрической прогрессии. Такая модификация



Рисунок 3 – Различные способы детекции результатов при осуществлении полимеразной цепной реакции (1 – выделение нуклеиновых кислот; 1.1 – обратная транскрипция; 2 – постановка классической ПЦР или ПЦР-РВ; 3 – детекция результатов в формате FLASH или методом электрофореза)¹

¹ URL: <http://agrodiagnostica.ru/pcr/aboutpcr/>

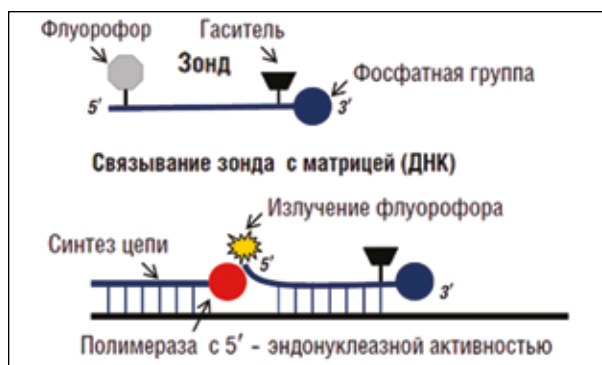


Рисунок 4 – Схема процесса ПЦР-РВ¹

¹ URL: <http://present5.com/sovremennymolekulyarnogeneticheskie-metody-taraskina-anastasiya-evgenevna-zaveduyushaya-nil/>

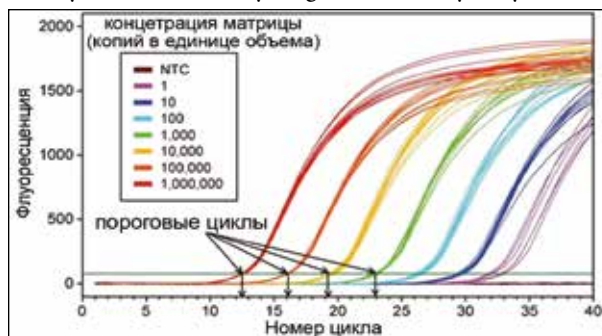


Рисунок 5 – График накопления ДНК в ходе ПЦР-РВ [11]

ПЦР позволяет регистрировать флуоресцентный сигнал непосредственно в пробирке после окончания каждого цикла ПЦР-РВ (рисунок 5) [11].

Единственными условиями для проведения ПЦР-РВ являются наличие специализированных тест-систем и специального прибора – амплификатора, совмещенного с флуориметром. Использование данного прибора для амплификации и регистрации результатов позволяет осуществлять количественный анализ исследуемой пробы, сокращает время анализа, снижает вероятность ошибки оператора и практически исключает риск контаминации оборудования и помещения продуктами амплификации.

Упрощенный вариант ПЦР с детекцией флуоресцентного сигнала – ПЦР в формате Flash [12]. В этом случае амплификация осуществляется на обычном приборе – амплификаторе, а детекция результатов ПЦР производится на специализированном флуоресцентном детекторе. При этом теряется возможность количественного учета результатов ПЦР, однако сокращается по сравнению с электрофоретическим разделением время анализа, снижается вероятность ошибки оператора и риск контаминации оборудования и помещения продуктами амплификации.

Помимо ПЦР, существуют и другие методы, основанные на амплификации ДНК, в частности, лигазная цепная реакция (ЛЦР, LCR – Ligase chain reaction) [13]. Схема ЛЦР представлена на рисунке 6.

Метод ЛЦР основан на последовательных циклах лигирования (соединения) олигонуклеотидных зондов в присутствии фермента ДНК-лигазы. Зонды – короткие цепи ДНК, синтезированные искусственно, подбираются таким образом, чтобы они могли присоединяться к одной и той же цепи ДНК-матрицы встык друг с другом. Любое нарушение гомологии (сродства) зондов с матричной цепью ДНК в области их соединения сразу же предотвращает лигирование.

Существуют различные модификации ЛЦР, в частности, ЛЦР с заполнением бреши, в ходе которой праймеры гибридизуются (соединяются) с ДНК-матрицей на некотором расстоянии друг от друга. Образующаяся брешь застраивается с помощью фермента ДНК-полимеразы, а затем фермент ДНК-лигаза осуществляет лигирование полученных цепочек ДНК в месте стыка.

Особый интерес представляют реакции амплификации ДНК, протекающие в изотермических условиях: амплификация с вытеснением цепи, кольцевая амплификация, амплификация с множественным вытеснением, кросс-праймерная амплификация, полимеразная спиральная реакция, петлевая амплификация и другие [14–26].

Общей особенностью методов изотермической амплификации является то, что при их проведении не требуется циклическая смена температур. Это позволяет отказаться от использования амплификаторов, заменив их простыми термостатами.

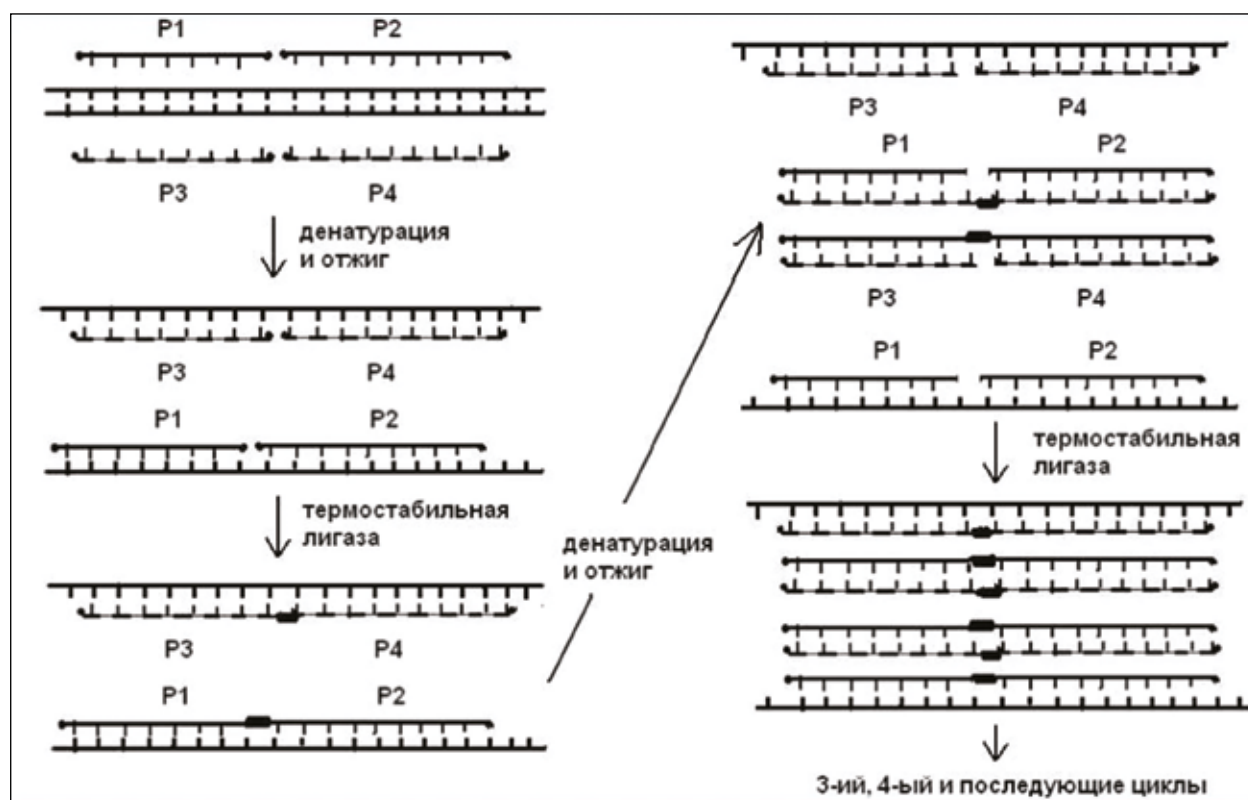


Рисунок 6 – Схема лигазной цепной реакции (P1, P2, P3, P4 – олигонуклеотидные зонды) [13]

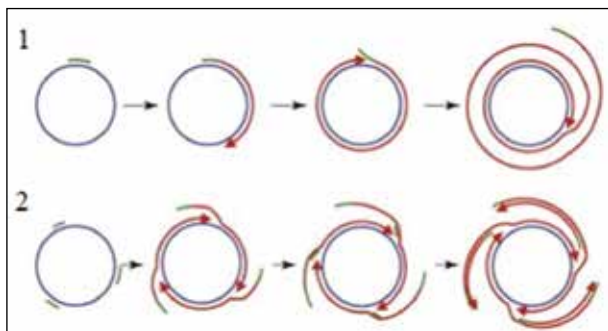


Рисунок 7 – Схема кольцевой амплификации
(1 – с одного праймера; 2 – с нескольких праймеров)
(одноцепочечная ДНК-матрица выделена синим,
праймер – зеленым, вновь синтезированная цепь
ДНК – красным) [18, 19]

Кольцевая амплификация используется для молекулярной диагностики различных инфекционных заболеваний, при поиске нуклеотидных полиморфизмов, применяется для анализа экспрессии генов, амплификации целых геномов и приготовления матрицы для секвенирования [18, 19]. Схема кольцевой амплификации представлена на рисунке 7.

На первом этапе амплификации происходит гибридизация одного или нескольких праймеров на кольцевую матрицу и элонгация с этих праймеров. При этом ДНК-полимераза, полностью амплифицировав матрицу, начинает вытеснять *de novo* синтезированную цепь. Со вновь синтезированной цепью могут снова гибридизироваться праймеры, с которых также идет элонгация.

Другой разновидностью изотермической амплификации является амплификация с множественным вытеснением цепи [16, 20] (рисунок 8).

На первом этапе амплификации происходит гибридизация одного или нескольких праймеров с матричной цепью ДНК и элонгация этих праймеров. При этом ДНК-полимераза, дойдя до 5'-конца следующего праймера, начинает его вытеснять вместе с *de novo* синтезированной цепью. С вновь синтезированной цепью могут гибридизироваться праймеры, которые элонгируются, и так далее.

Несмотря на очевидные преимущества метода, изотермическая амплификация до недавнего времени не нашла широкого распространения на практике, что связано с ее меньшей чувствительностью и большей частотой неспецифических результатов по сравнению с ПЦР. Тем не менее совершенствование методов изотермической амплификации продолжается. В последние несколько лет появились системы цифровой изотермической амплификации [27–30]. Цифровая амплификация, основана на многократном разведении ДНК-матрицы и ее амплификации с единичной молекулы ДНК в каждом реакционном объеме, что позволяет получать результаты, сопоставимые с ПЦР.

Помимо методов, основанных на амплификации ДНК, существуют подходы, позволяющие

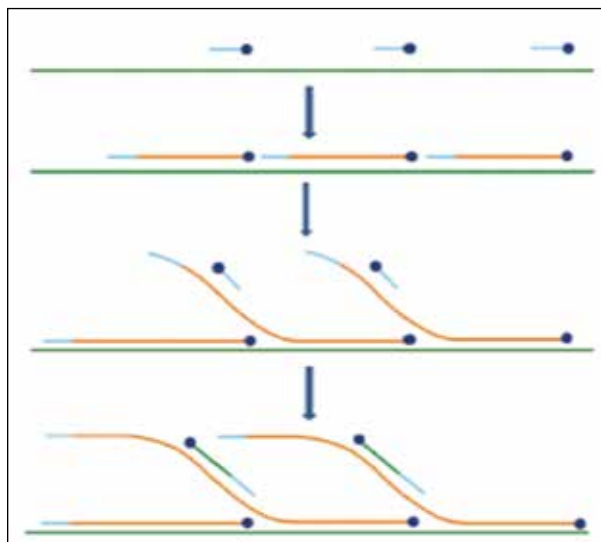


Рисунок 8 – Схема амплификации с множественным вытеснением цепи
(матричная цепь ДНК обозначена зеленым,
праймеры – голубым, ДНК-полимераза – синим, вновь
синтезированная цепь ДНК – оранжевым) [16, 20]

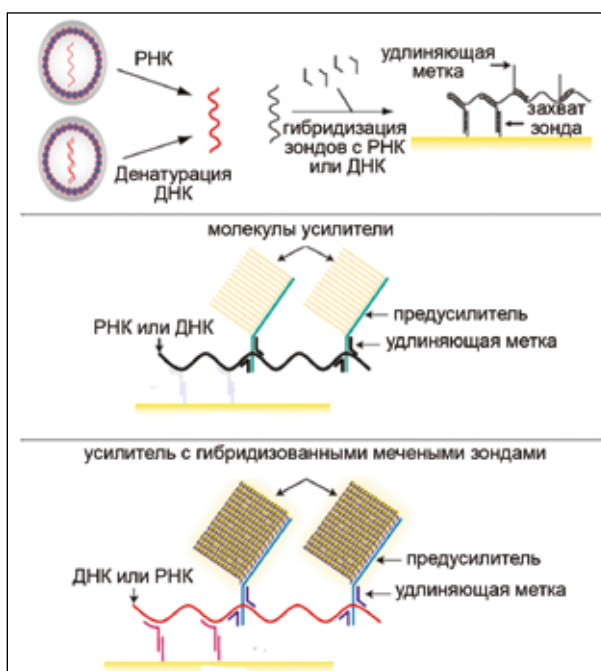


Рисунок 9 – Метод гибридизации с использованием разветвленных зондов [35]

выявлять в пробе специфические фрагменты нуклеиновых кислот без предварительного этапа копирования. К их числу относятся, в частности, метод гибридизации с использованием разветвленных зондов (bDNA, branched DNA), который основан на амплификации получаемого сигнала [31–35] (рисунок 9).

Сам целевой ген, в отличие от ПЦР, не копируется, однако в результате ряда манипуляций к целевому гену патогенной бактерии присоединя-

Рисунок 10 – Биологические микрочипы¹

¹URL: <http://develop.ars-longa.biz/fo-ra.ru/news.php%3Fid=25.html>

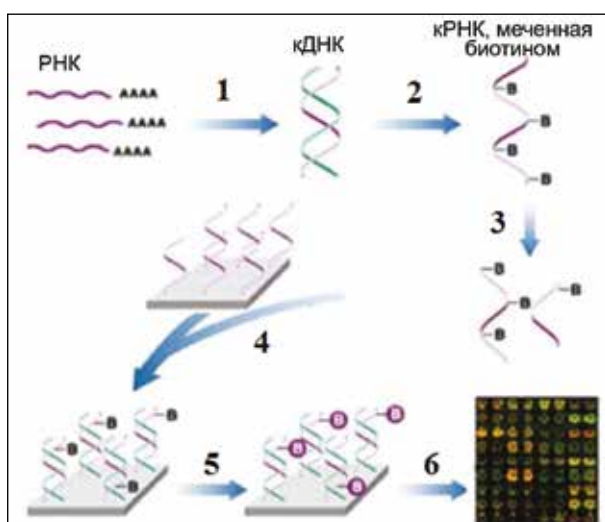


Рисунок 11 – Этапы гибридизации на биочипе
(1 – обратная транскрипция; 2 – транскрипция в условиях *in vitro*; 3 – разделение кРНК на фрагменты; 4 – гибридизация меченых биотином фрагментов кРНК с иммобилизованными на биочипе последовательностями; 5 – окраска и отмывка; 6 – детекция результатов)¹

¹URL: <https://www.studyblue.com/notes/note/n/chapter-9-intro-to-taxonomy/deck/8288135>

ется зонд, с которым ковалентно сшиты несколько флуоресцентных или ферментативных меток. В результате на каждую молекулу целевого бактериального гена приходится по несколько молекул метки, что обеспечивает многократное усиление сигнала, регистрируемого тем или иным способом в ходе исследования

Аналогичная методика используется при разработке биочипов, в основе действия которых – гибридизация (связывание) неизвестной ДНК или РНК с расположенными в определенном порядке зондами, фиксированными на поверхности стекла или кремния [36–38] (рисунок 10).

Результат детектируется по флуоресценции зонда, предварительно меченого флуорофором и

гибридизованного с одной из иммобилизованных проб (рисунок 11).

Наиболее точными и информативными методами идентификации микроорганизмов являются методы, основанные на секвенировании нуклеиновых кислот [39]. Такие методы обеспечивают возможность унификации данных, получаемых с их помощью, в лабораториях, расположенных в различных странах. К настоящему времени созданы и постоянно пополняются общедоступные базы данных, содержащие нуклеотидные последовательности геномов различных микроорганизмов. Сравнение получаемых данных позволяет сделать выводы об особенностях выявленных патогенных бактерий. У данных методов есть ограничение – для проведения анализа бактерий в исследуемой пробе должен присутствовать только один вид бактерий, то есть требуется выделение чистых культур микроорганизмов.

До недавнего времени фактически единственным методом установления нуклеотидной последовательности было секвенирование по Сэнгеру [39, 40]. Данный метод, реализованный в большом количестве автоматических секвенаторов ДНК капиллярного типа, позволяет расшифровывать последовательности ДНК относительно небольшого (до 400–700 нуклеотидов) размера (рисунок 12).

При идентификации микроорганизмов методом секвенирования анализируют консервативные участки генома. Например, это может быть ген 16S рРНК, 23S рРНК или спейсер между ними [36, 41]. После секвенирования полученная нуклеотидная последовательность сравнивается с базами данных, например, GenBank. Метод характеризуется высокой воспроизводимостью, хорошей разрешающей способностью и занимает, как правило, не более двух суток. Однако в некоторых случаях секвенирования одного гена бывает недостаточно для идентификации близкородственных видов.

Дальнейшим развитием идентификации микроорганизмов с помощью секвенирования стало

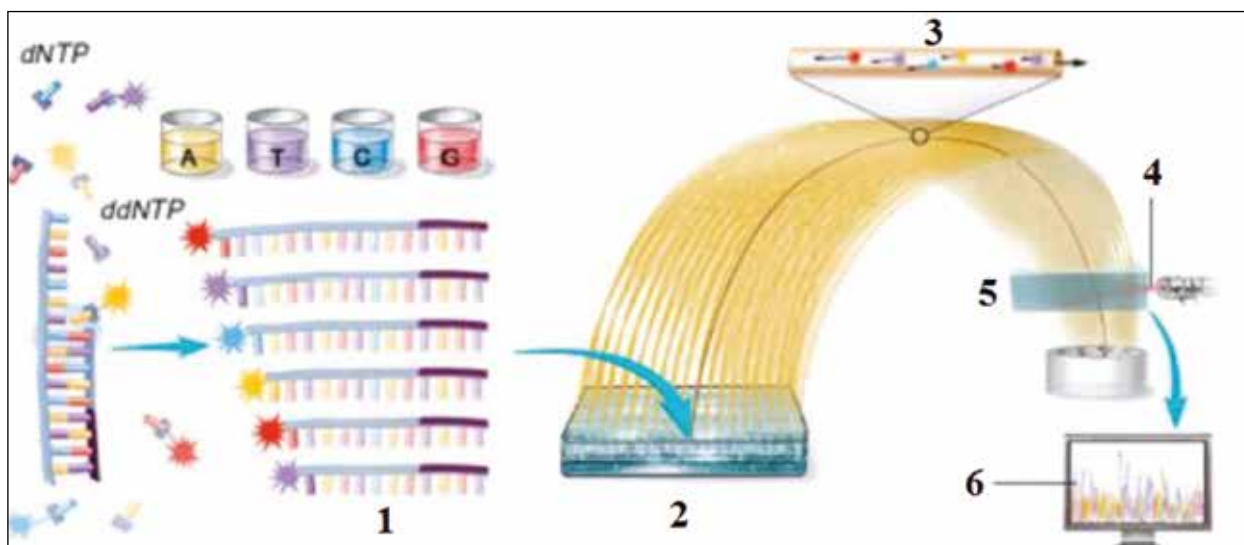


Рисунок 12 – Метод секвенирования по Сэнгеру

(1 – набор фрагментов разной длины; 2 – фрагменты, распределенные по лункам в планшете; 3 – капиллярный электрофорез; 4 – лазерный луч; 5 – окно детектора; 6 – детекция флуоресцентного сигнала)¹

¹ URL: <http://present5.com/problemey-medicinskoj-genetiki-primerno-5/>

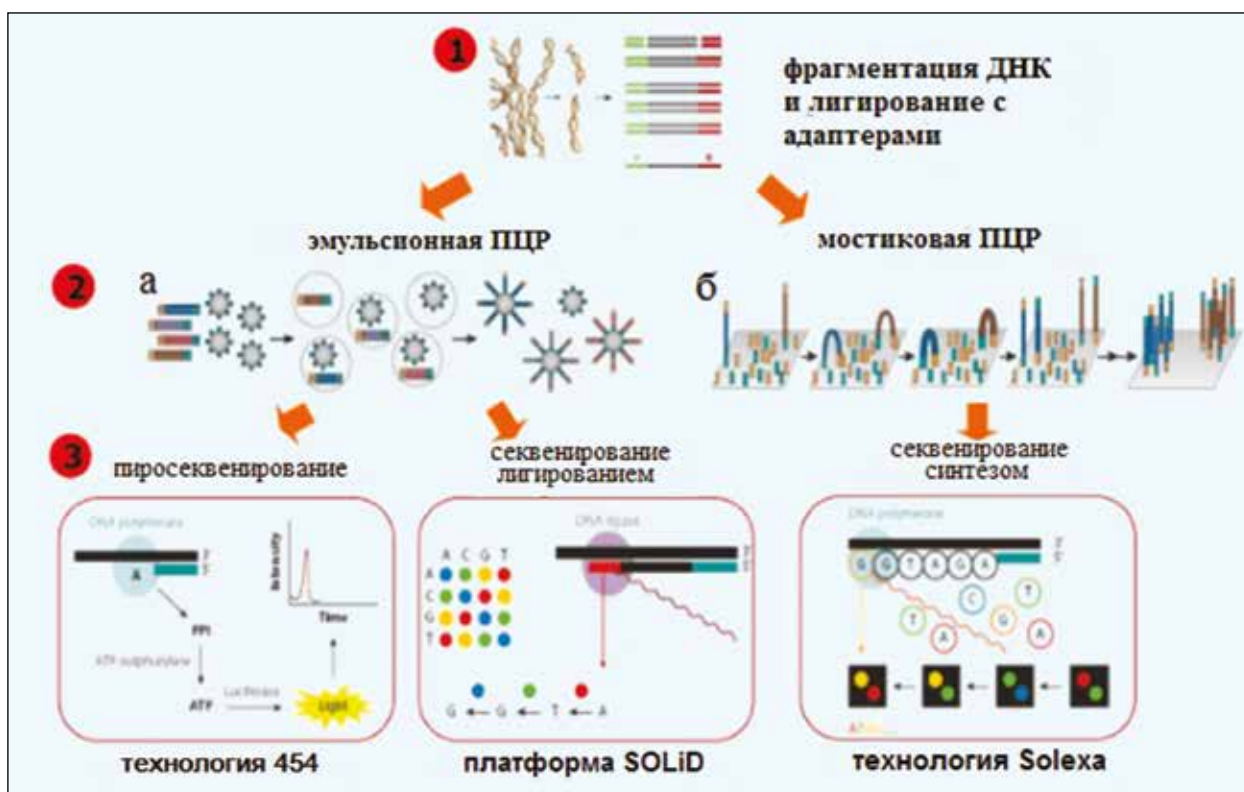


Рисунок 13 – Этапы высокопроизводительного секвенирования

(1 – фрагментация геномной ДНК и присоединение адаптеров; 2 – амплификация каждого фрагмента методом эмульсионной или мостиковой ПЦР; 3 – регистрация акта присоединения нуклеотида)¹

¹ URL: <http://www.coffeetablesience.com/2016/03/-apple-vs-samsung-like-patent-war-in.html>

появление метода мультилокусного сиквенс-типирования (МЛСТ) [42], основанного на прямом установлении нуклеотидной последовательности фрагментов

нескольких определенных генов. Метод включает в себя этапы амплификации выбранных фрагментов генов методом ПЦР, их секвенирование и анализ по-

лученных данных с помощью специализированного программного обеспечения. В настоящее время существуют общедоступные базы данных, содержащие информацию об известных уникальных последовательностях и соответствующих им сиквенс-типах, в частности, PubMLST (более 500 сиквенс-типов *Vibrio cholerae*, 170 сиквенс-типов рода *Yersinia*, в том числе 60 *Yersinia pseudotuberculosis* и др.).

В последние годы были разработаны новые способы секвенирования (пиросеквенирование, секвенирование лигированием, секвенирование синтезом, полупроводниковое секвенирование), производительность которых сделала реальным проведение полногеномного анализа (рисунок 13).

Пиросеквенирование – это метод секвенирования ДНК, основанный на принципе синтеза комплементарной цепочки, при этом регистрируется присоединение каждого нуклеотида. Матрица ДНК иммобилизована, растворы нуклеотидов А, С, G и Т добавляются и отмываются последовательно после каждой реакции. Присоединение каждого комплементарного нуклеотида сопровождается образованием пирофосфата, который детектируется каскадом последовательных химических реакций, заканчивающихся хемилюминесцентным сигналом, что позволяет определить последовательность матрицы. На принципе пиросеквенирования основана технология «454 Life Sciences» компании «Roche» (США) [42, 43].

Секвенирование лигированием основано на использовании набора коротких (8–10 нуклеотидов) флуоресцентно-меченых (с помощью четырех красителей) «вырожденных» праймеров, так что каждому флуорофору соответствует определенный нуклеотид в определенной позиции. Метод секвенирования лигированием используется в коммерческих технологиях «Polonator» компании «Dover/Harvard» (США) и «SOLiD» компании «Life Technologies Thermo Fisher Scientific» (США) [44].

Метод секвенирования синтезом заключается в регистрации факта присоединения очередного флуоресцентно-меченого нуклеотида не по побочным продуктам реакции, а непосредственно по сигналу присоединенного основания. После каждого присоединения нуклеотида и детекции флуоресценции метка химически удаляется из синтезированной цепи. При этом за один цикл реакции может быть добавлен только один нуклеотид. Метод секвенирования синтезом реализован в коммерче-

ских технологиях компаний «Illumia» (США) и «Pacific Biosciences» (США) [45].

Метод полупроводникового секвенирования основан на регистрации акта присоединения нуклеотида по образующимся ионам водорода. Важным отличием данного метода от рассмотренных выше методов высокопроизводительного секвенирования является отсутствие оптического детектора сигнала, что значительно упрощает и удешевляет конструкцию прибора. Детекция образования протона, вызывающего локальное изменение pH раствора, осуществляется специальным сенсором. На принципе полупроводникового секвенирования основана коммерческая технология «Ion Torrent» от компании «Life Technologies Thermo Fisher Scientific» (США) [39].

Необходимым элементом при идентификации возбудителей инфекционных заболеваний методом полногеномного секвенирования является формирование общедоступной базы нуклеотидных последовательностей геномов различных бактерий и установление функций основных генов, определяющих их патогенные свойства.

Подводя итог, необходимо отметить, что материалы данной статьи лишь в небольшой степени раскрывают возможности молекулярной генетики в вопросах выявления и исследования бактериальных патогенов.

Выбор методов идентификации микроорганизмов необходимо осуществлять, исходя из целей и задач, материальной базы лаборатории, наличия обученного персонала и объемов финансирования. Очевидно, что наиболее информативными являются методы, основанные на секвенировании нуклеотидных последовательностей, однако в силу своих технологических требований пока их реализация в полевых условиях достаточно затруднена.

Необходимо также отметить, что молекулярно-генетические методы постоянно развиваются, совершенствуется техническая составляющая исследований, повышается уровень автоматизации, отмечается тенденция к миниатюризации оборудования, а также проведению нескольких анализов в ходе одного исследования. Кроме того, по мере изучения бактерий формируются более полные базы данных, позволяющие как унифицировать проведение анализа, так и идентифицировать все большее число видов и штаммов возбудителей опасных и особо опасных инфекционных 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. Павлов Д.Л., Онучина Н.В., Кузнецовский А.В. и др. Результаты исследования биологических свойств сибиреязвенных изолятов эпизоотии 2016 года в Ямало-Ненецком автономном округе // Вестник войск РХБ защиты. 2017. Т. 1. № 1. С. 23–32.
2. Глухов А.И., Гордеев С.А., Альтшулер М.Л. и др. Применение гнездовой ПЦР в детекции возбудителя чумы // Клиническая лабораторная диагностика. 2003. № 7. С. 47–50.
3. Arnold T., Neubauer H., Nikolaou K. et al. Identification of *Yersinia enterocolitica* in minced meat: a comparative analysis of API 20E, *Yersinia* identification kit and a 16S rRNA-based PCR method // J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health. 2004. V. 51. № 1. P. 23–27.
4. Higuchi R., Dollinger G., Walsh P.S., Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences // Biotechnology. 1992. V. 10. № 4. P. 413–417.
5. Higuchi R., Fockler C., Dollinger G., Watson R. Kinetic PCR analysis: real time monitoring of DNA amplification reactions // Biotechnology. 1993. V. 11. № 9. P. 1026–1030.
6. Dang C., Jayasena S.D. Oligonucleotide inhibitors of Taq DNA polymerase facilitate detection of low copy number targets by PCR // J. Mol. Biol. 1996. V. 264. P. 268–278.
7. Horton R.M., Hoppe B.L., Conti-Tronconi B.M. AmpliGreas: «hot start» PCR using petroleum jelly // Biotechniques. 1994. V. 16. P. 42–43.
8. Kleppe K., Ohtsuka E., Kleppe R. et al. Studies on polynucleotides. XCVI. Repair replications of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases // J. Mol. Biol. 1971. V. 56. № 2. P. 341–361.
9. Her M., Kang S.I., Kim J.W. et al. A genetic comparison of *Brucella abortus* isolates from animals and humans by using an MLVA assay // J. Microbiol. Biotechnol. 2010. V. 20. № 12. P. 1750–1755.
10. Kingston J.J., Tuteja U., Kapil M. et al. Genotyping of Indian *Yersinia pestis* strains by MLVA and repetitive DNA sequence based PCRs // Antonie van Leeuwenhoek. 2009. V. 96. № 3. P. 303–313.
11. Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю. и др. ПЦР в реальном времени / Под ред. Ребрикова Д.В. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. 223 с.
12. Khatami F., Heidari M., Khatami M. Rapid detection of *Escherichia coli* O157: H7 by fluorescent amplification-based specific hybridization (Flash) PCR // Iranian Red Crescent Med. J. 2012. V. 14. № 9. P. 594–598.
13. Gibril A.A., Adel O. Advances in ligase chain reaction and ligation-based amplifications for genotyping assay: detection and applications // Mutation Research/ Reviews in Mutation Research. 2017. V. 773. P. 66–90.
14. Vincent M., Xu Y., Kong H. Helicase-dependent isothermal DNA amplification // EMBO Reports. 2004. V. 5. № 8. P. 795–800.
15. Walker G.T., Fraiser M.S., Schram J.L. et al. Strand displacement amplification – an isothermal, in vitro DNA amplification technique // Nucleic Acids Res. 1992. V. 20, № 7. P. 1691–1696.
16. Dean F.B., Hosono S., Fang L. et al. Comprehensive human genome amplification using multiple displacement amplification // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. № 8. P. 5261–5266.
17. Schweitzer B., Kingsmore S. Combining nucleic acid amplification and detection // Curr. Opin. Biotechnol. 2001. V. 12. № 1. P. 21–27.
18. Wu L., Liu Q., Wu Z., Lu Z. Detection of HIV cDNA point mutations with rolling-circle amplification arrays // Molecules. 2010. V. 15. № 2. P. 619–626. doi: 10.3390/molecules15020619.
19. Maciejewska A., Jakubowska J., Pawlowski R. Whole genome amplification of degraded and nondegraded DNA for forensic purposes // International Journal of Legal Medicine. 2013. V. 127. № 2. P. 309–319.
20. Zong C., Lu S., Chapman A.R., Xie X.S. Genome-wide detection of single-nucleotide and copy-number variations of a single human cell // Science. 2012. V. 338. № 6114. P. 1622–1626. doi: 10.1126/science.1229164.
21. Fang R., Li X., Hu L. et al. Cross-priming amplification for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum specimens // J. Clin. Microbiol. 2009. V. 47. № 3. P. 845–847. doi: 10.1128/JCM.01528-08.
22. Liu W., Dong D., Yang Z. et al. Polymerase Spiral Reaction (PSR). A novel isothermal nucleic acid amplification method // Sci. Rep. 2015. V. 29. № 5. P. 12723. doi: 10.1038/srep12723.
23. Fischbach J., Frohme M., Glokler J. Hinge-initiated Primer-dependent Amplification of nucleic acids (HIP) – a new versatile isothermal amplification method // Sci. Rep. 2017 V. 7. № 1. P. 7683.
24. Aonuma H., Badolo A., Okado K., Kanuka H. Detection of mutation by allele-specific loop-mediated isothermal amplification (AS-LAMP) // Methods Mol. Biol. 2013. V. 1039. P. 121–127. doi: 10.1007/978-1-62703-535-4_10.
25. Fukuta S., Mizukami Y., Ishida A., Kanbe M. Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP)-based SNP markers for shelf-life in melon (*Cucumis melo* L.) // J. Appl. Genet. 2006. V. 47. № 4. P. 303–308.
26. Itonaga M., Matsuzaki I., Warigaya K. Novel methodology for rapid detection of KRAS mutation using PNA-LNA mediated loop-mediated isothermal amplification // PLoS One. 2016. V. 11. № 3. P. e0151654. doi: 10.1371/journal.pone.0151654.
27. Zhu Q., Gao Y., Yu B. et al. Self-priming compartmentalization digital LAMP for point-of-care // Lab Chip. 2012. V. 12. № 22. P. 4755–4763.
28. Blainey P.C., Quake S.R. Digital MDA for enumeration of total nucleic acid contamination // Nucleic Acids Res. 2011. V. 39. № 4. P. e19.
29. Sidore A.M., Lan F., Lim S.W., Abate A.R. Enhanced sequencing coverage with digital droplet multiple displacement amplification // Nucleic Acids Res. 2016. V. 44. № 7. P. e66. doi: 10.1093/nar/gkv1493.
30. Khorosheva E.M., Karymov M.A., Selck D.A., Ismagilov R.F. Lack of correlation between reaction speed and analytical sensitivity in isothermal amplification

reveals the value of digital methods for optimization: validation using digital real-time RT-LAMP // *Nucleic Acids Res.* 2016. V. 44, № 2. P. e10. doi: 10.1093/nar/gkv877.

31. Player A.N., Shen L.P., Kenny D. et al. Single-copy gene detection using branched DNA (bDNA) in situ hybridization // *J. Histochem. Cytochem.* 2001. V. 49. № 5. P. 603–612.

32. Hendricks D.A., Stowe B.J., Hoo B.S. et al. Quantitation of HBV DNA in human serum using a branched DNA (bDNA) signal amplification assay // *Am. J. Clin. Pathol.* 1995. V. 104. № 5. P. 537–546.

33. Collins M.L., Irvine B., Tyner D. et al. A branched DNA signal amplification assay for quantification of nucleic acid targets below 100 molecules/ml // *Nucleic Acids Res.* 1997. V. 25. № 15. P. 2979–2984.

34. Horn T., Chang C., Urdea M.S. Chemical synthesis and characterization of branched oligodeoxyribonucleotides (bDNA) for use as signal amplifiers in nucleic acid quantification assays // *Nucleic Acids Res.* 1997. V. 25. P. 4842–4849.

35. Tsongalis G.J. Branched DNA technology in molecular diagnostics // *Am. Soc. Clin. Pathol.* 2006. V. 126. P. 448–453.

36. Jünemann S., Prior K., Szczepanowski R. et al. Bacterial community shift in treated periodontitis patients revealed by ion torrent 16S rRNA gene amplicon sequencing // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 8. P. e41606.

37. Kunin V., Engelbrektson A., Ochman H., Hugenholtz P. Wrinkles in the rare biosphere: pyrosequencing errors can lead to artificial inflation of diversity estimates // *Environ. Microbiol.* 2010. V. 12. № 1. P. 118–123. doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.02051.x.

38. Пудова Е.А., Чеканова Т.А., Маркелов М.Л. и др. Разработка и апробация ДНК-чипа для индикации возбудителей особо опасных инфекций // *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы.* 2014. № 3. С. 13–19.

39. Ребриков Д.В., Коростин Д.О., Шубина Е.С., Ильинский В.В. NGS: высокопроизводительное секвенирование / Под ред. Ребрикова Д.В. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. 232 с.

40. Sanger F., Nicklen S., Coulson A. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1977. V. 74. № 12. P. 5463–5467.

41. Nossa C.W. Design of 16S rRNA gene primers for 454 pyrosequencing of the human foregut microbiome // *World J. Gastroenterol.* 2010. V. 16. № 33. P. 4135–4144.

42. Maiden M.C., Bygraves J.A., Feil E. et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1998. V. 95. № 6. P. 3140–3145.

43. Abbai N.S., Govender A., Shaik R., Pillay B. Pyrosequence analysis of unamplified and whole genome amplified DNA from hydrocarbon-contaminated groundwater // *Mol. Biotechnol.* 2012. V. 50. № 1. P. 39–40. doi: 10.1007/s12033-011-9412-8.

44. Zhou D., Rao M.S., Walker R. et al. Massively parallel signature sequencing // *Methods Mol. Biol.* 2006. № 331. P. 285–311.

45. Benthley D.R., Balasubramanian S., Swerdlow H.P. et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry // *Nature.* 2008. V. 456. № 7218. P. 53–59. doi: 10.1038/nature07517.

Об авторах

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

Кибирев Ярослав Александрович. Начальник научно-исследовательского отдела, канд. биол. наук.

Бурлачук Сергей Геннадьевич. Научный сотрудник научно-исследовательского отдела.

Грудцына Анна Станиславовна. Научный сотрудник научно-исследовательского отдела, канд. биол. наук.

Ситяков Дмитрий Олегович. Младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела.

Исупов Сергей Геннадьевич. Заместитель начальника научно-исследовательского отдела – начальник группы, канд. мед. наук.

Дробков Владимир Иванович. Научный сотрудник научно-исследовательского отдела, канд. мед. наук.

Контактная информация для всех авторов: 23527@mil.ru

Контактное лицо: Кибирев Ярослав Александрович; 23527@mil.ru

METHODS FOR IDENTIFICATION OF CAUSATIVE AGENTS OF DANGEROUS AND PARTICULARLY DANGEROUS INFECTIONS BASED ON THE ANALYSIS OF NUCLEIC ACIDS

Y.A. Kibirev, S.E. Burlachuk, A.S. Grudcina,

D.O. Sityakov, S.G. Isupov, V.I. Drobkov

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

One of the main tasks of the NBC Protection Troops is accurate and rapid identification of infectious disease causative agents in case of establishing the fact of biological contamination. Different methods based on the analysis of nucleic acids are most preferred for this purpose. Most of them are based on DNA amplification by polymerase chain reaction (PCR). The result is detected by electrophoretic separation of amplification products, as well as by registration of endpoint fluorescent signal (FLASH modification) or in real time (PCR-RT). Other methods of DNA amplification, such as ligase chain reaction (LCR) and isothermal amplification, are also applicable in practice. The article also describes some identification methods based on nucleic acid sequencing: multilocus sequence typing (MLST) method, sequencing of individual genes and complete genome sequencing. It is concluded that the choice of identification method should be based on the goals and objectives, laboratory facilities, availability of trained personnel and funding levels. Despite the fact that the most informative are methods based on sequencing nucleotide sequences, their implementation in the field is difficult so far due to technological requirements.

Keywords: *isothermal amplification; ligase chain reaction; methods of indication of microorganisms; multilocus sequence typing; multilocus variable-number tandem repeat (VNTR) analysis (MLVA); polymerase chain reaction; whole-genome sequencing; sequencing of individual genes; thermostat amplifier; fluorescent probes.*

For citation: *Kibirev Y.A., Burlachuk S.E., Grudcina A.S., Sityakov D.O., Isupov S.G., Drobkov V.I. Methods for identification of causative agents of dangerous and particularly dangerous infections based on the analysis of nucleic acids // Journal of NBC Protection Corps. 2018. V. 2 № 4. P. 22–35.*

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. Pavlov D.L., Onuchina N.V., Kuznetsovskiy A.V., Fomenkov O.O., Tumanov A.S. The results of the research of biological and genetic properties of the anthrax strains isolates during the epizootic 2016 in Yamal-Nenets autonomous district // Journal of NBC Protection Corps. 2017. V 1. № 1. P. 23–32 (in Russian).
2. Gluhov A.I., Gordeyev S.A., Altshuler M.L., Zikov I.E. et al. Using of nest PCR for plague causative agent detection // Clinical laboratory diagnostic. 2003. № 7. P. 47–50 (in Russian).
3. Arnold T., Neubauer H., Nikolaou K. et al. Identification of *Yersinia enterocolitica* in minced meat: a comparative analysis of API 20E, *Yersinia identification* kit and a 16S rRNA-based PCR method // J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health. 2004. V. 51. № 1. P. 23–27.
4. Higuchi R., Dollinger G., Walsh P.S., Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences // Biotechnology. 1992. V. 10. № 4. P. 413–417.
5. Higuchi R., Fockler C., Dollinger G., Watson R. Kinetic PCR analysis: real time monitoring of DNA amplification reactions // Biotechnology. 1993. V. 11. № 9. P. 1026–1030.
6. Dang C., Jayasena S.D. Oligonucleotide inhibitors of Taq DNA polymerase facilitate detection of low copy number targets by PCR // J. Mol. Biol. 1996. V. 264. P. 268–278.
7. Horton R.M., Hoppe B.L., Conti-Tronconi B.M. AmpliGrease: «hot start» PCR using petroleum jelly // Biotechniques. 1994. V. 16. P. 42–43.
8. Kleppe K., Ohtsuka E., Kleppe R. et al. Studies on polynucleotides. XCVI. Repair replications of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases // J. Mol. Biol. 1971. V. 56. № 2. P. 341–361.
9. Her M., Kang S.I., Kim J.W. et al. A genetic comparison of *Brucella abortus* isolates from animals and humans by using an MLVA assay // J. Microbiol. Biotechnol. 2010. V. 20. № 12. P. 1750–1755.
10. Kingston J.J., Tuteja U., Kapil M. et al. Genotyping of Indian *Yersinia pestis* strains by MLVA and repetitive DNA sequence based PCRs // Antonie van Leeuwenhoek. 2009. V. 96. № 3. P. 303–313.
11. Rebrikov D.V., Samatov G.A., Trofimov D.U. et al. Real-time PCR. Moscow: BINOM. Knowledge Lab, 2011. 223 p. (in Russian).
12. Khatami F., Heidari M., Khatami M. Rapid detection of *Escherichia coli* O157: H7 by fluorescent amplification-based specific hybridization (Flash) PCR // Iranian Red Crescent Med. J. 2012. V. 14. № 9. P. 594–598.
13. Gibriel A.A., Adel O. Advances in ligase chain reaction and ligation-based amplifications for genotyping assay: detection and applications // Mutation Research/ Reviews in Mutation Research. 2017. V. 773. P. 66–90.
14. Vincent M., Xu Y., Kong H. Helicase-dependent isothermal DNA amplification // EMBO Reports. 2004. V. 5. № 8. P. 795–800.
15. Walker G.T., Fraiser M.S., Schram J.L. et al. Strand displacement amplification – an isothermal, in vitro DNA amplification technique // Nucleic Acids Res. 1992. V. 20, № 7. P. 1691–1696.
16. Dean F.B., Hosono S., Fang L. et al. Comprehensive human genome amplification using multiple displacement amplification // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. № 8. P. 5261–5266.
17. Schweitzer B., Kingsmore S. Combining nucleic acid amplification and detection // Curr. Opin. Biotechnol. 2001. V. 12. № 1. P. 21–27.
18. Wu L., Liu Q., Wu Z., Lu Z. Detection of HIV cDNA point mutations with rolling-circle amplification arrays // Molecules. 2010. V. 15. № 2. P. 619–626. doi: 10.3390/molecules15020619.
19. Maciejewska A., Jakubowska J., Pawlowski R. Whole genome amplification of degraded and nondegraded DNA for forensic purposes // International Journal of Legal Medicine. 2013. V. 127. № 2. P. 309–319.
20. Zong C., Lu S., Chapman A.R., Xie X.S. Genome-wide detection of single-nucleotide and copy-number variations of a single human cell // Science. 2012. V. 338. № 6114. P. 1622–1626. doi: 10.1126/science.1229164.
21. Fang R., Li X., Hu L. et al. Cross-priming amplification for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum specimens // J. Clin. Microbiol. 2009. V. 47. № 3. P. 845–847. doi: 10.1128/JCM.01528-08.
22. Liu W., Dong D., Yang Z. et al. Polymerase Spiral Reaction (PSR). A novel isothermal nucleic acid amplification method // Sci. Rep. 2015. V. 29. № 5. P. 12723. doi: 10.1038/srep12723.
23. Fischbach J., Frohme M., Glokler J. Hinge-initiated Primer-dependent Amplification of nucleic acids (HIP) – a new versatile isothermal amplification method // Sci. Rep. 2017 V. 7. № 1. P. 7683.
24. Aonuma H., Badolo A., Okado K., Kanuka H. Detection of mutation by allele-specific loop-mediated isothermal amplification (AS-LAMP) // Methods Mol. Biol. 2013. V. 1039. P. 121–127. doi: 10.1007/978-1-62703-535-4_10.
25. Fukuta S., Mizukami Y., Ishida A., Kanbe M. Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP)-based SNP markers for shelf-life in melon (*Cucumis melo* L.) // J. Appl. Genet. 2006. V. 47. № 4. P. 303–308.
26. Itonaga M., Matsuzaki I., Warigaya K. Novel methodology for rapid detection of KRAS mutation using PNA-LNA mediated loop-mediated isothermal amplification / et al. // PLoS One. 2016. V. 11. № 3. P. e0151654. doi: 10.1371/journal.pone.0151654.
27. Zhu Q., Gao Y., Yu B. et al. Self-priming compartmentalization digital LAMP for point-of-care // Lab Chip. 2012. V. 12. № 22. P. 4755–4763.
28. Blainey P.C., Quake S.R. Digital MDA for enumeration of total nucleic acid contamination // Nucleic Acids Res. 2011. V. 39. № 4. P. e19.
29. Sidore A.M., Lan F., Lim S.W., Abate A.R. Enhanced sequencing coverage with digital droplet multiple displacement amplification // Nucleic Acids Res. 2016. V. 44. № 7. P. e66. doi: 10.1093/nar/gkv1493.
30. Khorosheva E.M., Karymov M.A., Selck D.A.,

- Ismagilov R.F. Lack of correlation between reaction speed and analytical sensitivity in isothermal amplification reveals the value of digital methods for optimization: validation using digital real-time RT-LAMP // *Nucleic Acids Res.* 2016. V. 44, № 2. P. e10. doi: 10.1093/nar/gkv877.
31. Player A.N., Shen L.P., Kenny D. et al. Single-copy gene detection using branched DNA (bDNA) in situ hybridization // *J. Histochem. Cytochem.* 2001. V. 49. № 5. P. 603–612.
32. Hendricks D.A., Stowe B.J., Hoo B.S. et al. Quantitation of HBV DNA in human serum using a branched DNA (bDNA) signal amplification assay // *Am. J. Clin. Pathol.* 1995. V. 104. № 5. P. 537–546.
33. Collins M.L., Irvine B., Tyner D. et al. A branched DNA signal amplification assay for quantification of nucleic acid targets below 100 molecules/ml // *Nucleic Acids Res.* 1997. V. 25. № 15. P. 2979–2984.
34. Horn T., Chang C., Urdea M.S. Chemical synthesis and characterization of branched oligodeoxyribonucleotides (bDNA) for use as signal amplifiers in nucleic acid quantification assays // *Nucleic Acids Res.* 1997. V. 25. P. 4842–4849.
35. Tsongalis G.J. Branched DNA technology in molecular diagnostics // *Am. Soc. Clin. Pathol.* 2006. V. 126. P. 448–453.
36. Jünemann S., Prior K., Szczepanowski R. et al. Bacterial community shift in treated periodontitis patients revealed by ion torrent 16S rRNA gene amplicon sequencing // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 8. P. e41606.
37. Kunin V., Engelbrektson A., Ochman H., Hugenholtz P. Wrinkles in the rare biosphere: pyrosequencing errors can lead to artificial inflation of diversity estimates // *Environ. Microbiol.* 2010. V. 12. № 1. P. 118–123. doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.02051.x.
38. Pudova E.A., Chekanova T.A., Markelov M.L., Dedkov V.G. et al. Development and testing of a DNA microarray for identification of particularly dangerous infectious pathogens // *Epidemiology and infectious diseases. Actual issues.* 2014. № 3. P. 13–19 (in Russian).
39. Rebrikov D.V., Korostin D.O., Shubina E.S., Ilyinsky V.V. NGS: high-throughput sequencing. Moscow: BINOM. Knowledge Lab, 2015. 232 p. (in Russian).
40. Sanger F., Nicklen S., Coulson A. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1977. V. 74. № 12. P. 5463–5467.
41. Nossa C.W. Design of 16S rRNA gene primers for 454 pyrosequencing of the human foregut microbiome // *World J. Gastroenterol.* 2010. V. 16. № 33. P. 4135–4144.
42. Maiden M.C., Bygraves J.A., Feil E. et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1998. V. 95. № 6. P. 3140–3145.
43. Abbai N.S., Govender A., Shaik R., Pillay B. Pyrosequence analysis of unamplified and whole genome amplified DNA from hydrocarbon-contaminated groundwater // *Mol. Biotechnol.* 2012. V. 50. № 1. P. 39–40. doi: 10.1007/s12033-011-9412-8.
44. Zhou D., Rao M.S., Walker R. et al. Massively parallel signature sequencing // *Methods Mol. Biol.* 2006. № 331. P. 285–311.
45. Benthley D.R., Balasubramanian S., Swerdlow H.P. et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry // *Nature.* 2008. V. 456. № 7218. P. 53–59. doi: 10.1038/nature07517.

Authors

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

Kibirev Yaroslav Aleksandrovich. Chief of the Scientific and Research Department. Candidate of Biological Sciences.

Burlachuk Sergey Gennadyevich. Researcher of the Scientific and Research Department.

Grudcina Anna Stanislavovna. Researcher of the Scientific and Research Department. Candidate of Biological Sciences.

Sityakov Dmitry Olegovich. Junior researcher of the Scientific and Research Department.

Isupov Sergey Gennadyevich. Deputy Chief of the Scientific and Research Department. Candidate of Medical Sciences.

Drobkov Vladimir Ivanovich. Researcher of the Scientific and Research Department. Candidate of Medical Sciences.

Contact information for all authors: 23527@mil.ru

Contact person: Kibirev Yaroslav Aleksandrovich; 23527@mil.ru

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ОБНАРУЖЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ДНК ТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* ТИПОВ А, В, Е МЕТОДОМ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

Д.С. Янов, А.В. Кузнецовский, М.Ю. Дубровин, А.В. Миронин,
Н.В. Онучина, А.В. Филиппов

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

Поступила 17.07.2018 г. Принята к публикации 15.10.2018 г.

Бактерия *Clostridium botulinum* вызывает у человека опасную токсикоинфекцию – ботулизм. Летальность при ботулизме в случаях несвоевременного обращения за медицинской помощью достигает 70% от количества заболевших. В основе патогенеза ботулизма лежит поражение центральной нервной системы токсином, продуцируемым *C. botulinum*. В настоящее время известно 7 антигенных типов такого токсина. Ботулотоксин входит в группу биологических агентов, наиболее вероятных в качестве средств биотерроризма. Так как ботулинический нейротоксин представляет собой сложный нуклеопротеиновый комплекс и следы ДНК могут быть обнаружены даже в очищенных препаратах токсина, мы разработали способ обнаружения и идентификации токсигенных штаммов *Clostridium botulinum* типов А, В, Е, наиболее часто вызывающих ботулизм у человека, основанный на выявлении остаточных количеств этой ДНК в ботулиническом токсине с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Основным препятствием для разработки способа обнаружения и идентификации ДНК токсигенных штаммов стала высокая вариабельность генов, ответственных за синтез ботулотоксина. Нами установлен участок гена, обладающий наименьшей гомологией у всех штаммов. Этому требованию отвечал фрагмент гена *bont*, кодирующий легкую цепь нейротоксина и обладающий высокой консервативностью в пределах штаммов *C. botulinum*, продуцирующих один тип токсина. Представлены результаты по определению аналитической чувствительности и специфической активности разработанного способа. Специфичность определения составила 100%, аналитическая чувствительность метода – 1×10^2 м.к./мл. Способ может быть использован для анализа продуктов питания, образцов клинических материалов и проб из окружающей среды, подозрительных на контаминацию токсигенными штаммами *C. botulinum*.

Ключевые слова: *Clostridium botulinum*; биотерроризм; ботулизм; ботулинический токсин; ген *bont*; гибридизационно-флуоресцентная детекция; нуклеопротеиновый комплекс; пороговый цикл; ПЦР в реальном времени.

Библиографическое описание: Янов Д.С., Кузнецовский А.В., Дубровин М.Ю., Миронин А.В., Онучина Н.В., Филиппов А.В. Разработка способа обнаружения и идентификации ДНК токсигенных штаммов *Clostridium botulinum* типов А, В, Е методом ПЦР в реальном времени // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2, № 4. С. 36–43.

Возбудитель ботулизма *Clostridium botulinum* – анаэробная подвижная грамотрицательная палочка, относящаяся к семейству *Bacillaceae*. По антигенным свойствам продуци-

руемых токсинов штаммы *C. botulinum* подразделяют на 7 типов – А, В, С, D, Е, F и G. Ботулизм у человека вызывают четыре из них – типы А, В, Е и в редких случаях F.

Ботулизм – остро протекающее тяжелое токсико-инфекционное заболевание, характеризующееся поражением центральной нервной системы, которое проявляется парезами и параличами поперечнополосатой и гладкой мускулатуры, иногда в сочетании с синдромами гастроэнтерита. Летальность при ботулизме в случаях несвоевременного обращения за медицинской помощью достигает 70% [1].

Российские санитарно-эпидемические правила СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)» относят ботулинические токсины ко II группе патогенности. Поскольку ботулотоксины вызывают специфическое поражение не только при попадании в желудочно-кишечный тракт, но и через слизистые оболочки глаз, дыхательные пути и поврежденные кожные покровы, они рассматриваются в качестве агентов для осуществления биологических террористических актов, вероятность их использования оценивается специалистами как весьма высокая [2]. Согласно методическим рекомендациями МР 0100/3556-04-34 «Взаимодействие органов управления, учреждений и специализированных формирований при ликвидации последствий террористических актов с применением патогенных биологических агентов и опасных химических веществ», ботулотоксин входит в группу биологических агентов, наиболее вероятных в качестве средств биотерроризма. При этом в качестве первоочередных медико-биологических мер противодействия его террористическому применению отмечается необходимость «разработки недорогого метода экспресс-диагностики ботулиновых токсинов и кодирующих их генов» [3].

«Золотым стандартом» обнаружения ботулотоксинов является биологическая проба, в том числе с типоспецифическими антитоксическими сыворотками, на белых мышах, имеющая чувствительность около 1 нг. Постановка окончательного диагноза может занять несколько суток [1]. Однако из-за относительно короткого инкубационного периода (от нескольких часов до нескольких суток) и высокой летальности для эффективного лечения огромное значение имеет ранняя лабораторная диагностика. В связи с этим разработка экспресс-методов лабораторной диагностики ботулизма является весьма актуальной задачей.

ПЦР для детекции ДНК токсигенных штаммов *C. botulinum* используют достаточно давно, при этом показана высокая эффективность данного подхода [4–8]. Кроме того, поскольку ботулинические нейротоксины пред-

ставляют собой сложные нуклеопротеиновые комплексы, следы ДНК могут быть обнаружены даже в очищенных препаратах токсина и являются надежным маркером присутствия ботулотоксина в подозрительном образце [9, 10].

Ввиду этого представляется целесообразным разработать способ обнаружения и идентификации ДНК токсигенных штаммов *Clostridium botulinum* типов А, В, Е методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ).

Материалы и методы

В работе использованы следующие штаммы микроорганизмов: *Clostridium botulinum* 234 А, *Clostridium botulinum* 506 В, *Clostridium botulinum* 516 Е, *Clostridium botulinum* 498 (атоксигенный), *Clostridium botulinum* 113 С, *Clostridium botulinum* 283 D, *Clostridium botulinum* 341 F, *Clostridium botulinum* 123 G; *Legionella pneumophila* Philadelphia 1; *Yersinia pestis* EB линии НИИЭГ; *Vibrio cholerae cholerae* 493; *Bacillus anthracis* СТИ-1; *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ; *Burkholderia mallei* Ц-5; *Burkholderia pseudomallei* C-141; *Brucella melitensis* 21; *Listeria monocytogenes* 1Сг; *Escherichia coli* 803; *Shigella sonnei* 941; *Streptococcus aureus*; *Pseudomonas fluorescens* 78Г, полученные из коллекции микроорганизмов филиала ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Минобороны России (г. Киров).

Микробные культуры штаммов возбудителей ботулизма, близкородственных и гетерологичных видов бактерий выращивали в жидких питательных средах в условиях, оптимальных для роста соответствующего вида микроорганизма. Полученные бульонные культуры переносили в центрифужные пробирки и центрифугировали при частоте вращения ротора 6000 об./мин в течение 10 мин. Клеточный осадок ресуспендировали в физиологическом растворе NaCl до концентрации 10 единиц по отраслевому стандартному образцу мутности ГИСК им. Л. А. Тарасевича (ОСО 42-28-59-86П), что соответствует 1×10^9 микробных клеток (м.к.)/мл. Затем делали 10-кратные серийные разведения подготовленных суспензий в физиологическом растворе до концентраций 1×10^5 , 1×10^4 , 1×10^3 , 1×10^2 и 10 м.к./мл.

Подготовку бактериальных штаммов для выделения ДНК проводили согласно МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–II групп патогенности». Для выделения бактериальной ДНК из подготовленных суспензий бактериальных клеток и препаратов ботулинических токсинов использовали набор реагентов для выделения ДНК и РНК из клинических образцов и объектов окружающей среды (на магнитных частицах)

Таблица 1 – Консенсусные последовательности участков генома, использованные в качестве ДНК-мишеней при разработке способа обнаружения и идентификации ДНК токсигенных штаммов *Clostridium botulinum* типов A, B, E методом ПЦР-РВ

Область генома	5'–3' последовательность	Размер участка, п.н.
<i>bontA</i>	TGTTTTGAGGAGTCACTTGAAGTTGATACAAATCCTCTTTAGGTGCAGGCAAA TTTGCTACAGATCCAGCAGTAACATTAGCACATGAACCTATACATGCTGGACATAG ATTATATGGAATAGCAATTAATCCAAATAGGGTTTTAAAGTAAATACTAATGCCTA TTATGAAATGAGTGGGTTAGAAGTAAGCTTTGAGGAACCTAGAACATTTGGGGG ACATGA	228
<i>bontB</i>	CAAGAAAACAAAGGCGCAAGTATATTTAATAGACGTGGATATTTTCAGATCCAGC CTTGATATTAATGCATGAACCTATACATGTTTACATGGATTATATGGCATTAAGTA GATGATTTACCAATTGTACCAATGAAAAAAATTTTATGCAATCTACAGATGCT ATACAGGCAGAAGAACTATATACATTTGGAGGACAAGATCCCAG	215
<i>bontE</i>	ATAATGGGAGCAGAGCCTGATTATTTGAAACTAACAGTTCCAATTTCTCTAAG AAATAATTATATGCCAAGCAATCACCGTTTTGGATCAATAGCTATAGTAACATTCT CACCTGAATATTCTTTAGATTAAATGATAATTGTATGAATGAATTTATTCAAGATC TCGCTCTTACATTAATGCATGAATTAATACATTACATGGACTATATGGGGCTA AAGGG	231

(«СИНТОЛ», Россия) в соответствии с инструкцией по применению.

Реакцию амплификации с детекцией продуктов в режиме реального времени проводили на приборе «АНК-32» («СИНТОЛ», Россия). Результаты ПЦР регистрировали по оптическим каналам R6G/Yellow (530 нм / 555 нм), Rox/Orange (585 нм/610 нм), и Fam/Green (470 нм/510 нм). Для детекции продуктов амплификации использовали зонды в формате TaqMan Assay.

Дизайн праймеров и зондов к подобранным ДНК-мишеням осуществляли с использованием программного обеспечения «Primer Express» («Applied Biosystems», США). Предварительную оценку специфичности праймеров, ампликонов и зондов проводили с помощью on-line программы «BLAST».

Оптимизацию условий проведения ПЦР-РВ проводили по температуре отжига праймеров, концентрации в реакционной смеси праймеров, зондов и ионов Mg^{2+} .

Результаты и обсуждение

Анализ баз данных секвенированных генетических последовательностей штаммов *C. botulinum* показал высокую вариабельность генов, ответственных за синтез ботулотоксина. В связи с этим существующие методы, основанные на ПЦР, не всегда позволяют надежно идентифицировать все штаммы в пределах каждого типа ботулотоксина.

При разработке ПЦР-методов для индикации и идентификации возбудителей опасных инфекций в качестве маркерных чаще всего используют генетические детерминанты, являющиеся высокоспецифичными и консервативными для данного вида бактерий и отсутствующие у близкородственных микроорганизмов. Очевидно, что в случае с токсигенными штаммами *C. botulinum* при выборе генетических маркеров

был рассмотрен кластер генов, ответственный за синтез белкового комплекса ботулотоксина (*bont*, *ntnt*, *botR*, *ha70*, *ha17* и др.) [11]. При этом особое внимание было уделено гену *bont*, определяющему тип продуцируемого токсина и являющегося естественным генетическим маркером при выборе праймеров. Нуклеотидные последовательности генов *bontA*, *bontB*, *bontC*, *bontD*, *bontE*, *bontF* и *bontG* были проанализированы с применением приложения «MegAlign» программы «Lasergene» («DNASTAR», США). Основной задачей было установить участок гена, обладающий наименьшей гомологией у всех штаммов. Этому требованию отвечал фрагмент гена *bont*, кодирующий легкую цепь нейротоксина и обладающий высокой консервативностью в пределах штаммов *C. botulinum*, продуцирующих один тип токсина [8]. Консенсусные последовательности участков генов *bontA*, *bontB* и *bontE* *C. botulinum*, использованные в качестве ДНК-мишеней, представлены в таблице 1.

Выбранные олигонуклеотидные праймеры и зонды представлены в таблице 2.

На первом этапе были проведены моноплексные ПЦР для каждого канала детекции отдельно с целью определения оптимального диапазона флуоресцентного сигнала, достаточного для детекции специфической флуоресценции и не перекрывающегося с сигналами других детектируемых каналов, а также выбора программы амплификации и соотношения концентрации праймеров и зонда в каждой реакционной смеси, не дающих повышенной фоновой флуоресценции.

При подборе оптимальных условий проведения ПЦР-РВ как в моно-, так и в мультиплексном формате определяли следующие параметры реакции: состав реакционной смеси – концентрация праймеров, зондов, Taq-полимеразы, ионов Mg^{2+} ; программу амплификации – температура отжига праймеров, продолжительность

Таблица 2 – Структура праймеров и зондов для индикации и типирования штаммов *C. botulinum* с помощью ПЦР-РВ

Название	Последовательность	Размер, нуклеотидов
BotA-F	TGG-TTT-TGA-GGA-GTC-ACT-TGA-A	22
BotA-R	TCA-TGT-CCC-CCA-AAT-GTT-CT	20
BotB-F	CAA-GAA-AAC-AAA-GGC-GCA-AG	20
BotB-R	CTG-GGA-TCT-TGY-CCT-CCA-AA	20
BotE-F	ATA-ATG-GGA-GCA-GAG-CCT-GA	20
BotE-R	CCC-TTT-AGC-CCC-ATA-TAG-TCC	21
BotA-Z	(R6G)TG-CAG-GCA-AAT-TTG-CTA-CAG-ATC-CA(BHQ2)	25
BotB-Z	(ROX)CG-TGG-ATA-TTT-TTC-AGA-TCC-AGC-CTT-G(BHQ2)	27
BotE-Z	(FAM)TG-CCA-AGC-AAT-CAC-GGT-TTT-GG(RTQ1)	22

Таблица 3 – Аналитическая чувствительность мультимплексной ПЦР-РВ

Концентрация, м.к./мл	Значения Ct (пороговый цикл) по детектируемым каналам (зонд):		
	R6G (BotA-Z)	ROX (BotB-Z)	FAM (BotE-Z)
1×10 ⁵	16,1	14,3	19,8
1×10 ⁴	22,2	20,4	22,7
1×10 ³	25,5	24,3	27,4
1×10 ²	32,0	31,0	32,0
10	-	-	-

Примечание
«-» – сигнал отсутствует.

каждого шага цикла амплификации, количество циклов, длительность предварительной денатурации. Далее, используя данные, полученные при проведении моноплексных реакций, был подобран состав реакционной смеси для мультимплексной ПЦР-РВ, обеспечивающий стабильное нарастание уровня флуоресценции по каналу детекции (Orange, Green или Yellow), не приводящее к искажению сигнала по другим каналам.

Оптимизированный состав реакционной смеси включал следующие компоненты: 10× Taq буфер без ионов Mg²⁺ («СибЭнзим», Россия) – конечная концентрация 1×; 50 мМ раствор MgCl₂ – конечная концентрация 3,5 мМ; 5 мМ раствор dNTP – конечная концентрация каждого 0,2 мМ; смесь праймеров – конечная концентрация каждого 0,5 мкМ; смесь зондов – конечная концентрация каждого 200 нМ; Taq ДНК-полимераза – конечная концентрация 0,25 ед. активности/мкл; вода для ПЦР.

Оптимальную температуру отжига праймеров определяли постановкой ПЦР-РВ с десятикратными разведениями положительных контрольных образцов с градиентом температур отжига: 50, 53, 55, 59, 62 и 65 °С. Как моноварианты постановки ПЦР-РВ, так и постановка ПЦР-РВ в мультимплексном формате показали наибольшую чувствительность определения ДНК-мишени в реакционной смеси при температуре отжига праймеров 60 °С. В дальнейшей работе приме-

няли оптимизированный температурно-временной протокол проведения реакции амплификации, состоящий из денатурации при температуре 95 °С в течение 5 мин и 45 циклов, каждый из которых включает денатурацию ДНК при температуре 94 °С в течение 10 с, отжиг праймеров при температуре 60 °С в течение 25 с, синтез комплементарной цепи при температуре 72 °С в течение 25 с.

Учет флуоресцентного сигнала проводят при температуре 60 °С. Были установлены следующие значения пороговой линии: по каналу Orange – 0,015; по каналу Green – 0,02, по каналу Yellow – 0,07. На основании проведенных исследований определена максимальная величина порогового цикла (Ct), при котором результат реакции считается положительным: для Green – <32, для Yellow – <31 и для Orange – <32. Учет результатов осуществляли по каждому каналу отдельно.

Все качественные и количественные характеристики экспериментальной тест-системы адаптированы для прибора «АНК-32» («СИНТОЛ», Россия).

Результаты оценки аналитической чувствительности ПЦР-РВ для идентификации ДНК токсигенных штаммов *C. botulinum* типов А, В, Е, которую определяли с использованием препаратов ДНК, выделенных из десятикратных разведений подготовленных бактериальных суспензий, представлены в таблице 3.

Таблица 4 – Специфичность мультиплексной ПЦР-РВ

Штамм микроорганизма	Наличие сигнала по детектируемым каналам (зонд):		
	R6G (BotA-Z)	ROX (BotB-Z)	FAM (BotE-Z)
<i>Clostridium botulinum</i> 234 A	+	-	-
<i>Clostridium botulinum</i> 506 B	-	+	-
<i>Clostridium botulinum</i> 516 E	-	-	+
<i>Clostridium botulinum</i> 498 (атоксигенный)	-	-	-
<i>Clostridium botulinum</i> 113 C	-	-	-
<i>Clostridium botulinum</i> 283 D	-	-	-
<i>Clostridium botulinum</i> 341 F	-	-	-
<i>Clostridium botulinum</i> 123 G	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i> Philadelphia 1	-	-	-
<i>Yersinia pestis</i> EB линии НИИЭГ	-	-	-
<i>Vibrio cholerae cholerae</i> 493	-	-	-
<i>Bacillus anthracis</i> СТИ-1	-	-	-
<i>Francisella tularensis</i> 15 НИИЭГ	-	-	-
<i>Burkholderia mallei</i> Ц-5	-	-	-
<i>Burkholderia pseudomallei</i> C-141	-	-	-
<i>Brucella melitensis</i> 21	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> 1Ст	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> 803	-	-	-
<i>Shigella sonnei</i> 941	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 78Г	-	-	-

Экспериментальную оценку специфичности обнаружения и идентификации ДНК токсигенных штаммов *C. botulinum* производили относительно близкородственных и гетерологичных видов микроорганизмов. Специфичность определяли по отсутствию ложноположительных и ложноотрицательных результатов реакции амплификации исследуемой ДНК в концентрации 1×10^7 КОЕ/мл в ПЦР. Результаты оценки специфичности представлены в таблице 4.

При проведении ПЦР-РВ наблюдалось стабильное нарастание уровня флуоресценции по каналам R6G/Yellow, Rox/Orange, и Fam/Green с ДНК всех исследованных токсигенных штаммов *C. botulinum* типов А, В, Е соответственно (рисунок 1). Перекрестных неспецифических реакций с близкородственными и гетерологичными видами бактерий не выявлено. Флуоресценция в этих образцах не превышала уровень фона на трех каналах детекции. Характеристики разработанного способа соответствуют предъявляемым требованиям: специфичность составила 100%, аналитическая чувствительность – 1×10^2 м.к./мл.

Таким образом, разработан способ обнаружения и идентификации ДНК токсигенных штаммов *C. botulinum* типов А, В, Е методом мультиплексной ПЦР-РВ. Показана возможность

использования разработанного способа для анализа проб, подозрительных на присутствие в них возбудителя ботулизма. На основе разработанного способа целесообразно создание тест-системы, позволяющей проводить экспрессные дифференциально-диагностические исследования образцов клинического материала или проб из объектов окружающей среды.

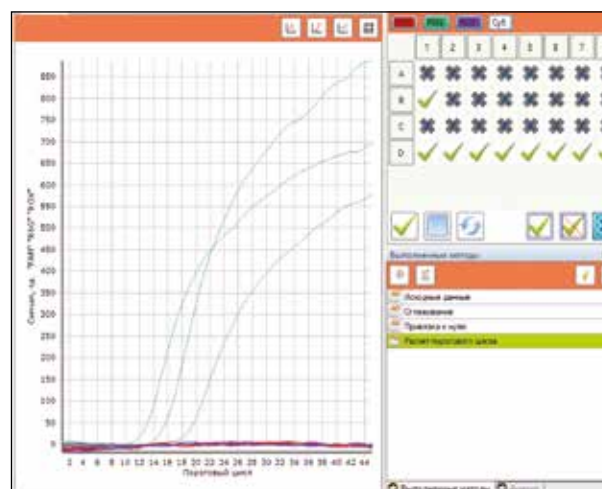


Рисунок 1 – График накопления продуктов амплификации в ПЦР-РВ по каналам R6G/Yellow, Rox/Orange и Fam/Green

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. Инфекционные болезни: национальное руководство / Под ред. Ющука Н.Д., Венгерова Ю.Я. М.: 2009.
2. Супотницкий М.В. Биологическая война. Введение в эпидемиологию искусственных эпидемических процессов и биологических поражений: монография. М.: 2013.
3. Взаимодействие органов управления, учреждений и специализированных формирований при ликвидации последствий террористических актов с применением патогенных биологических агентов и опасных химических веществ МР 0100/3556-04-34 М., 2004. 42 с.
4. Campbell K.D., Collins M.D., East A.K. Gene probes for identification of the botulinum neurotoxin gene and specific identification of neurotoxin types B, E, and F // J. Clin. Microbiol. 1993. V. 31. № 9. P. 2255–2262.
5. Dahlenborg M., Borch E., Radstrom P. Development of a combined selection and enrichment PCR procedure for *Clostridium botulinum* types B, E, and F and its use to determine prevalence in fecal samples from slaughtered pigs // Appl. Environ. Microbiol. 2001. V. 67. № 10. P. 4781–4788.
6. Fach P., Gibert M., Griffais R., Guillou J.P., Popoff M.R. PCR and gene probe identification of botulinum neurotoxin A-, B-, E-, F-, and G-producing *Clostridium* spp. and evaluation in food samples // Appl. Environ. Microbiol. 1995. V. 61. № 1. P. 389–392.
7. Akbulut D., Grant K.A., McLauchlin J. Development and application of Real-Time PCR assays to detect fragments of the *Clostridium botulinum* types A, B, and E neurotoxin genes for investigation of human foodborne and infant botulism // Foodborne Pathog Dis. 2004. V. 1. № 4. P. 247–257.
8. Hill B.J., Skerry J.C., Smith T.J., Arnon S.S., Douek D.C. Universal and specific quantitative detection of botulinum neurotoxin genes // BMC Microbiology. 2010. № 10. P. 267–304. DOI:10.1186/1471-2180-10-267.
9. Kitamura M., Sakaguchi S., Sakaguchi G. Purification and some properties of *Clostridium botulinum* type-E toxin // Biochim. Biophys. Acta. 1968. V. 168. № 2. P. 207–217.
10. Kozaki S., Sakaguchi S., Sakaguchi G. Purification and some properties of progenitor toxins of *Clostridium botulinum* type B // Infect. Immun. 1974. V. 10. № 4. P. 750–756.
11. Hill K.K., Xie G., Foley B.T., Smith T.J. Genetic diversity within the botulinum neurotoxin-producing bacteria and their neurotoxins // Toxicon. 2015. V. 107. P. 2–8. DOI: 10.1016.

Об авторах

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

Янов Дмитрий Сергеевич. Младший научный сотрудник, канд. биол. наук.

Кузнецовский Андрей Владимирович. Заместитель начальника центра, канд. биол. наук.

Дубровин Михаил Юрьевич. Старший научный сотрудник, канд. мед. наук.

Миронин Александр Викторович. Ведущий научный сотрудник, д-р мед. наук., проф.

Онучина Наталья Викторовна. Младший научный сотрудник, канд. биол. наук.

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

Контактная информация для всех авторов: 23527@mil.ru

Контактное лицо: Янов Дмитрий Сергеевич; 23527@mil.ru

DEVELOPMENT OF A TECHNIQUE FOR DNA DETECTION AND IDENTIFICATION OF TOXIGENIC STRAINS OF *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* TYPES A, B, E BY THE REAL-TIME PCR METHOD

D.S. Yanov, A.V. Kuznetsovskiy, M.I. Dubrovin,

A.V. Mironin, N.V. Onuchina, 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 (Kirov), Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation

Botulism is dangerous toxic infection caused by a toxin produced by the bacterium *Clostridium botulinum*. The mortality rate from botulism can reach 70% of all cases of illness in case of untimely initiation of treatment. The pathogenesis of botulism involves the damage to the central nervous system by a toxin produced by *C. botulinum*. Currently there are seven recognized antigenic types of this toxin. Botulinum toxin is included into the group of biological agents and it is one of the most likely agents to be used in a biological attack. Since botulinum neurotoxin is a complex nucleoprotein complex and the traces of DNA can be detected even in purified toxin preparations, we have elaborated a technique for detecting and identifying DNA of toxigenic strains of *Clostridium botulinum* types A, B, E, that cause human botulism in most cases. This technique is based on the detection of residual amounts of this DNA in botulinum toxin using multiplex real-time polymerase chain reaction (PCR) assay with fluorescent hybridization detection. The main obstacle to development of a technique for the detection and identification of DNA of toxigenic strains is the high variability of the genes responsible for the synthesis of botulinum toxin. We have established a region of the gene with the lowest homology in all strains. This requirement is met by a fragment of the bont gene that encodes a light chain of a neurotoxin and is highly conserved in the strains of *C. botulinum* producing one type of toxin. The paper represents the results of the definition of analytical sensitivity and specific activity of the developed method. The specificity of the determination is 100%, the analytical sensitivity – 1×10^2 mc./ml. The method can be used to analyze food, samples of clinical materials and environmental samples suspected of being contaminated with toxigenic strains of *C. botulinum*.

Keywords: *Clostridium botulinum*; bioterrorism; botulism; botulinum toxin; bont gene; fluorescent hybridization detection; nucleoprotein complex; threshold cycle; Real Time PCR.

For citation: Yanov D.S., Kuznetsovskiy A.V., Dubrovin M.I., Mironin A.V., Onuchina N.V., Filippov A.V. Development of a technique for DNA detection and identification of toxigenic strains of *Clostridium botulinum* types A, B, E by the Real-Time PCR method // *Journal of NBC Protection Corps*. 2018. V. 2 № 4. P. 36–43.

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. Infectious diseases: national leadership / Ed. Yuschuk N.D., Vengerov Yu.Ya. M.: GEOTAR-Media, 2009. 1056 c. (in Russian).
2. Supotnitsky M.V. Biological warfare. Introduction to the epidemiology of artificial epidemic processes and biological lesions: monograph. M.: 2013. (in Russian).
3. Interaction of management bodies, institutions and specialized formations in the elimination of consequences of terrorist acts with the use of pathogenic biological agents and hazardous chemical substances MP 0100/3556-04-34 M., 2004. 42 c. (in Russian).
4. Campbell K.D., Collins M.D., East A.K. Gene probes for identification of the botulinum neurotoxin gene and specific identification of neurotoxin types B, E, and F // J. Clin. Microbiol. 1993. V. 31. № 9. P. 2255–2262.
5. Dahlenborg M., Borch E., Radstrom P. Development of a combined selection and enrichment PCR procedure for *Clostridium botulinum* types B, E, and F and its use to determine prevalence in fecal samples from slaughtered pigs // Appl. Environ. Microbiol. 2001. V. 67. № 10. P. 4781–4788.
6. Fach P., Gibert M., Griffais R., Guillou J.P., Popoff M.R. PCR and gene probe identification of botulinum neurotoxin A-, B-, E-, F-, and G-producing *Clostridium* spp. and evaluation in food samples // Appl. Environ. Microbiol. 1995. V. 61. № 1. P. 389–392.
7. Akbulut D., Grant K.A., McLauchlin J. Development and application of Real-Time PCR assays to detect fragments of the *Clostridium botulinum* types A, B, and E neurotoxin genes for investigation of human foodborne and infant botulism // Foodborne Pathog. Dis. 2004. V. 1. № 4. P. 247–257.
8. Hill B.J., Skerry J.C., Smith T.J., Arnon S.S., Douek D.C. Universal and specific quantitative detection of botulinum neurotoxin genes // BMC Microbiology. 2010. № 10. P. 267–304. DOI:10.1186/1471-2180-10-267.
9. Kitamura M., Sakaguchi S., Sakaguchi G. Purification and some properties of *Clostridium botulinum* type-E toxin // Biochim. Biophys. Acta. 1968. V. 168. № 2. P. 207–217.
10. Kozaki S., Sakaguchi S., Sakaguchi G. Purification and some properties of progenitor toxins of *Clostridium botulinum* type B // Infect. Immun. 1974. V. 10. № 4. P. 750–756.
11. Hill K.K., Xie G., Foley B.T., Smith T.J. Genetic diversity within the botulinum neurotoxin-producing bacteria and their neurotoxins // Toxicon. 2015. V. 107. P. 2–8. DOI: 10.1016.

Authors

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

Yanov Dmitry Sergeevich. Junior Researcher. Candidate of Biological Sciences.

Kuznetsovskiy Andrey Vladimirovich. Deputy Head of the Centre. Candidate of Biological Sciences.

Dubrovin Mikhail Yuryevich. Senior Researcher. Candidate of Medical Sciences.

Mironin Aleksandr Viktorovich. Leading Researcher. Doctor of Medical Sciences, Professor.

Onuchina Natalya Viktorovna. Junior Researcher. Candidate of Biological Sciences.

Filippov Aleksey Vladimirovich. Deputy Head of the Scientific Research Department – Head of the Group of the Scientific Research Department. Candidate of Medical Sciences.

Contact information for all authors: 23527@mil.ru

Contact person: Yanov Dmitriy; 23527@mil.ru

БИОТЕХНОЛОГИЯ РЕКУЛЬТИВАЦИИ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПОЧВЫ В МЕСТАХ ПОСТОЯННОЙ ДИСЛОКАЦИИ ВОЙСК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕПАРАТА НЕФТЕДЕСТРУКТОРА НА ОСНОВЕ МИКРОБНО-РАСТИТЕЛЬНОЙ АССОЦИАЦИИ

И.П. Погорельский, А.А. Лещенко, А.Г. Лазыкин, К.И. Гурин,
В.В. Тетерин, Д.А. Шаров

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

Поступила 17.07.2018 г. Принята к публикации 15.10.2018 г.

Объект изучения – деструктор экотоксикантов на основе штаммов бактерий *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas delhiensis* и ассоциации клубеньковых бактерий *Rhizobium loti* с бобовым растением Лядвенцом рогатым (*Lotus corniculatus*). Установлено, что при совместном использовании бактерий и бобового растения Лядвенца рогатого увеличивается скорость окисления углеводородов нефти по сравнению со скоростью деградации загрязнителя при интродукции каждого бактериального штамма отдельно примерно в три раза. Полученный нами препарат-деструктор представляет собой сухую неоднородную массу, состоящую из жизнеспособных микробных клеток штаммов *P. delhiensis* и *R. lotus* в соотношении 1:1 в количестве не менее 4 млрд ж.м.к. на 1 г носителя, являющегося семенами бобового растения Лядвенца рогатого, объединенную с делигнифицированным древесным опилом (соотношение семян Лядвенца рогатого и бактериальных ассоциантов с делигнифицированным древесным опилом 1:1). Нефтедеструктирующая активность препарата установлена в условиях микрополевых испытаний. Деградация экотоксикантов доказана методом капиллярной газовой хромато-масс-спектрометрии с масс-селективным детектированием. Бактерии штаммов, входящих в его состав, непатогенны для человека и животных, биосовместимы, экологически безопасны, стабильны по признаку биодеструкции экотоксикантов, неприхотливы по питательным потребностям, технологичны, не персистируют в объектах окружающей среды при отсутствии субстрата для деструкции. Разработана технология производства препарата. Результаты представленных исследований свидетельствуют о возможности практического использования деградативного потенциала препарата в ходе осуществления мероприятий по рекультивации почвы, очистке от экотоксикантов и восстановлению ее экологического статуса.

Ключевые слова: биодеструкция; клубеньковые бактерии; Лядвенец рогатый; микробно-растительная ассоциация; микроорганизмы; нефтепродукты; нефть; рекультивация; экологическая биотехнология; экотоксикант.

Библиографическое описание: Погорельский И.П., Лещенко А.А., Лазыкин А.Г., Гурин К.И., Тетерин В.В., Шаров Д.А. Биотехнология рекультивации и восстановления экологического статуса почвы в местах постоянной дислокации войск с использованием препарата нефтедеструктора на основе микробно-растительной ассоциации // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2, № 4. С. 44–56.

Развитие техносферы создало в биосфере множество количественных и качественных изменений, вызвавших «лавинообразные» процессы ухудшения среды обитания человека [1]. В ней скапливаются химические соединения, с которыми живой организм в ходе эволюции не сталкивался и поэтому не имеет соответствующих аналитических систем, сигнализирующих об их наличии. В этой связи чрезвычайно актуальным является сбор данных о загрязнениях окружающей среды и источниках их поступления с целью регламентации допустимых уровней загрязнения и принятия адекватных мер для ликвидации загрязнений и минимизации последствий для окружающей среды.

Нефтедобывающая промышленность является одной из важнейших отраслей хозяйственной деятельности в Российской Федерации. В 2017 г. добыча нефти составила 546,8 млн т, при этом объем утечек достигает 15–20 млн т в год. Более 75% состава нефти приходится на углеводороды, остальную часть составляют их производные, в которых содержится сера, азот и кислород. Доля Вооруженных Сил в выбросах загрязняющих веществ в атмосферный воздух и в загрязнении территорий в различных регионах России не столь велика по сравнению с промышленным комплексом страны. Тем не менее, военные объекты представляют потенциальную опасность для благополучия регионально-локальных и даже глобальных систем жизнеобеспечения на обширных территориях страны. В целом проблема обращения с отходами производства и потребления считается одной из наиболее актуальных и трудно решаемых экологических проблем не только в России, но и во всем мире. Решение этой проблемы также является одной из существенных задач, стоящих перед Вооруженными Силами России [2, 3].

Нарушение экологического статуса территорий в пунктах дислокации военных объектов и районах действий подразделений и частей Российской Армии происходит как в ходе их повседневной деятельности, так и при возникновении аварийных и чрезвычайных ситуаций. Нефтезагрязнения окружающей природной среды возникают на территориях баз и складов горючего, аэродромов, парков автомобилей и иной техники, площадках ремонтного фонда, котельных, работающих на мазутном топливе, на полигонах, где происходит массовое сосредоточение вооружения и военной техники, работающей с использованием горюче-смазочных материалов, а также в местах базирования сил флота и флотилии [2, 3] (рисунок 1)¹.



Рисунок 1 – Участок нефтезагрязненной почвы

К числу наиболее перспективных технологий обезвреживания отходов мировая практика относит биотехнологию – науку, которая, применяя знания в области микробиологии, биохимии, генной инженерии, приборо- и машиностроения, использует биологические объекты (микроорганизмы различных биологических видов) для производства препаратов деструкторов, способных разлагать обширный спектр экотоксикантов, в том числе углеводородные соединения, а также очищать природные объекты (почвы, воды) от нефти и нефтепродуктов. Их совместное в течение длительного периода времени нахождение в почве может вызвать уничтожение почвенного покрова, являющегося важнейшим сорбционно-химическим барьером на пути миграции экотоксикантов из атмосферы в грунтовые воды и реки [4, 5]. Несмотря на предостережения экологов о деградации локальных экосистем под воздействием нефтезагрязнений, выдвинуты предложения о ликвидации разливов нефти и нефтепродуктов на суше путем сжигания [6], что, вне всякого сомнения, приведет к экологической катастрофе.

Для преодоления негативного антропогенного воздействия на почво-грунты и экосистемы антропогенных ландшафтов используют технологию рекультивации [5, 7]. Рекультивация земель – это комплекс инженерных и санитарно-гигиенических мероприятий, предусматривающих улучшение (восстановление) свойств грунтов в целях исключения физического и химического

¹ Техника для рекультивации почвы. URL: https://www.google.ru/search?newwindow=1&rlz=1C1GGRV_enRU783RU783&ei (дата обращения: 01.07.2018).

негативного воздействия на окружающую природную среду^{2,3,4} [7].

В соответствии с общими требованиями к рекультивации земель⁵, в процессе восстановления исходного экологически приемлемого состояния земельных участков, загрязненных экотоксикантами, необходимо осуществлять мероприятия по охране окружающей среды: ускорить деградацию экотоксикантантов, ликвидировать засоленность и солонцеватость почв, а также осуществить ряд других мероприятий. Сам же процесс рекультивации земель и грунтов предполагает удаление экотоксикантов из состава почвы и собственно рекультивацию, включающую технический и биологический этапы.

Технический этап рекультивации – это проведение работ с привлечением специальной техники, создающих необходимые условия для последующего использования рекультивированных земель по целевому назначению или для проведения мероприятий по восстановлению плодородия почв^{6,7} (рисунок 2).

Таким образом, меры технической рекультивации направлены на ускорение процессов физического очищения почвы.

Биологический этап включает комплекс агротехнических и фитомелиоративных мероприятий, направленных на улучшение агрофизических, агрохимических, биохимических и других свойств почвы^{8,9,10}. По существу, рекультивация – это оптимизация физико-химических и биологических факторов очищения почвы. Этап рекультивации выполняется после завершения технического этапа и заключается в подготовке почвы, внесении удобрений и препаратов, подборе трав и травосмесей, посеве и уходе за посевами, что обеспечивает закрепление поверхностного слоя почвы корневой системой растений, создание сомкнутого травостоя и предотвращает развитие водной и ветровой эрозии почвы на нарушенных землях. Таким образом, препараты, содержащие ми-



Рисунок 2 – Образцы техники, используемой при рекультивации почвы

кроорганизмы-деструкторы загрязняющих почву соединений, являются естественной составной частью биологической рекультивации,

² ГОСТ 17.5.3.05–84. Охрана природы. Рекультивация земель. Общие требования к землеванию. М.: ИПК Издательство стандартов, 2015.

³ ГОСТ 17.5.3.04–83 (с изменением № 1). Охрана природы. Земли. Общие требования к рекультивации земель. М.: ИПК Издательство стандартов, 2002.

⁴ ГОСТ 17.5.3.06–85. Охрана природы. Земли. Требования к определению норм снятия природного слоя почвы при производстве земляных работ. М.: ИПК Издательство стандартов, 2015.

⁵ ГОСТ 17.5.3.05–84.

⁶ Техника для рекультивации почвы. URL: https://www.google.ru/search?newwindow=1&rlz=1C1GGRV_enRU783RU783&ei.

⁷ ГОСТ 17.5.3.06–85.

⁸ ГОСТ 17.5.3.05–84.

⁹ ГОСТ 17.5.3.04–83.

¹⁰ ГОСТ 17.5.3.06–85.

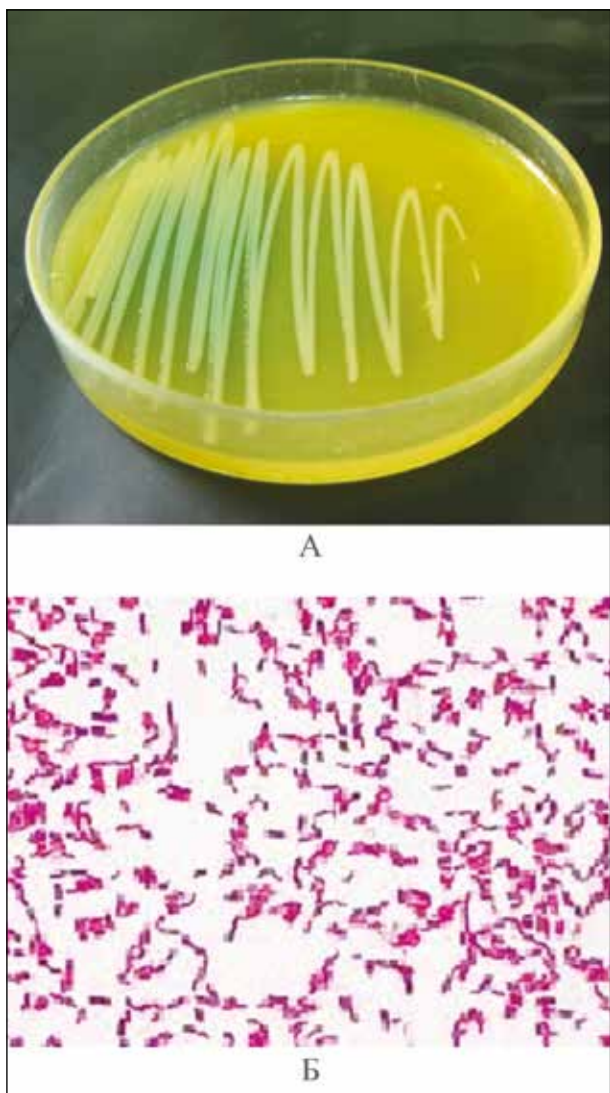


Рисунок 3 – Растущая культура и фиксированные бактериальные клетки бактерий *P. fluorescens* (А – Рост бактерий *P. fluorescens* на плотной питательной среде; Б – Микроскопия окрашенных по Граму бактерий *P. fluorescens*)

которая призвана ускорить процесс разрушения экотоксикантов в почве^{11,12} [8].

В настоящее время продолжают исследования по разработке научно обоснованных, экономически оправданных, эффективных технологий, в том числе биотехнологий, рекультивации и санации почв, восстановление их экологического статуса. Однако, как это явствует из опубликованных данных по результатам экспериментальных исследований [9], не существует универсального вида микроорганизмов, способного осуществить деградацию всех экотоксикантов и их компонентов. Поэтому в со-



Рисунок 4 – Схема рекультивации нефтезагрязненной почвы [10]

став препаратов, предназначенных для рекультивации почвы, необходимо включать несколько видов микроорганизмов-деструкторов, принадлежащих различным таксономическим группам. В выполненных ранее исследованиях [10] было установлено, что биотехнология препарата деструктора нефти и нефтепродуктов должна базироваться на использовании бактерий с высокой ферментативной активностью. Интродукция специализированных штаммов деструкторов *P. fluorescens* и *P. putida* в составе препарата в нефтезагрязненную почву обеспечивает, с одной стороны, деградацию экотоксикантов в почве, а с другой стороны – стимуляцию естественной (аборигенной) микрофлоры [7].

Входящие в состав препарата микроорганизмы вместе с аборигенными почвенными микроорганизмами способны формировать устойчивые трофические цепи и поэтапно участвовать в процессе деградации экотоксикантов. Применение препарата на основе указанных выше микроорганизмов-деструкторов перспективно для рекультивации сильно загрязненной нефтью и нефтепродуктами почвы, верхний слой которой, согласно технической рекультивации по ГОСТ¹³, подлежит снятию и санации на специально оборудованных площадках с последующим его возвращением на место изъятия [10]. Схема рекультивации нефтезагрязненной почвы со снятием верхнего слоя представлена на рисунке 4.

Кроме того, учитывая тот факт, что входящие в состав препарата бактерии *P. fluorescens* и *P. putida*, обладают С-Р-лиазной активностью и способны разлагать фосфорорганические соединения, сам препарат перспективен для использования наряду с биокатализаторами на основе микроорганизмов-деструкторов (или их консорциумов) и продуцируемых ими ферментов [11] для рекультивации земли промплощадки объекта уничтожения химического

¹¹ ГОСТ 17.5.3.04–83.

¹² ГОСТ 17.5.3.06–85.

¹³ Там же.

оружия «Марадыковский» после его перепрофилирования.

Дальнейшее расширение возможностей биотехнологии рекультивации почвы связано с применением препарата, объединяющего микроорганизмы, которые обеспечивают био- и фиторекультивацию. В самой технологии фиторекультивации предпочтение отдают ассоциированным с растениями микроорганизмам. Именно микроорганизмы ризосферы растений играют ведущую роль в деградации экотоксикантов в процессе рекультивации. Общеизвестно, что в ризосфере растений присутствуют так называемые PGPR-бактерии (от англ. *plant growth promoting rhizobacteria*), оказывающие стимулирующее влияние на рост растений. В свою очередь растения способны активно противодействовать экотоксикантам посредством таких процессов, как конъюгация, экскреция экотоксикантов и последующая их деградация до клеточных метаболитов и углекислого газа [12]. В этой связи при разработке методов фиторекультивации представляется актуальным создать препарат на основе бактерий эффективных деструкторов экотоксикантов, способных к колонизации ассоциированных с ними растений. Такие штаммы бактерий, как *P. delhiensis* и *R. loti*, обладающие способностью формировать микробно-растительные ассоциации, были использованы нами в качестве биодополнения к уже разработанному препарату деструктору нефти и нефтепродуктов [10]. Объединение в препарате штаммов микроорганизмов эффективных деструкторов нефти и нефтепродуктов, а также семян бобовых растений, выступающих в качестве носителя специализированных природных клубеньковых бактерий, создает необходимые условия для стимулирования роста растений, защиты их от фитопатогенов и полноценной деградации экотоксикантов до полного восстановления исходного экологического состояния почвы.

Цель исследования – разработка новой формы двухкомпонентного биопрепарата с расширенным спектром деградативного потенциала на основе бактериальных штаммов *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. delhiensis* и ассоциации клубеньковых бактерий *R. loti* с бобовым растением Лядвенцом рогатым (*L. corniculatus*) и обоснование возможности его применения для рекультивации и санации нефтезагрязненной почвы.

Материалы и методы

В работе использовали коллекционные штаммы *P. fluorescens*, *P. putida*; штамм *P. delhiensis* выделен и идентифицирован в 2013 г., депонирован во Всероссийской коллекции [13]. Клубеньковые бактерии *R. lotus* и семена Лядвенца рогатого (*L. corniculatus*) семейства бобовых (*Fabaceae*) получены из ФГБНУ «Федеральный аграрный

научный центр Северо-Востока им. Н.В. Рудниченко».

Культивирование бактерий *P. delhiensis* проводили на мясо-пептонном агаре и в жидкой питательной среде на основе кислотного гидролизата казеина и дрожжевого автолизата, а клубеньковых бактерий *R. lotus* – на маннитно-дрожжевом агаре.

Выращивание бактерий *P. delhiensis* глубинным способом проводили при температуре 28 °С в биореакторе «Биор-01» (Россия) в течение 24 ч, а бактерий *R. lotus* – в течение 48 ч.

Иммобилизацию микроорганизмов [14] осуществляли путем перемешивания смеси культур *P. delhiensis* и *R. lotus* с семенами растения – фиторемедианта Лядвенца рогатого (*L. corniculatus*) в защитной сахарозо-желатиновой среде. Смесь концентрата микроорганизмов с семенами Лядвенца рогатого в защитной сахарозо-желатиновой среде распределяли равномерным слоем на дне кювет, которые помещали для высушивания в микроволновую вакуумную сушильную установку типа «Grandtec». Сухую смесь концентрата микроорганизмов с семенами Лядвенца рогатого снимали шпателем со дна кювет, помещали в пакеты из полимерного материала, после чего объединяли с сорбентом – материалом естественного происхождения – древесным опилом [15], переносили в герметично закрытую стеклянную тару и хранили при температуре от 0 до 8 °С.

Делигнификацию опила лиственных пород деревьев осуществляли путем кипячения в течение 4 часов в 0,1 М растворе NaOH в соотношении: 50 г опила и 1,5 л раствора щелочи с последующим отмыванием дистиллированной водой до значения pH 6,0–7,0 [16].

Количественный учет иммобилизованных на носителе бактерий выполняли чашечным методом Коха, высевая суспензию регидратированного в 9 мл изотонического раствора хлорида натрия 1 г препарата на плотную питательную среду в чашках Петри с последующим подсчетом выросших колоний.

Для количественного определения нефти в образцах использовали метод капиллярной газовой хромато-масс-спектрометрии. Исследования проводили на газовом хромато-масс-спектрометре GCMS – QP2010 Plus («Shimadzu», Япония) с масс-фильтром квадрупольного типа. Последующую обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения GCMSSolution 2.5, укомплектованного универсальной библиотекой масс-спектров 250 тыс. органических соединений NIST 05. Для количественного определения анализируемого компонента применяли метод внешнего стандарта. Расчет проводили по площадям пиков.

Моделирование натуральных условий рекультивации почвы проводили на испытательном

Таблица 1 – Характеристика глубинных культур и микробных концентратов, предназначенных для использования в технологии приготовления препарата (X, n=3)

Наименование микроорганизма	Содержание бактериальных клеток в ..., млрд ж.м.к./мл	
	глубинной культуре	микробном концентрате
<i>P. delhiensis</i>	14,90±2,2	48,30±1,3
<i>R. lotus</i>	13,70±2,5	44,31±1,2

стенде, оборудованном системами поддержания и контроля технологических параметров ведения процесса [10].

Статистическую обработку полученных результатов выполняли по методу Кербера в модификации И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева [17].

Результаты и обсуждение

Стандартный биотехнологический процесс получения микробных культур, необходимых для создания препарата деструктора, включает пять основных стадий: подготовку питательной среды с заданными свойствами (рН, температура, концентрация питательных веществ и др.); получение посевного материала из чистой культуры бактериальных клеток; выращивание микроорганизмов в биореакторе; концентрирование; приготовление полуфабриката. Именно этот постадийный биотехнологический процесс с успехом использован в биотехнологии препарата деструктора на основе штаммов *P. delhiensis* и *R. lotus* [10]. Готовый к применению лиофильно обезвоженный препарат представляет собой пористую массу светло-желтого цвета без посторонних включений. Биотехнологию препарата на основе новых микроорганизмов предстояло адаптировать к существующей аппаратурно-технологической линии для получения нового препарата на основе микробно-растительной ассоциации. Культуры микроорганизмов *P. delhiensis* и *R. lotus* были получены при глубинном выращивании в жидкой питательной среде в биореакторе при оптимальных условиях с целью более высокого выхода биомассы. В дальнейшем для получения полуфабриката микробные клетки глубинных культур отделяли от питательной среды с помощью модульной ультра- и микрофльтрации системы «Сартон-мини». В таблице 1 приведены данные, характеризующие глубинные культуры и микробные концентраты, предназначенные для дальнейшего использования в технологии препарата.

Как следует из представленных данных, глубинные культуры характеризуются высоким уровнем накопления микробной биомассы, а па-

раметры процесса концентрирования позволяют получить концентрат, пригодный для создания полуфабриката.

Следующим этапом исследований было определение формы (свободной или иммобилизованной) находящихся в препарате живых микробных клеток. Преимущество использования иммобилизованных клеток, в отличие от свободных, определяется рядом характеристик, таких как повышенная жизнеспособность клеток, устойчивость к действию неблагоприятных факторов внешней среды, высокая каталитическая активность иммобилизованных клеток и их ферментов, концентрация больших количеств биомассы и минимизация потери биомассы при внесении в окружающую среду, экономичность [14].

Для последующего формирования микробно-растительной ассоциации необходимо было выбрать оптимальный вариант носителя микроорганизмов. Свой выбор мы остановили на природных носителях, к которым следует отнести семена растений фиторемедиантов, являющихся важным элементом в процессах восстановления почвенного покрова, загрязненного в результате хозяйственной деятельности [18]. В предварительных исследованиях были изучены три варианта носителей на основе семян Лядвенца рогатого и опила лиственных пород деревьев с разным соотношением компонентов. Очень важно, что делигнифицированный древесный опил не обладает повышенной кислотностью, но при этом имеет сорбирующие свойства и высокую поглощательную способность, которые создают дополнительные оптимальные условия

Таблица 2 – Варианты носителей, использованных для формирования микробно-растительной ассоциации

Варианты носителей	Состав носителей	Внешний вид носителя
1	Семена Лядвенца рогатого	
2	Семена Лядвенца рогатого и делигнифицированный опил (соотношение 1:1)	
3	Семена Лядвенца рогатого и делигнифицированный опил (соотношение 4:1)	

для проращивания семян Лядвенца рогатого. Изученные варианты микробно-растительной ассоциации представлены в таблице 2.

Каждый из представленных вариантов носителей в последующих экспериментах использовали для иммобилизации на них подготовленной смеси клеток микроорганизмов *P. delhiensis* и *R. lotus* и последующего высушивания в защитной сахарозо-желатиновой среде в микроволновой вакуумной сушильной установке типа «Grandtec». По окончании высушивания препарата в бактериологической лаборатории определяли количество иммобилизованных микроорганизмов на носителе путем высева регидратированной в изотоническом растворе хлорида натрия 1 г концентрированной смеси суспензий бактериальных клеток деструктора экотоксикантов *P. delhiensis* и ризобий *R. lotus* на плотную питательную среду в чашках Петри с последующим подсчетом выросших колоний (рисунок 5).

Результаты подсчетов представлены в таблице 3.

На основании представленных результатов можно заключить, что, судя по экспериментальным данным, наибольшее количество жизнеспособных бактериальных клеток *R. lotus* и *P. delhiensis* выявлено в экспериментах с вариантами носителя № 2 и № 3. При этом наиболее предпочтительным оказался состав носителя под № 2: в 1 г препарата сконцентрировалось наибольшее количество микроорганизмов, играющих основную роль в процессе биоремедиации.

Таким образом, экспериментальный образец препарата на основе микробно-растительной ассоциации представляет собой сухую неоднородную массу, состоящую из жизнеспособных микробных клеток штаммов *P. delhiensis* и *R. lotus* в соотношении 1:1 в количестве не менее 4 млрд ж.м.к. на 1 г носителя, являющегося семенами бобового растения Лядвенца рогатого, объединенную с делигнифицированным древесным опилом (соотношение семян Лядвенца рогатого и бактериальных ассоциантов с делигнифицированным древесным опилом 1:1).

Для оценки эксплуатационной характеристики (деструкции нефти и нефтепродуктов)



Рисунок 5 – Определение количества иммобилизованных микроорганизмов на носителе

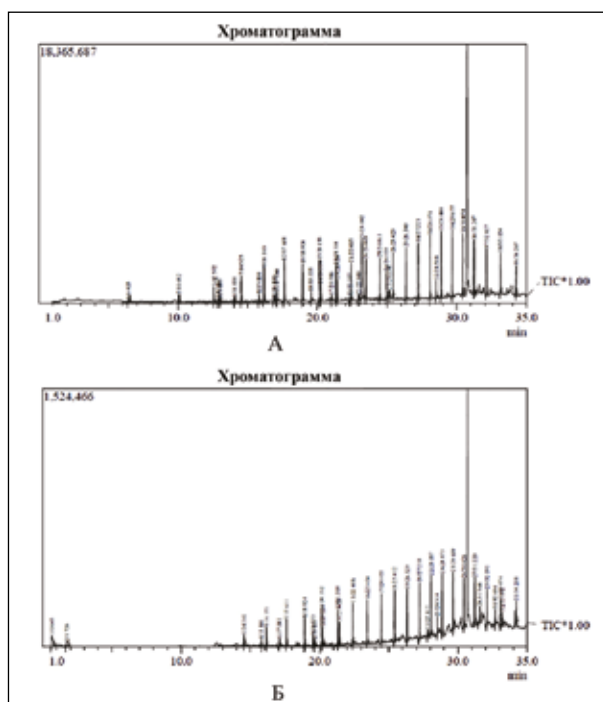


Рисунок 6 – Хроматограмма определения состава образцов контрольной (А) и деструктированной (Б) нефти

полученного образца препарата в условиях микрополевых испытаний он был объединен с

Таблица 3 – Характеристика выживаемости микроорганизмов, иммобилизованных на носителе (X, n=3)

Варианты носителей	Состав носителя	Содержание жизнеспособных клеток..., млрд ж.м.к./г	
		<i>P. delhiensis</i>	<i>R. lotus</i>
1	Семена Лядвенца рогатого	7,9±0,44	4,2±0,2
2	Семена Лядвенца рогатого : делигнифицированный опил (1:1)	19,43±1,8	8,73±0,5
3	Семена Лядвенца рогатого : делигнифицированный опил (4:1)	17,1±1,6	7,62±0,3

Таблица 4 – Идентифицированные компоненты образцов контрольной и деструктированной нефти и их относительное содержание в пробах

Содержание идентифицированных компонентов нефти в диапазоне ..., процент	Проба образца контрольной нефти (39 идентифицированных компонентов)	Проба образца деструктированной нефти (33 идентифицированных компонента)
0–1	12	4
1–2	6	4
2–4	12	17
4–6	8	6
6–8	0	2
8–10 и более	1	0

Таблица 5 – Углеводороды ряда «алканы» в образцах контрольной и деструктированной нефти

Алкан	Содержание алканов в образце контрольной нефти	Содержание алканов в образце деструктированной нефти
C1–C4 – газообразные алканы (в виде растворенного газа)	0	2
C5–C16 – основная масса жидких фракций нефти	17	13
C17–C53 – тяжелые нефтяные фракции (твердые парафины)	22	18

препаратом лиофилизированных бактерий двух штаммов *P. fluorescens* и *P. putida*, составляющих основу разработанного ранее биопрепарата [10]. Эксперименты были проведены с сырой нефтью, внесенной в почву (10–20 г на 1 кг почвы). После перемешивания нефти с почвой вносили двухкомпонентный препарат. В конце вегетационного периода отбирали образцы почвы (опытный и контрольный) и после соответствующей пробоподготовки их анализировали.

На рисунке 6 приведены хроматограммы, а в таблицах 4 и 5 идентифицированные компоненты исходной и деструктированной нефти.

Из представленных результатов хромато-масс-спектрометрического анализа (рисунок 6, таблица 4) исследуемых образцов следует, что в исходной нефти идентифицировано 39 компонентов, а в деструктированной – 33. При этом в деструктированной нефти уменьшилось содержание компонентов, доля которых в общем количестве находится в диапазонах (0–1)%, (1–2)%, (4–6)%, (8–10)%, но в то же время возросла доля компонентов в диапазоне (2–4)% и (6–8)%. Если в образце нефти первым на хроматограмме появляется углеводород декан ($C_{10}H_{22}$) при времени выхода 6,405 мин, то в образце деструктированной нефти перед тем же углеводородом, появляющемся на хроматограмме на 14,541 мин, выявляются трихлорометан и метан (время выхода 0,645 мин), дихлоронитрометан (время выхода 1,726 мин).

Представленные в таблице 5 данные однозначно свидетельствуют о процессе деструкции нефти под влиянием ферментов микроорганизмов двухкомпонентного препарата деструктора: по сравнению с исходной нефтью в образце деструктированной нефти появились газообразные алканы (трихлорометан, дихлоронитрометан), снизилось содержание жидких фракций нефти (с 17 до 13), а также содержание фракции твердых парафинов (с 22 до 18). При этом следует отметить, что в образце деструктированной нефти появился циклопентан ($C_{25}H_{50}$), относящийся к нафтенам, доля которого среди алканов составляет 4,65%. Согласно полученным данным, можно говорить о том, что исследуемая нефть относится к классу метановой нефти, в которой преобладающими являются ненасыщенные углеводороды, а в процессе биодеструкции появляются циклические углеводороды (C_nH_{2n+2}), характерные для нафтенной нефти.

Есть основание полагать, что начавшийся под воздействием ферментов микроорганизмов двухкомпонентного препарата процесс деградации нефти приводит к фрагментации нафтенных и в последующем он продолжается под воздействием ферментов деструкции почвенных микроорганизмов. Важно подчеркнуть, что микроорганизмы нефтедеструкторы синтезируют биосурфактанты, которые эмульгируют и солюбилизируют углеводороды, облегчая поступление фрагментированных

нафтен в микробные клетки для продолжения их деградации. Указанная углеводородокисляющая активность микроорганизмов *P. fluorescens*, *P. putida* и *P. delhiensis* обеспечивает практически полное снижение количества сырой нефти в почве. Усилению деструктирующей активности микроорганизмов *P. fluorescens*, *P. putida* и *P. delhiensis* способствуют особенности биологического строения бобового растения Лядвенца рогатого, у которого корневая система стержневая, проникающая в почву до 2 м, с большим количеством крупных клубеньков и окружающих их клубеньковых бактерий.

Предложенный научно обоснованный подход реализован в технологии двухкомпонентного препарата, оба компонента которого хранятся при оптимальных условиях и объединяются в единый комплекс по запросу. Последующее внесение двухкомпонентного препарата, особенно при рекультивации почвы с обширной площадью нефтезагрязнения, может быть осуществлено с использованием сеялки зернотукотравяной СЗТ-3,6А (или ее аналогов)¹⁴ для рядового посева семян Лядвенца рогатого с одновременным внесением гранулированных минеральных удобрений (рисунок 7) [23].

Заключение

Микроорганизмы широко распространены в неживой и живой природе. По данным А.А. Воробьева [19], число бактерий, населяющих почву, воду морей, рек и океанов, атмосферу, растительный и животный мир, достигает 10^{27-30} . Именно благодаря микроорганизмам процесс трансформации органического вещества завершается полной минерализацией. В результате биохимических процессов природные и синтетические загрязнители превращаются в двуокись углерода, воду и другие экологически нейтральные соединения. Микроорганизмы деструкторы являются основой различных биоконверсий токсичных веществ и очистки от них загрязненных почв и водоемов. Это новое направление по защите окружающей среды от химических загрязнений получило название «экологической биотехнологии».

Двухкомпонентный препарат с расширенным спектром деградативной активности биосовместимых, экологически безопасных микроорганизмов природного происхождения в ассоциации с семенами бобового растения Лядвенца рогатого в результате синергидного эффекта входящих в его состав биологически активных компонентов может быть использован для санации нефтезагрязненных почв в местах постоянной дислокации войск и восстановления их экологического статуса. При совместном использовании бактерий и бобового растения Лядвенца рогатого увеличивается скорость



Рисунок 7 – Техника для рядового посева зернобобовых культур с иммобилизованными микроорганизмами [23]

окисления углеводов нефти по сравнению со скоростью деградации загрязнителя при интродукции каждого бактериального штамма отдельно примерно в три раза.

¹⁴ Сеялки с анкерными сошниками. URL: http://yandex.ru/images/search?img_url=https%3A%F%2Fzem.ms21.ru (дата обращения: 01.07.2018 г.).

Благодарности

Авторы выражают свою признательность Игорю Александровичу Устюжанину, заместителю директора ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого» по научной работе за предоставление семян Лядвенца рогатого для проведения научных исследований.

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. Лисичкин В.А., Шелепин Л.А., Боев Б.В. Закат цивилизации или движение к ноосфере (экология с разных сторон). М.: «ИЦ-Гарант», 1997. 352 с.
2. Григоров С.И., Родионов А.С. Военная экология и экологическое обеспечение Вооруженных Сил Российской Федерации // Военная мысль, 1994. № 2. С. 44–50.
3. Булатов В.И. Россия: Экология и армия. Новосибирск: ЦЭРИС, 1999. 168 с.
4. Шаров С.А., Ашихмина Т.Я. Адаптация микробных биотехнологий ремедиации почв к реальным объектам санации // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 4. С. 60–62.
5. Приваленко В.В., Безуглова О.С. Экологические проблемы антропогенных ландшафтов Ростовской области. Ростов н/Дон: 2003. 288 с.
6. Фритц Д.Е. Ликвидация разливов нефти на суше путем сжигания (пер. с англ. Н. Черыгина) // Нефтегазовые технологии. 1997. № 5. С. 35–36.
7. Ганеев И.Г., Кулагин А.А. Ремедиация и рекультивация техногенно деградированных земель // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. № 6 (100). С. 554–557.
8. Турковская О.В., Игнатов В.В. Роль микробиологии в разработке приемов рекультивации нефтезагрязненных почв // Материалы научной конференции, посвященной 225-летию РАН «Фундаментальные и прикладные исследования саратовских ученых для процветания России и Саратовской губернии» 23–25 марта 1999г. Саратов: Изд-во Саратовского Государственного Университета, 1999. С. 276–278.
9. Иванова А.А., Ветрова А.А., Филонов А.Е., Боронин А.М. Биодegradация нефти микробно-растительными ассоциациями // Прикладная биохимия и микробиология. 2015. Т. 51. № 2. С. 191–197.
10. Туманов А.С., Ашихмина Т.Я., Лещенко А.А. и др. Биопрепарат с расширенным спектром биодegradативной активности для рекультивации почвы объекта уничтожения химического оружия «Марадыковский» // Теоретическая и прикладная экология. 2015. № 3. С. 61–69.
11. Филимонов И.В., Янковская А.А., Завьялова Н.В. и др. Биотехнологические методы деструкции отравляющих веществ и продуктов их детоксикации // Вестник войск РХБ защиты. 2017. Т. 1. № 1. С. 4–15.
12. Квеситадзе Г.И., Хатисашвили Г.А., Садунишвили Т.А., Евстигнеева З.Г. Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях / Под. ред. Попова В.О. М.: 2005.
13. Патент № 2575063. C12N 1/20, C09C 1/10, C12R 1/38. Авторы: К.Е. Гаврилов, И.В. Дармов, Т.С. Кардакова, А.Г. Лазыкин, Е.А. Коновалова; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет»; опубл. 10.02.2016; бюл. № 4.
14. Синицин А.Н., Райнина Е.А., Лозинский В.И., Спасов С.Д. Имобилизованные клетки микроорганизмов. М.: 1994.
15. Кощеев К.А. Имобилизованные клетки микроорганизмов и их применение // Промышленная микробиология. Учебное пособие для ВУЗов. М.: 1989. С. 216–235.
16. Филина Н.А. Исследование сорбционных свойств древесных отходов для сбора нефтепродуктов с последующей утилизацией их в виде топливных брикетов. Автореф. ... канд. техн. наук. Пенза, 2011. 22 с.
17. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: 1962. 280 с.
18. Куюкина М.С., Ившина И.Б., Серебренникова М.К. Оптимизация процесса иммобилизации клеток алканотрофных родококков на хвойных опилках в условиях колоночного биореактора // Вестник Пермского университета. 2010. Вып. 1(1). С. 69–72.
19. Воробьев А.А. Идеи Луи Пастера и развитие инфектологии и иммунологии // Вестник РАМН. 1996. № 6. С. 6–11.

Об авторах

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

Погорельский Иван Петрович. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела, д-р мед. наук, проф.

Лещенко Андрей Анатольевич. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела, д-р техн. наук, проф.

Лазыкин Алексей Геннадьевич. Старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела, канд. биол. наук.

Гурин Константин Игоревич. Начальник научно-исследовательского отдела, канд. мед. наук.

Тетерин Владимир Валентинович. Начальник научно-исследовательского отдела, канд. биол. наук.

Шаров Дмитрий Александрович. Начальник научно-исследовательского отдела, канд. техн. наук.

Контактная информация для всех авторов: 23527@mil.ru

Контактное лицо: Лещенко Андрей Анатольевич; 23527@mil.ru

BIOTECHNOLOGY FOR REMEDIATION AND RESTORING THE ECOLOGICAL STATUS OF SOIL IN THE PLACES OF PERMANENT DISPOSITION OF THE TROOPS BY OIL-DESTRUCTOR PREPARATION ON THE BASIS OF THE MICROBIAL-PLANT ASSOCIATION

I.P. Pogorelsky, A.A. Leshchenko, A.G. Lazykin, K.I. Gurin,

V.V. Teterin, D.A. Sharov

Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment

«48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence

of the Russian Federation (Kirov), Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation

The object of the study is a preparation of ecotoxinant destructor based on bacterial strains of *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas delhiensis* and associations of nodule bacteria *Rhizobium loti* with *Lotus corniculatus*. It is established, that during the simultaneous use of the bacteria and the legume *Lotus corniculatus* the rate of oxidation of petroleum hydrocarbons increases three times in comparison with the degradation rate of the pollutant after the separate use of each bacterial strain. We have received the preparation of ecotoxinant destructor – dry heterogeneous mass consisting of viable microbial cells of strains of *P. delhiensis* and *R. lotus*, seeds of leguminous plant *Lotus corniculatus* and delignified sawdust. Oil destructive activity of the preparation is proved in the course of microfield experiments. The degradation of ecotoxins is proved by capillary gas chromatography-mass spectrometry with mass-selective detection. Bacteria of the strains, included in the preparation, are non-pathogenic for humans and animals, biocompatible, environmentally safe, stable, unpretentious to nutritional needs, technological, do not persist in environmental objects in the absence of a substrate for destruction. The technology of the production of the preparation is developed. The results of these studies demonstrate the possibility of practical use of the degradative potential of the preparation in the course of the implementation of the measures for soil reclamation, cleaning up ecotoxins and restoring its ecological status.

Keywords: biodegradation; root-nodule bacteria; bird's-foot trefoil (*Lotus corniculatus*); microbial-plant associations; microorganisms; oil products; oil; recultivation; environmental biotechnology; ecotoxicant.

For citation: Pogorelsky I.P., Leshchenko A.A., Lazykin A.G., Gurin K.I., Teterin V.V., Sharov D.A. Biotechnology for remediation and restoring the ecological status of soil in the places of permanent disposition of the troops by oil-destructor preparation on the basis of the microbial-plant association // *Journal of NBC Protection Corps*. 2018. V. 2. № 4. P. 44–56.

Acknowledgments

The authors express their gratitude to Igor Aleksandrovich Ustyuzhanin, Deputy Director on scientific work of the FGBNU Federal Agrarian Scientific Center of the North-East named after N.V. Rudnitsky, for the provision of seeds of *Lotus corniculatus* for scientific research.

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. Lisichkin V.A., Shelepin L.A., Boev B.V. The sunset of civilization or the movement to the noosphere (ecology from different sides). M.: «IT-Garant», 1997. 352 p. (in Russian).
2. Grigorov S.I., Rodionov A.S. Military ecology and ecological support of the Armed Forces of the Russian Federation // *Military Thought*, 1994. № 2. P. 44–50 (in Russian).
3. Bulatov V.I. Russia: Ecology and the army. Novosibirsk: TSERIS, 1999. 168 p. (in Russian).
4. Sharov S.A., Ashikhmina T.Ya. Adaptation of microbial biotechnologies of soil remediation to real sanitation objects // *Theoretical and Applied Ecology*. 2014. № 4. P. 60–62 (in Russian).
5. Privalenko V.V., Bezuglova O.S. Ecological problems of anthropogenic landscapes of the Rostov region. Rostov n/Don: publishing house SKNC VS, 2003. 288 p. (in Russian)
6. Fritz D.E. Liquidation of oil spills on land by burning (translated from English N. Cheyegin) // *Oil and gas technologies*. 1997. № 5. P. 35–36 (in Russian).
7. Ganeev I.G., Kulagin A.A. Remediation and reclamation of technogenically degraded lands // *Bulletin of the Orenburg State University*. 2009. № 6 (100). P. 554–555 (in Russian).
8. Turkovskaya O.V., Ignatov V.V. Role of microbiology in the development of recultivation techniques for oil-contaminated soils. Proceedings of the scientific conference devoted to the 225th anniversary of the Russian Academy of Sciences «Fundamental and applied research of Saratov scientists for the prosperity of Russia and the Saratov province» March 23–25, 1999. Saratov: Saratov State University, 1999. P. 276–278 (in Russian).
9. Ivanova A.A., Vetrova A.A., Filonov A.E., Boronin A.M. Biodegradation of oil by microbial-plant associations // *Applied biochemistry and microbiology*. 2015. V. 51. № 2. P. 191–197 (in Russian).
10. Tumanov A.S., Ashikhmina T.Ya., et al. A biopreparation with an extended spectrum of biodegradation activity for soil reclamation of the chemical weapons destruction facility «Maradykovsky» // *Theoretical and Applied Ecology*. 2015. № 3. P. 61–69 (in Russian).
11. Filimonov I.V., Yankovskaya A.A. et al. Biotechnological methods of destruction of poisonous substances and products of their detoxification // *Journal of NBC Protection Corps*. 2017. V. 1. № 1. P. 4–15 (in Russian).
12. Kvesitadze G.I., Khatishashvili G.A., Sadunishvili T.A., Evstigneeva Z.G. Metabolism of anthropogenic toxicants in higher plants / Ed. V.O. Popova. Moscow: Nauka, 2005. 199 p. (in Russian).
13. Patent No. 2575063. C12N 1/20, C09C 1/10, C12R 1/38. Authors: K.E. Gavrilov, I.V. Darmov, T.S. Kardakova,

A.G. Lazykin, E.A. Konovalova; Applicant and patent owner of the State Educational Establishment of Higher Education of Vyatka State University; publ. 10.02.2016; bul. № 4 (in Russian)

14. Sinitsin A.N., Rainina E.A., Lozinsky V.I., Spasov S.D. Immobilized cells of microorganisms. Moscow: Moscow State University. 1994. 288 p. (in Russian).

15. Koshcheenko K.A. Immobilized cells of microorganisms and their application // Industrial microbiology. Textbook for High Schools. M.: High School. 1989. P. 216–235 (in Russian).

16. Filina N.A. Study of sorption properties of wood waste for the collection of petroleum products with subsequent disposal of them in the form of fuel briquettes.

Abstract for the degree of Candidate of Technical Sciences. Penza. 2011. 22 p. (in Russian).

17. Ashmarin I.P., Vorobiev A.A. Statistical methods in microbiological studies. L.: Medgiz, 1962. 280 p. (in Russian).

18. Kuyukina M.S., Ivshyna I.B., Serebrennikova M.K. Optimization of the progress of immobilization of cells of alkanotrophic rhodococci on coniferous sawdust under conditions of a column bioreactor // Bulletin of Perm University. 2010. Issue. 1 (1). P. 69–72 (in Russian).

19 Vorobiev A.A. The ideas of Louis Pasteur and the development of infectology and immunology // Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences. 1996. № 6. P. 6–11 (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 (Kirov), Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation

Pogorelskii Ivan Petrovich. Leading Researcher of the Scientific and Research Department. Doctor of Medical Sciences, Professor.

Leshchenko Andrey Anatolyevich. Leading Researcher of the Scientific and Research Department. Doctor of Technical Sciences, Professor

Lazykin Aleksey Gennadyevich. Senior Researcher of the Scientific and Research Department. Candidate of Biological Sciences.

Gurin Konstantin Igorevich. Head of the Scientific and Research Department. Candidate of Medical Sciences.

Teterin Vladimir Valentinovich. Head of the Scientific and Research Department. Candidate of Biological Sciences.

Sharov Dmitry Aleksandrovich. Head of the Scientific and Research Department. Candidate of Technical Sciences.

Contact information for all authors: 23527@mil.ru

Contact person: Leshchenko Andrey Anatolyevich; 23527@mil.ru

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ В РОССИИ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ ВОЙСКАМИ РХБ ЗАЩИТЫ В ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЯХ БИОЛОГИЧЕСКОГО ХАРАКТЕРА

В.В. Канищев, А.С. Морозов, В.П. Лакомов, Ю.В. Омеляненко,
С.Р. Бухаева, Р.Г. Трошев, А.Г. Муравьев

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации (г. Екатеринбург),
620085, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Звездная, д. 1

Поступила 25.05.2018 г. Принята к публикации 15.10.2018 г.

Проведение дезинфекционных мероприятий в случае возникновения эпидемических очагов искусственного или естественного происхождения сопряжено с большим расходом дезинфицирующих средств, особенно в очагах сибирской язвы, и не исключает ситуации, когда запаса табельных дезинфицирующих средств может оказаться недостаточно и потребуются использование нетабельных дезинфицирующих средств. Цель работы – выявить среди зарегистрированных в России дезинфицирующих средств наиболее пригодные для использования войсками РХБ защиты в чрезвычайных ситуациях биологического характера. Всего было проанализировано 770 наименований таких средств. Установлено, что в практику российских медицинских учреждений уже почти два десятилетия внедряются дезинфицирующие средства группы катионных поверхностно-активных веществ (КПАВ) на основе четвертичных аммониевых соединений, аминов, полигуанидинов и композиций этих действующих веществ в различном сочетании. Анализ данных научной литературы и результатов собственных экспериментов показал, что спороцидного эффекта растворы этих дезинфицирующих средств, рекомендуемые для стерилизации и дезинфекции высокого уровня изделий медицинского назначения, не оказывают. Поэтому интерес в качестве нетабельных дезинфицирующих средств для войск РХБ защиты могут представлять лишь дезинфицирующие средства на основе хлорсодержащих и кислородсодержащих действующих веществ. Растворы таких средств имеют широкий спектр антимикробного действия и обеспечивают полную гибель на объектах не только бактерий, вирусов и грибов, но и спор различных бацилл, в том числе и при температурах ниже 0 °С. Наиболее пригодными из них для использования войсками РХБ защиты являются средства в виде быстрорастворимых таблеток на основе натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты, а также в виде жидких концентратов на основе перекиси водорода или надуксусной кислоты. Поэтому в чрезвычайных ситуациях биологического характера вышеуказанные средства должны применяться войсками РХБ защиты по режимам табельного средства на основе аналогичного действующего вещества.

Ключевые слова: дезинфекция; дихлоризоциануровая кислота; надуксусная кислота; очаг биологического заражения; перекись водорода; сибирская язва; спороцидный дезинфицирующий агент; табельное дезинфицирующее средство; техническое средство специальной обработки; четвертичное аммониевое соединение; чрезвычайная эпидемическая ситуация.

Библиографическое описание: Канищев В.В., Морозов А.С., Лакомов В.П., Омеляненко Ю.В., Бухаева С.Р., Трошев Р.Г., Муравьев А.Г. Использование зарегистрированных в России дезинфицирующих средств войсками РХБ защиты в чрезвычайных ситуациях биологического характера // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2. № 3. С. 57–67.

Таблица 1 – Сравнительная оценка дезинфектантов различных классов по основным показателям

Дезинфицирующие средства	Степень выраженности некоторых целевых свойств						
	Спороцидная активность		Токсичность для людей	Совместимость с органическими антифризами	Полифункциональность (дезинфекция и дегазация)	Коррозионная активность	Применимость из штатных технических средств
	при положительных температурах	при отрицательных температурах					
Препараты гипохлорита Са и Na	+ + ¹⁾	+ ¹⁾	+ + + ¹⁾	–	Обеспечивают	+ + +	Обеспечивают
Препараты на основе дихлор или трихлоризоциануровой кислоты	+ +	+	+ +	+	Обеспечивают	+ +	Обеспечивают
Неорганические кислоты	+ +	– ²⁾	+ + +	–	–	+ + +	–
Щелочи	+	–	+ +	–	Обеспечивают	+ +	Обеспечивают
Перекись водорода	+ +	+	+	+ + +	Обеспечивают	+ +	Не из всех
Композиции перекиси водорода с низкомолекулярными органическими кислотами	+ + +	+ +	+	+ + +	Обеспечивают	+ +	Не из всех
Альдегиды	+	–	+ + +	+ + +	Обеспечивают	+	Обеспечивают
Спирты	–	–	+	+ + +	Обеспечивают	–	Обеспечивают
ЧАС	–	–	+	+ + +	–	–	Обеспечивают

Примечание:

¹⁾ (+ + +) – очень высокая; (+ +) – высокая; (+) – низкая; (–) – практически отсутствует;

²⁾ – сведения о применении не найдены.

При проведении войсками РХБ защиты дезинфекционных мероприятий в очагах биологического заражения (ОБЗ) или при других чрезвычайных эпидемических ситуациях имеющегося запаса табельных дезинфицирующих средств может оказаться недостаточно. Например, ликвидация очагов сибирской язвы сопряжена с необходимостью применения высококонцентрированных (спороцидных) рабочих растворов дезинфицирующих средств и большим их расходом на единицу поверхности обрабатываемого объекта. К тому же, не всегда можно заранее оценить масштаб биологического заражения [1, 2].

Цель работы – выявить среди зарегистрированных в России дезинфицирующих средств наиболее пригодные для использования войсками РХБ защиты в чрезвычайных ситуациях биологического характера

Дезинфицирующее средство для специальной обработки должно удовлетворять требованиям, обусловленным спецификой их использования войсками РХБ защиты и возможными

условиями проведения дезинфекции различных объектов в эпидемических очагах искусственного или естественного происхождения. К таким обязательным требованиям относятся следующие [1]:

- широкий спектр антимикробного действия в отношении вегетативных и споровых форм микроорганизмов;

- возможность эффективного применения в условиях как положительных, так и отрицательных температур с использованием штатных технических средств специальной обработки;

- малая токсичность для людей и низкая коррозионная активность в отношении обрабатываемых объектов.

Экономические затраты, связанные с использованием нетабельных дезинфицирующих средств, являются важным аргументом при их выборе. Они должны, на наш взгляд, быть сопоставимы с затратами применения табельных средств.

В таблице 1 дана сравнительная оценка на соответствие указанным выше требованиям ос-

Таблица 2 – Динамика разработки и внедрения в отечественную практику дезинфицирующих средств

Классификация дезинфекционных средств по действующим веществам	Субстанции, использованные в средстве в качестве действующих веществ	Количество дезинфекционных средств по состоянию на декабрь ...		
		2001 г.*	2013 г.**	2017 г.***
Хлорсодержащие	Гипохлорит кальция	16	3	4
	Гипохлорит натрия	4	9	10
	Натриевая соль ДХЦК	14	71	79
	Натриевая соль ТХЦК	2	7	8
	Хлорамин	4	3	3
	Дихлоргидантоин	3	2	4
Кислородсодержащие	Перекись водорода	4	14	20
	Перекись водорода + уксусная кислота (надукс. к-та)	6	23	34
	Перекись водорода + муравьиная кислота (надмур. к-та)	0	1	1
	Перекись водорода + КПАВ (ЧАС или/и ПГМГХ)	1	27	31
	Пербораты, персульфаты, перфториды	8	5	15
Альдегидсодержащие	Альдегид (глutarовый, пента-фталевый, формальдегид и др.)	13	23	33
	Глutarовый альдегид + ЧАС	15	74	86
Катионактивные ПАВ	ЧАС	40	154	164
	Полигуанидин (ПГМГХ)	9	20	31
	Амин	3	18	23
	ЧАС + полигуанидин	11	70	82
	ЧАС + амин	4	77	93
	ЧАС + амин + полигуанидин	0	54	74
Всего дезсредств		158	654	772
* По состоянию на 2001 г. – на основе данных справочника «Дезинфекционные средства» [10]; ** На 2013 г. – обзора Канищева В.В. и Еремеева Н.И. [11]; *** На 2017 г. – по информации, размещенной на сайте «ДЕЗРЕЕСТР» (Национальный справочно-аналитический портал о дезсредствах, зарегистрированных на территории РФ (Official information site on disinfectants). URL: http://www.dezreestr.ru (дата обращения: 30.01.2018).				

новых химических дезинфицирующих веществ с учетом научных данных об их свойствах [3–10].

Из приведенных в таблице 1 данных следует, что среди используемых в качестве действующих веществ известных субстанций нет таких, которые удовлетворяют полностью требованиям специальной обработки. Лишь по совокупности свойств и с учетом наличия спороцидной эффективности можно выделить хлорсодержащие вещества (растворы гипохлоритов, солей дихлор- и трихлоризоциануровой кислоты), а также перекись водорода и ее композиции с органическими кислотами. Другие действующие вещества или не обладают (например, четвертичные аммониевые соединения [3, 5, 7]), или обладают очень слабой спороцидной активностью (например, альдегиды) даже в условиях положительных температур [1, 5, 9].

Общее представление о количестве разработанных за последнее десятилетие действующих веществ и их композиций дают данные таблицы 2.

Как видно из таблицы 2, рынок зарегистрированных для применения в медицинской практике дезинфицирующих средств за последние 16

лет увеличился почти в 5 раз. При этом наибольшими темпами разрабатывались и внедрялись в практику средства группы катионных поверхностно-активных веществ (КПАВ) на основе четвертичных аммониевых соединений, аминов, полигуанидинов и композиций этих действующих веществ в различном сочетании. Их количество увеличилось в 7 раз, так что сегодня они составляют почти 71% от общего количества зарегистрированных дезинфицирующих средств. И это неслучайное явление. Оно отражает тенденцию разработки и внедрения дезинфектантов, диктуемую их спросом и сферой потребления.

В частности, ежедневным потребителем большого объема дезинфицирующих средств стали различные лечебно-профилактические организации (ЛПО). Основной болезнетворной микрофлорой ЛПО, подлежащей уничтожению, являются вегетативные формы микроорганизмов, а объектами дезинфекции – дорогостоящие, чувствительные (в плане повреждения) к воздействию агрессивными жидкостями различные инструменты, приборы, оборудование и т.п. По-

этому дезинфицирующие средства на основе КПАВ, отличающиеся низкой токсичностью и слабой коррозионной активностью [5, 7, 8], стали интенсивно разрабатываться, производиться и внедряться в практику ЛПО многочисленными коммерческими фирмами. В инструкциях по их применению даны режимы для дезинфекции не только в отношении класса низкоустойчивых к дезинфицирующим средствам болезнетворных микроорганизмов, но и класса среднеустойчивых (типа микобактерий туберкулеза, полиовирусов и др.) и даже спор бацилл (более 50 средств)¹.

Вместе с тем известно, что дезинфицирующие средства на основе КПАВ малоэффективны в отношении безоболочечных вирусов и микобактерий, вызывающих туберкулез [5, 7, 8]. А наличие у дезинфектантов на основе КПАВ, не содержащих других спороцидных действующих веществ, режимов стерилизации вступает в противоречие с научными данными о неэффективности дезинфектантов типа четвертичных аммониевых соединений (ЧАС), алкиламинов и гуанидинов в отношении спор бактерий [3, 5, 7, 8, 12–14]. В частности отмечается: «Не обладают спороцидной активностью средства на основе ЧАС, полимерных и мономерных производных гуанидина, третичных алкиламинов, спиртов, производных фенолов и композиционные составы на основе этих соединений, независимо от концентрации последних в рабочих растворах. Перечисленные средства нельзя применять ни для дезинфекции объектов, контаминированных бактериями в споровой форме, ни для стерилизации...» [3].

Это наглядно подтверждают результаты и нашей собственной экспериментальной оценки спороцидных свойств некоторых зарегистрированных в России субстанций и композиционных средств на основе КПАВ, приведенные в таблице 3. Они показывают, что никакого спороцидного эффекта за приемлемое для практики время рабочие растворы этих дезинфицирующих средств, рекомендуемые для стерилизации и дезинфекции высокого уровня изделий медицинского назначения, не оказывают. Порядка 60% ДС этой группы имеют еще и заниженные в десятки (и более) раз бактерицидные концентрации рабочих растворов в угоду обеспечения им преимуществ перед аналогами [11, 16].

Рекомендации по применению дезинфицирующих средств с заниженными концентрациями рабочих растворов, к сожалению, получили широкое распространение. На это обращается внимание в информационном письме Научно-исследовательского института дезинфек-

тологии Роспотребнадзора (ФБУН НИИДезинфектологии, Москва) о результатах экспертной оценки 78 наименований дезинфицирующих средств, зарегистрированных для применения в России, размещенном на официальном сайте института². Установлено, что «более чем в половине случаев рекомендуемые режимы применения дезинфицирующих средств предлагают заниженные концентрации и недостаточное время экспозиции»

Использовать дезинфицирующие средства с такими режимами для дезинфекции микроорганизмов 1 и 2 групп патогенности (а именно с ними будут иметь дело в чрезвычайных эпидемических ситуациях) – значит ставить под угрозу здоровье и жизнь людей.

В этой связи интерес для использования при ликвидации чрезвычайных ситуаций биологического характера войсками РХБ защиты в качестве нетабельных дезинфицирующих средств могут представлять лишь дезинфицирующие средства на основе хлорсодержащих и кислородсодержащих действующих веществ. Растворы таких средств имеют широкий спектр антимикробного действия и обеспечивают полную гибель на объектах не только бактерий, вирусов и грибов, но и спор различных бацилл, в том числе и при температурах ниже 0 °С [2–4, 7, 17, 18].

Поскольку режимы применения и этих потенциально спороцидных дезинфицирующих средств не отработывались с учетом возможности их использования войсками РХБ защиты в чрезвычайных ситуациях, то применяться для этих целей они, на наш взгляд, могут и должны не по инструкциям на них, а по режимам (концентрация и расход) применения табельных дезсредств. А это значит, что концентрация действующего вещества в них и рабочих растворах должна по крайней мере быть сопоставимой с таковой у табельных средств.

С целью объективного и обоснованного выбора пригодных (перспективных) для использования войсками РХБ защиты при ликвидации чрезвычайных эпидемических ситуаций необходимо провести анализ этих групп зарегистрированных дезинфицирующих средств.

Из трех зарегистрированных и производимых в России средств на основе гипохлорита кальция, только два средства удовлетворяют отмеченным ранее требованиям. Одним из них является «Двуосновная соль гипохлорита кальция (ДСГК)», производимая ОАО «Каустик» (Россия, республика Башкортостан, г. Стерлитамак) по ТУ9392-231-00203312-2002. Это сухой порошок, содержащий не менее (39±5)% активного хлора

¹ Национальный справочно-аналитический портал о дезсредствах, зарегистрированных на территории РФ (Official information site on disinfectants). URL: <http://www.dezreestr.ru> (дата обращения: 30.01.2018).

² ФБУН НИИДезинфектологии. Об институте. URL: <http://www.niid.ru/about/> (дата обращения: 10.04.2018).

Таблица 3 – Результаты экспериментальной оценки спороцидной активности растворов дезинфекционных средств на основе катионных поверхностно-активных веществ, рекомендованных производителем для стерилизации медицинских изделий

Коммерческое название средства и его состав	Концентрация действующих веществ в рабочем растворе, процент	Споры тест-культуры	Исходная концентрация спор в растворе дезинфектанта, спор×см ⁻³	Остаточная концентрация живых спор в растворе дезинфектанта через... мин., спор×см ⁻³	
				60	120
«Дельтамин», Рос-сия (50% алкилдиметилбензил-аммоний хлорида)	2,5	<i>B. anthracis</i> (шт. СТИ-1)	(1,49±0,26)×10 ⁸	(1,39±0,05)×10 ⁸	(1,42±0,11)×10 ⁸
		<i>B. subtilis</i> (шт. 3)	(1,09±0,22)×10 ⁸	(1,09±0,16)×10 ⁸	(1,04±0,05)×10 ⁸
		<i>B. cereus</i> (шт. 96)	(1,13±0,06)×10 ⁸	(1,08±0,1)×10 ⁸	(1,0±0,05)×10 ⁸
«Арквад МСВ-50», Голландия (50% алкилдиметилбензил-аммоний хлорида)	5,0	<i>B. anthracis</i> (шт. СТИ-1)	(3,4±0,3)×10 ⁸	(2,8±0,3)×10 ⁸	(2,3±0,3)×10 ⁸
	3,0	<i>B. anthracis</i> (шт. СТИ-1)	(3,4±0,3)×10 ⁸	(3,3±0,3)×10 ⁸	(3,2±0,1)×10 ⁸
		<i>B. subtilis</i> (шт. 3)	(1,7±0,2)×10 ⁸	(1,6±0,2)×10 ⁸	(4,5±0,2)×10 ⁷
		<i>B. cereus</i> (шт. 96) из музея НИИД	(3,2±0,2)×10 ⁸	(3,0±0,1)×10 ⁸	(1,3±0,1)×10 ⁸
«Эмиталь-Комплит», Россия (20% пероксида водорода; 15% алкилдиметилбензил-аммоний хлорида; 5% полигексаметиленгид-рохлорида)	0,6	<i>B. anthracis</i> (шт. СТИ-1)	(1,1±0,02)×10 ⁵	(0,9±0,01)×10 ⁵	Не исследовалось
	0,45				
	0,15				

Примечание.

Испытания препаратов «Дельтамин» и «Арквад МСВ-50» проведены суспензионным методом, препарата «Эмиталь-Комплит» – методом тест-объектов.

(АХ) и расфасованный в металлические барабаны по 66 кг. В разных регионах посреднические оптово-торговые фирмы предлагают его по цене от 39 до 42 руб. за 1 кг³.

Другим препаратом является «Гипохлорит кальция (нейтральный)», производимый компанией «Усолъе Химпром» по ТУ9392-103-57684455-2001. Продается в виде сухого порошка или гранул, содержит от 45 до 54% АХ и расфасован в металлические барабаны по 50 кг. Средняя стоимость на рынке данного препарата в виде гранул составляет 60 руб. за 1 кг [19].

Среди хлорсодержащих средств в качестве нетабельных могут рассматриваться дезинфицирующие средства на основе гипохлорита натрия (натриевой соли хлорноватистой кислоты), а также средства на основе натриевой соли дихлоруксусной или трихлоруксусной кислоты.

Гипохлорит натрия в виде марки А (19% АХ) и марки Б (17% АХ) в России производят в соответствии с ГОСТ 11086-76 ряд коммерческих предприятий: ОАО «Каустик» (г. Стерлитамак), ООО «Новомосковский хлор» (г. Новомосковск), ООО

«Сода Хлорат» (г. Березники), ООО «Русхимтрейд» (г. Дзержинск Нижегородской области).

Девять зарегистрированных дезинфицирующих средств на основе гипохлорита натрия представляют собой жидкие концентраты, разлагающиеся при хранении с резким снижением дезинфицирующей активности. Они содержат всего от 2,5 до 4% активного хлора, но предлагаются по цене от 90 до 140 руб. за 1 л⁴. Необходимость вынужденного их использования войсками РХБ защиты для обеззараживания объектов в отношении вегетативных видов и форм опасных и особо опасных возбудителей, на наш взгляд, маловероятна и нецелесообразна. Нормируемые запасы табельных дезинфицирующих средств на основе более дешевого гипохлорита кальция в войсках РХБ защиты позволяют, с учетом небольших концентраций действующих веществ в рабочих растворах, выполнять большой объем дезинфекционных работ в отношении таких возбудителей.

Наиболее представительной группой хлорсодержащих дезинфицирующих средств явля-

³ Национальный справочно-аналитический портал...

⁴ Там же.

ются, как видно из таблицы 2, средства на основе дихлор- и трихлоризоциануровой кислоты (78 зарегистрированных средств), причем 71 препарат – это дезинфектанты на основе натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты (НДХЦК).

От средств на основе гипохлорита кальция их отличает более высокая дезинфицирующая активность в отношении всех видов и форм микроорганизмов, более низкая токсичность и коррозионная активность, хорошая растворимость без образования осадка [18–22]. В этих средствах может содержаться 45–50% АХ. Они выпускаются в виде гранул и таблеток. Подавляющее количество этих средств, зарегистрированных для применения в России, представляют собой однотипные по составу средства в виде таблеток в герметичной пластиковой емкости. Вес таблетки может составлять от 3,2 до 3,6 г. При ее растворении выделяется 1,5 г АХ (т.е. при растворении 1 таблетки в 1 литре воды образуется дезинфицирующий раствор в концентрации 0,15% АХ).

Следует отметить, что это единственная группа дезинфицирующих средств, в которой в инструкциях по применению рекомендуются объективные режимы. В частности, для дезинфекции объектов в отношении бактерий и вирусов класса низкой устойчивости к дезинфектантам (к ним относятся бактерии и вирусы, являющиеся возбудителями опасных и особо опасных инфекций) рекомендуется использовать 0,015–0,02% по АХ раствор, при его расходе (150–200) мл/м² и экспозиции 60 мин [11, 12, 22].

Несмотря на то, что НДХЦК является действующим веществом, обладающим спороцидной активностью, почти все зарегистрированные дезинфицирующие средства режимов применения в отношении спор не имеют. Их обработка просто не заказывалась производителем по причинам чисто коммерческого плана.

Исследованиями, проведенными в НИЦ ФГБУ 48 ЦНИИ МО РФ (г. Екатеринбург), показано, что 1,5% по АХ раствор НДХЦК, содержащий 0,3% поверхностно-активного вещества СФ-2У, при обработке им объектов методом орошения мелкодисперсным аэрозолем с расходом 0,2 л/м² и экспозиции 60 мин эффективно обеспечивает гибель спор тест-культур *B. anthracis* (штамм СТИ-1) и *B. subtilis* (штамм 3) на поверхности объектов.

Анализ информации по этим средствам на сайте «ДЕЗРЕЕСТР»⁵ показывает, что средняя рыночная стоимость 1 кг (330 таблеток по 3,4 г) средств на основе НДХЦК составляет 366 руб. То есть стоимость 1 л такого раствора составляет порядка 11 руб. При расходе его 0,2 л/м² затраты по средству на дезинфекцию 1 м² поверхности объекта будут составлять 2,2 руб.

Аналогичные расчеты по средству на основе гипохлорита кальция показывают, что если исходить из самой низкой цены (52 руб. за 1 кг) на препарат ДСГК с концентрацией (37–39)% активного хлора, производимый ЗАО «Каустик» [12], и норме расхода 4,0 л/м², то затраты на средство для дезинфекции 1 м² поверхности объекта в отношении споровых форм микробов составят порядка 14,8 руб. (т.е. практически в 7 раз больше, чем при использовании НДХЦК).

Однако экспериментальные исследования, проведенные в НИЦ ФГБУ 48 ЦНИИ МО РФ, показали, что использование 2,5% (по АХ) раствора гипохлорита кальция с добавлением в раствор 0,3% поверхностно-активного вещества СФ-2У позволяет сократить расход рабочего раствора до 0,5 л/м². В этом случае затраты по дезинфицирующему средству на обработку 1 м² поверхности объекта будут составлять всего 1,85 руб. То есть затраты на проведение дезинфекции объектов с использованием средств на основе гипохлорита кальция и натриевой соли дихлор- или трихлоризоциануровой кислоты становятся практически сопоставимы.

Таким образом, дезинфицирующие средства на основе солей ди- и трихлоруксусной кислоты, зарегистрированные в России и имеющие рыночную стоимость до 370 руб. за 1 кг, могут при необходимости быть использованы войсками РХБ защиты в качестве нетабельных средств дезинфекции.

К высокоэффективным (в том числе и в отношении споровых форм микроорганизмов) дезинфектантам, широко используемым в медицинской практике для дезинфекции и стерилизации различных объектов, относится перекись водорода [1, 2, 7, 8, 17, 22–24].

Сегодня ДС на основе перекиси водорода (ПВ) представляют достаточно большую группу (порядка 100 препаратов) зарегистрированных средств. Кислородсодержащие препараты различаются как по составу компонентов, так и по концентрации в них ПВ и, следовательно – по спектру антимикробного действия. Например, достаточно большую группу (34 дезинфицирующих средства) сегодня представляют композиции ПВ с ЧАС или с полигуанидином. Но такие средства, как правило, рекомендуются только для дезинфекции в отношении бактерий, вирусов и грибов. При этом их стоимость может до 10 раз быть выше 30% ПВ. Поэтому в качестве нетабельных дезинфицирующих средств их рассматривать нет оснований.

Учитывая, что выраженную спороцидную эффективность растворы перекиси водорода проявляют в концентрации (6–10)% [2, 5, 17, 22, 24], то и перспективу для использования (при

⁵ Национальный справочно-аналитический портал...

необходимости) войсками РХБ защиты в качестве нетабельных дезинфицирующих средств могут составлять дезинфектанты, содержащие в составе не менее 10% ПВ. Однако из 20 зарегистрированных дезинфицирующих средств, содержащих только ПВ и анионактивный или неионогенный ПАВ, таких всего 5⁶. В этой связи большую перспективу использования в качестве нетабельного дезинфицирующего средства представляет сама ПВ, промышленно выпускаемая в России и широко используемая медицинскими организациями на всей ее территории.

Например, помимо крупнотоннажного производства перекиси водорода с концентрацией 35–50% в г. Новочебоксарске (ОАО «Химпром») и г. Дзержинске Нижегородской области (ООО «СИНТЕЗ Ацетон»), в небольших объемах (от 15 до 150 т) такая перекись водорода производится в г. Твери («Тверская фармацевтическая кампания») и в г. Новосибирске (ООО «Аназит»). Выпускаемая этими производителями ПВ предлагается (чаще в пластиковых емкостях по 20 л) различными посредническими фирмами во многих регионах РФ.

Цена перекиси водорода составляет от 20 до 42 руб. за 1 кг в пересчете на 30% концентрацию (цена существенно зависит от затрат на доставку товара от производителя до потребителя). Например, цена ПВ, которая производится в ОАО «Химпром», составляет от 25 руб. за 1 кг. Используя ее, можно из 1 л ПВ приготовить 3 л 10% раствора, обеспечивающего эффективное обеззараживание объекта за 60 мин при расходе 0,2 л/м² в отношении спорных форм бактерий. При такой цене затраты на перекись водорода для эффективной обработки 1 м² поверхности ВВТ в отношении спор при положительной температуре будут составлять порядка 1,7 руб. Это сопоставимо с затратами при использовании хлорсодержащих средств по существующим режимам специальной обработки.

Как видно из таблицы 2, среди кислородсодержащих дезинфицирующих средств достаточно большую группу представляют рецептуры, в которых основную роль действующих веществ выполняет не ПВ, а органическая надкислота. Ранее в медицинской и ветеринарной практике для дезинфекции и стерилизации различных объектов такие средства широко производились и использовались [2, 5, 17, 24]. В большом объеме промышленным способом было организовано производство (например, в г. Дзержинске Нижегородской области) дезинфицирующего средства под названием «Дезоксон-4», которое представляло собой смесь, содержащую от 5 до 9% надуксусной кислоты (НУК), от 12 до 22% ПВ и до

12% уксусной кислоты (УК). Для дезинфекции поверхностей различных объектов в отношении спор возбудителя сибирской язвы рекомендовалось его использовать в виде 1% (по НУК) раствора с расходом 0,5 л/м² способом орошения или 0,2 л/м² способом протирания и при экспозиции 60 мин. Для дезинфекции в отношении бактерий и вирусов, в том числе и наиболее устойчивых (типа вируса полиомиелита), их применяют в концентрации 0,05–0,2% (по НУК) и при экспозиции 30 мин [2, 5, 17, 21].

Как видно из таблицы 2, на рынке дезинфектантов в России предлагается (в основном для стерилизации и дезинфекции высокого уровня) более 30 подобных дезинфицирующих средств. Они представляют собой как готовые к применению растворы с содержанием от 0,14 до 0,23% НУК и от 6 до 7,5% ПВ, так и концентраты, содержащие до 25% ПВ и не менее 5% НУК. Пятнадцать дезинфицирующих средств на основе НУК предлагаются отечественными фирмами. Однако реально – это дезинфицирующие средства, производимые путем разведения готовой импортной субстанции-концентрата, с высоким содержанием НУК, ПВ и УК. В них могут присутствовать (в разном соотношении) и другие вещества в виде вспомогательных компонентов, снижающих коррозионное воздействие НУК или повышающих поверхностно-активные свойства рабочих растворов⁷.

Как и дезинфицирующие средства на основе НДХЦК, для дезинфекции поверхностей различных объектов в отношении спор возбудителя сибирской язвы (особенно применительно к условиям дезинфекции в очаге биологического заражения) эти средства реально не испытывались и режимов применения не имеют. Поэтому наибольшую перспективу использования для рассматриваемых целей имеют, на наш взгляд, зарегистрированные дезинфицирующие средства, представляющие собой жидкий концентрат, содержащий до 25% ПВ и не менее 5% НУК (их можно рассматривать аналогами проверенного отечественной практикой средства «Дезоксон-4») стоимостью от 167 до 427 руб. за литр. Рекомендуемая концентрация рабочего раствора в отношении спор возбудителя сибирской язвы составляет 1% по НУК. При использовании раствора в такой концентрации и с расходом 0,2 л/м² затраты по средству на дезинфекцию 1 м² поверхности объекта способом орошения мелкодисперсным аэрозолем будут составлять от 6,7 до 22 руб.

Таким образом, на основании и с учетом изложенного выше, можно сделать следующие выводы:

1. Среди предлагаемых отечественными производителями зарегистрированных дезин-

⁶ Национальный справочно-аналитический портал...

⁷ Там же.

фицирующих средств наиболее пригодными для использования войсками РХБ защиты в качестве нетабельных являются средства в виде быстрорастворимых таблеток на основе НДХЦК, а также в виде жидких концентратов на основе ПВ или композиции на основе ПВ и НУК.

2. При необходимости эти дезинфицирующие средства могут эффективно и с приемле-

мыми экономическими затратами быть использованы войсками РХБ защиты для проведения дезинфекционных мероприятий в отношении вегетативных и споровых форм микроорганизмов при положительных и отрицательных температурах при ликвидации эпидемических очагов искусственного и естественного происхождения.

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. Буянов В.В., Никольская В.П., Канищев В.В. и др. Средства дезинфекции для ликвидации последствий биологического заражения при различных температурах окружающей среды М.: Черноголовка, 2003. 277 с.
2. Канищев В.В., Буянов В.В., Литусов Н.В., Никольская В.П. и др. Спороцидная активность дезинфицирующих средств на основе пероксида водорода // Вестник Российской академии медицинских наук. 2004. № 1. С.23–30.
3. Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств дезинфекции и стерилизации для использования в медицинских организациях (утверждены Профильной комиссией Минздрава России по эпидемиологии 20.11.2014 г.). М.: НП «НАСКИ», 2015. 67 с.
4. Украинцев А.Д., Власов И.Г., Крашенинникова Т.К., Краснопецева И.В. и др. Сравнительный анализ средств, применяемых для дезинфекции опасных микроорганизмов // Химическая и биологическая безопасность. 2005. № 6. С. 3–25.
5. Федорова Л.С., Арефьева Л.И., Путинцева Л.С. и др. Современные средства дезинфекции и дезинсекции. Характеристика, назначение, перспективы. М.: 1991. 92 с.
6. Абрамова И.М., Сукиасян А.Н., Копылова А.И. Спороцидная активность глутарового альдегида в зависимости от pH и температуры растворов // Основные направления дезинфекционного дела. Сборник научных трудов. М.: 1986. С. 58–61.
7. Шандала М.Г. Актуальные вопросы общей дезинфектологии. Избранные лекции. М.: 2009. 111 с.
8. Райнбабен Ф. Основы противовирусной дезинфекции. М.: 2014. 525 с.
9. Абрамова И.М. Изучение спороцидной ак-

тивности глутарового альдегида и композиций на его основе // Основные направления дезинфекционного дела: сборник научных трудов. М., 1981. С. 46–48.

10. Дезинфекционные средства. Справочник в двух томах, выпуск 3-й. Дезинфицирующие средства. Т. 1, часть 1 / Под ред. Иванова С.И. и Шандалы М.Г. М.: 2000. 207 с.

11. Канищев В.В., Еремеева Н.И. Выбор и применение современных дезинфицирующих средств. Желаемое и реальность // Дезинфекционное дело. 2016. № 1. С. 28–36.

12. Шеина И.В., Скворцова Е.К., Тибаева В.Н. Эффективность водных растворов катионных веществ при обеззараживании поверхностей // Научные основы дезинфекции и стерилизации: сборник научных трудов. М.: 1980. С. 16–19.

13. Нехорошева А.Г., Скворцова Е.К., Лиманов В.Е. и др. Изучение антибактериальной активности алкилдиметилбензиламмоний хлорида // Проблемы дезинфекции и стерилизации: труды Центрального научно-исследовательского института дезинфектологии. М., 1969, Вып. 20. С. 40–49.

14. Федорова Л.С., Арефьева Л.И., Панкратова Г.П. и др. Антимикробная активность, дезинфицирующие свойства и токсичность алкил (C12-C14) диметилбензиламмоний хлорида // Современные методы и средства дезинфекции и стерилизации. М.: 1989. С. 17–20.

15. Гембицкий П.А., Воинцева И.И. Полимерный биоцидный препарат полигексаметиленгуанидин. Запорожье, 1998. 43 с.

16. Шестопапов Н.В., Федорова Л.С., Серов А.А. Научно-методическое обоснование ротации дезинфицирующих средств в медицинских организациях на основе оценки чувствительности к ним госпиталь-

ных штаммов микроорганизмов // Дезинфекционное дело. 2017. № 4. С. 28–32.

17. Федорова Л.С. Теория и практика совершенствования дезинфицирующих средств. М.: 2006. 216 с.

18. Барсукова Э.М., Рубинов Г.Е., Соколова Н.Ф. Эффективность хлорцина, ДП-2, дезоксона при обеззараживании объектов, зараженных возбудителем сибирской язвы // Актуальные вопросы дезинфекции и стерилизации. М. 1984. С. 14–17.

19. Обзор рынка гипохлорита кальция в СНГ. М.: 2010. 92 с.

20. Соколова Н.Ф., Михайлова Л.М. Оптимальный способ активации натриевой соли дихлоризидануровой кислоты // Основные направления развития науки и практики дезинфекционного дела. М., 1981. С. 26–29.

21. Соколова Н.Ф. Актуальные проблемы не-

специфической профилактики сибирской язвы // Материалы научно-практической конференции, посвященной 75-й годовщине со дня рождения Заслуженного деятеля науки Российской Федерации академика РАМН Беньямина Лазаревича Черкасского. М., 2009. С. 59–68.

22. Jto K.A., Denny C.B., Brawn Ch.K., Voo M., Seeger M. Resistance of bacterial spores to hydrogen peroxide // Food Technol. 1973. V. 27. P. 58–66.

23. Sprobig M. Peressigsäure-25 Jahre Entwicklung und Erfahrung. Mikrobielle Umwelt und antimikrobielle Maßnahmen // Schrittenreihe für Theorie und Praxis in Medizin, Pharmazie und Wirtschaft. Leipzig. 1988. V. II. P. 136–139.

24. Baaldry M.L. The bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid // Appl. Bact., 1983. V. 54, № 3. P. 417–423.

Об авторах

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Екатеринбург). 620085, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Военная, д. 1.

Канищев Владимир Васильевич. Старший научный сотрудник отдела, д-р мед. наук, проф.

Морозов Александр Сергеевич. Начальник отдела, канд. техн. наук.

Лакомов Владимир Павлович. Ведущий научный сотрудник, канд. техн. наук.

Омельяненко Юлия Валерьевна. Старший научный сотрудник отдела, канд. техн. наук.

Бухаева Светлана Рамазановна. Научный сотрудник отдела.

Трошев Роман Геннадьевич. Старший научный сотрудник отдела.

Муравьев Алексей Геннадьевич. Старший научный сотрудник отдела.

Контактная информация для всех авторов: 27nc_1@mail.ru

Контактное лицо: Канищев Владимир Васильевич; 27nc_1@mail.ru

USE OF DISINFECTANTS, REGISTERED IN RUSSIA, BY THE NBC PROTECTION TROOPS IN BIOLOGICAL EMERGENCIES

V.V. Kanischev, A.S. Morozov, V.P. Lakomov, Yu.V. Omelyanenko,

S.R. Buhaeva, R.G. Troshev, A.G. Muravyov

Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Zvezdnaya street 1, Yekaterinburg 620085, Russian Federation

Disinfection measures in the event of an outbreak of epidemics created by natural and artificial causes are connected with high consumption of disinfectants, especially in anthrax foci. This does not exclude the situation, when the stock of authorized disinfectants may turn out to be insufficient. So it will be necessary to use non-authorized disinfectants. The aim of this paper is to reveal among the disinfectants, registered in Russia, the most convenient to use by the NBC Protection Troops in epidemic emergencies. 770 such disinfectants have been analyzed. It is established, that the disinfectants of the group of cationic surfactants (CPAS) based on quaternary ammonium compounds,

amines, polyguanidines and compositions of these active substances in various combinations have been introduced into practice of Russian medical institutions for almost two decades. The analysis of the scientific literature and the results of our own experiments show that the solutions of these disinfectants, recommended for high-level sterilization and disinfection of medical devices, do not have any sporicidal effect. Because of that, only disinfectants based on chlorine-containing and oxygen-containing active substances can be interesting for the NBC Protection Troops and may be used as non-authorized disinfectants. The solutions of such agents have a wide range of antimicrobial action and provide complete death of not only bacteria, viruses and fungi, but also spores of various bacilli, at temperatures below 0 °C as well. The most convenient in use by the NBC Protection Troops are the products in the form of instant tablets based on sodium dichloroisocyanuric acid, as well as in the form of liquid concentrates based on hydrogen peroxide or peracetic acid. Because of that the above mentioned agents should be used by the NBC Protection Troops in cases of biological emergencies according to the regimes of standard approved disinfectants.

Keywords: *disinfection; dichloroisocyanuric acid; peracetic acid; focus of biological contamination; hydrogen peroxide; anthrax; sporicidal disinfecting agent; approved means of disinfection; technical means of special decontamination; quaternary ammonium compound; epidemic emergency.*

For citation: *Kanischev V.V., Morozov A.S., Lakomov V.P., Omelyanenko Yu.V., Buhaeva S.R., Troshev R.G., Muravyov A.G. Use of Disinfectants, Registered in Russia, by the NBC Protection Troops in Biological Emergencies // Journal of NBC Protection Corps. 2018. V. 2 № 4. P. 57–67.*

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. Buyanov V.V., Nikolskaya V.P., Kanischev V.V. at al. Disinfectants for the liquidation of aftereffects of biological contamination in different thermal conditions of the environment // Institute of Problems of Chemical Physics RAS, Chernogolovka, 2003. 277 p. (in Russian).
2. Kanischev V.V., Buyanov V.V., Litusov N.V., Nikolskaya V.P. at al. Sporicidal activity of disinfectants on the base of hydrogen peroxide // Annals of the Russian academy of medical sciences. 2004. № 1. P. 23–30 (in Russian).
3. Federal clinic recommendations for the choice of chemical disinfectants and means of sterilization for usage in medical organizations (adopted by the Profile commission of Health Ministry on epidemiology 20.11.2014). M.: 2015. 67 p. (in Russian).
4. Ukraitsev A.D., Vlasov I.G., Krashenninnikova T.K. et al. Comparative analysis of means used for disinfection of dangerous microorganisms // Chemical and biological safety. 2005. № 6. P. 3–25 (in Russian).
5. Fedorova L.S., Arefieva L.I., Putintseva L.S. at al. Modern means of disinfection and disinsection. Characteristics, appointment, prospects. M.: 1991. 92 p. (in Russian).
6. Abramova I.M., Sukiasyan A.N., Kopylova A.I. Sporicidal activity of glutaraldehyde in accordance to pH and temperature solutions // Basic directions of disinfection. Collection of scientific works. M., 1986. P. 58–61 (in Russian).
7. Shandala M.G. Topical issues of common disinfectology. Selected lectures. M.: Medecine, 2009. 111 p. (in Russian).
8. Rheinbaben Friedrich von. Principles of virucidal disinfection. M.: 2014. 525 p. (in Russian).
9. Abramova I.M. Study of sporicidal activity of glutaraldehyde and the compositions on its base // Main Trends of Disinfection. Collection of scientific works. M., 1981. P. 46–48 (in Russian).
10. Disinfectants. Handbook in two volumes. Is. 3. Disinfectants. Part 1, V. 1 / Ed. S.I. Ivanov and M.G. Shandala. M.: 2000. 207 p. (in Russian).
11. Kanichev V.V., Ereemeeva N.I. Choice and use of current disinfectants. Desired and reality // Disinfection affairs. 2016. № 1. P. 28–36 (in Russian).
12. Sheina I.V., Skvortsova E.K., Tibaeva V.N. at al. The effectiveness of aqueous solutions of cation-carrier substances during the disinfection of surfaces // Scientific

bases of disinfection and sterilization. Scientific works. The analects. M.: 1980. P. 16–19 (in Russian).

13. Nehorosheva A.G., Skvortsova E.K., Limanov V.E. et al. Study of antibacterial activity of alkyl dimethylbenzylammonium chloride. Problems of disinfection and sterilization // Works of Central Scientific Research Institute of Disinfection. Moscow, 1969. Ed. 20. P. 40–49 (in Russian).

14. Fyodorova S.L., Arefieva L.I., Pankratova G.P. et al. Antimicrobial activity, disinfectant qualities and toxicity of alkyl (P. 12–14) dimethylbenzylammonium chloride // The contemporary methods and means of disinfection and sterilization. M.: 1989. P. 17–20 (in Russian).

15. Gembizkiy P.A., Voinzeva I.I. Polymer biocide preparation polyhexamethylene guanidine. Zaporozhie. 1998, 43 p. (in Russian).

16. Shestopalov N.V., Fyodorova L.S., Serov A.A. Scientific-methodic substantiation of rotation of disinfectants in medical organizations on the bases of the estimation to sensibility to hospital strains of microorganisms // Disinfection affairs. 2017. № 4. P. 28–32 (in Russian).

17. Fyodorova L.S. Theory and practice of disinfectants development. M.: 2006. 216 p. (in Russian).

18. Barsukova E.M., Rubinov G.E., Sokolova N.F. Effectivity of clorcine, DP-2, desoxone during the disinfection

of objects, contaminated by the pathogen of anthrax // Actual questions of disinfection and sterilization. M.: 1984. P. 14–17 (in Russian).

19. Observation of hypochlorite calcium market in CIS // M.: 2010. 92 p. (in Russian).

20. Sokolova N.F., Mihailova L.M. Optimal way of activation of sodium salt of diclorisicianurate acid // Basic directions of the development of science and practice of disinfection. M.: 1981. P. 26–29 (in Russian).

21. Sokolova N.F. Actual questions of nonspecific prevention of anthrax // Materials of scientific-practical conference dedicated to the 75-th birth anniversary of the Honored worker of science of the Russian Federation academician of RAMS Benyamin Lazarevich Cherkasskiy. M.: 2009. P. 59–68 (in Russian).

22. Jto K.A., Denny C.B., Brawn Ch.K., Voo M., Seeger M. Resistance of bacterial spores to hydrogen peroxide // Food Technol. 1973. V. 27. P. 58–66.

23. Sprobig M. Peressigsure-25 Jahre Entwieckliend und Erfahrung. Mixrobielle Umwelt und antimicrobielle Mabnahmen // Schrittenreiche fur Theorie und Praxis in Medizin, Pharmazie und Wirtckhaft. Leipzig. 1988. V. II. P. 136–139.

24. Baaldry M.L. The bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid // Appl. Bact. 1983. V. 54. № 3. P. 417–423.

Authors

Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Zvezdnaya street 1, Yekaterinburg 620085, Russian Federation.

Kanischev Vladimir Vasilyevich. Senior Researcher of the Department. Doctor of Medical Sciences. Professor.

Morozov Aleksandr Sergeevich. Chief of the Scientific and Research Department. Candidate of Technical Sciences.

Lakomov Vladimir Pavlovich. Leading Researcher of the Department. Candidate of Technical Sciences.

Omelyanenko Yulia Valeryevna. Senior Researcher of the Department. Candidate of Technical Sciences.

Buhaeva Svetlana Ramazanovna. Researcher of the Department.

Troshev Roman Gennadyevich. Senior Researcher of the Department.

Muravyov Aleksey Gennadyevich. Senior Researcher of the Department.

Contact information for all authors: 27nc_1@mil.ru

Contact person: Kanischev Vladimir Vasilievich; 27nc_1@mil.ru

УСТРОЙСТВО ДЛЯ АЭРОЗОЛЬНОЙ ДЕЗИНФЕКЦИИ ВООРУЖЕНИЯ, ВНУТРЕННИХ ОБЪЕМОВ ВОЕННОЙ ТЕХНИКИ И СООРУЖЕНИЙ

А.В. Крючков, М.Б. Смирнов, В.Д. Красаков

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

Поступила 17.07.2018 г. Принята к публикации 15.10.2018 г.

Дезинфекция вооружения, внутренних объемов военной техники и сооружений – важный элемент защиты населения и личного состава войск от биологических поражающих агентов. Для увеличения вероятности контакта дезинфектанта с объектом дезинфекционной обработки, повышения активности дезинфектанта в расчете на единицу его массы, существенного снижения его расхода и уменьшения времени обработки, требуется, чтобы жидкие дезинфицирующие препараты эффективно переводились генератором в аэрозоль с размерами частиц 1–30 мкм. Для создания такого аэрозоля нами разработано устройство, представляющее собой резервуар с крышкой, на которой установлены четыре распылителя, соединенных воздушными магистралями из армированного резинового шланга. Подача сжатого воздуха на распылители осуществляется через штуцер, закрепленный сваркой на крышке. Для подачи дезинфектанта к распылителям служит заборная трубка, позволяющая подавать раствор для диспергирования за счет возникающей при подаче сжатого воздуха эжекции. В верхней части крышки вварена горловина с мелкоячеистой сеткой, через которую проводится заполнение устройства дезраствором. Сетка также препятствует попаданию в резервуар твердых частиц, которые могут привести к засорению жидкостных сопел распылителей, и, как следствие – к нарушению процесса диспергирования дезинфектанта. Для удобства переноски установки на горловине имеется ручка. К нижней части резервуара приварены три короткие опоры, позволяющие установить устройство на любую горизонтальную поверхность. Общие габаритные размеры устройства: диаметр – 270 мм, высота – 195 мм. Объем резервуара для дезинфектанта составляет 5 дм³. Также рассмотрены основные приемы использования технических средств для проведения аэрозольной дезинфекции помещений и факторы, влияющие на обеспечение качества дезинфекционной обработки. Определена необходимость системного подхода к выбору технических средств, дезинфектантов и режимов дезинфекционной обработки методом аэрозольной дезинфекции.

Ключевые слова: аэрозольная дезинфекция; вооружение и военная техника; техническое устройство; дезинфектант; генератор аэрозолей; контаминация; дисперсный состав аэрозоля.

Библиографическое описание: Крючков А.В., Смирнов М.Б., Красаков В.Д. Устройство для аэрозольной дезинфекции вооружения, внутренних объемов военной техники и сооружений // Вестник войск РХБ защиты. 2018, Т. 2. № 4. С. 68–74.

Принятие в 1972 году Конвенции о запрещении разработки, производства и накопления запасов бактериологического (биологического) и токсинного оружия и об их уничтожении¹ не

¹ Конвенция о запрещении разработки, производства и накопления запасов бактериологического

должно ослабить внимания к защите от данного вида оружия массового поражения. Опасность применения биологического оружия (БО) против войск и населения Российской Федерации по-прежнему существует [1, 2]. Поэтому биологическая защита является одним из видов оперативного (боевого) обеспечения Вооруженных Сил Российской Федерации.

Биологическая защита войск организуется и проводится с целью максимально снизить потери войск и обеспечить выполнение поставленных им задач в условиях применения противником БО. Опыт проведения войсковых и командных учений различного уровня показывает, что совершенствование биологической защиты должно идти по двум направлениям – совершенствование способов выполнения войсками задач биологической защиты своими силами и развитие табельных войсковых средств биологической защиты. Защита населения и личного состава войск от биологических поражающих агентов (БПА) достигается, в том числе, организацией и проведением ряда противоэпидемических мероприятий, среди которых важное значение имеют дезинфекционные мероприятия. В их задачи входит, в частности, проведение дезинфекционной обработки вооружения, внутренних объемов военной техники и сооружений [3].

При проведении дезинфекции определяющим является выбор средств и методов дезинфекции. Разработка таких методов и средств представляет собой актуальную проблему. Следует отметить, что к настоящему времени наибольшее распространение получили такие методы дезинфекции, как протирание, замачивание и орошение. Традиционная методика дезинфекционной обработки, заключающаяся в орошении и протирании поверхностей оборудования, нижних уровней стен, в локальной обработке предметов и пола с последующей экспозицией в течение определенного времени, не всегда обеспечивает полноту дезобработки. На поверхностях внутренних объемов зараженных объектов может быть большое количество «мертвых» зон – дефектов в виде щелей, капилляров, глухих отверстий и пр. Методы орошения и протирания позволяют нанести дезинфектант только на доступные наружные поверхности. При этом крупные капли дезинфектанта не проникают в глубину микропористых поверхностей и поверхностей с деструктивными повреждениями. Также они не проникают вглубь клеточных конгломератов. Таким образом, при применении орошения и протирания для обработки помещений не достигается полный контакт дезинфектанта с загрязнениями на поверхности. Тради-

ционные методы дезинфекции малоэффективны при дезинфекции контаминированного воздуха внутренних объемов помещений и военной техники. Между тем, эффективная дезинфекция замкнутых объемов объекта предполагает уничтожение микроорганизмов на всех поверхностях и во внутреннем объеме объекта [4].

Для обеззараживания воздуха и поверхностей разработан метод аэрозольной (объемной) дезинфекции, основанный на использовании дезинфектантов в виде мелкодисперсных аэрозолей. Данный метод наиболее эффективен при обработке внутренних поверхностей замкнутых объектов. Аэрозольное облако, созданное из дезинфицирующего раствора генератором аэрозоля, в течение нескольких минут заполняет замкнутый объем и находящееся в нем оборудование. Часть аэрозоля конденсируется на поверхностях в виде пленки, заполняя все мельчайшие углубления и трещины. Аэрозольная дезинфекция позволяет проводить полное обеззараживание как воздушной среды, так и всех поверхностей в помещении. Эффективность метода аэрозольной дезинфекции была доказана еще в середине 80-х годов прошлого века, однако широкого распространения тогда он не получил вследствие отсутствия оборудования, обеспечивающего перевод необходимого количества дезинфектанта в мелкодисперсный аэрозоль со среднегеометрическим диаметром частиц от 1 до 30 мкм, а также дезинфектантов, позволяющих проводить обработку помещений при небольших концентрациях аэрозоля [5–9].

Необходимость создания мелкодисперсного аэрозоля для дезобработки внутренних объемов оборудования и помещений поясняет сопоставление результатов расчетов площадей поверхности, которые покрывают осевшие аэрозольные частицы разных размеров. Так, если при некоторой массовой концентрации аэрозоля частицы с диаметром 100 мкм выпадут на поверхность площадью 1 см² в количестве 13 тыс. штук, то они покроют 10% площади. Частиц с диаметром 10 мкм с той же массовой концентрацией будет в тысячу раз больше, и они покроют практически всю поверхность. При этом, если частицы более крупного размера будут держаться в воздухе 10–20 с, то частицы меньшего размера – 0,5–1 ч, что позволит мелкодисперсному аэрозолю проникнуть во все мелкие дефекты поверхности и обеспечит инактивацию микроорганизмов в воздухе.

В настоящее время в практике дезинфекции используются аэрозольные генераторы, действие которых основано на принципах механического и пневматического диспергирования, центро-

(биологического) и токсинного оружия и об их уничтожении. URL: http://www.un.org/ru/documents/decl_conv/conventions/bacweap.shtml (дата обращения: 10.05.2018).

бежного дискового распыла, а также термомеханического распыления растворов дезинфектантов. Однако не все генераторы удовлетворяют запросам практики. Одни не позволяют создавать аэрозоль требуемой дисперсности, другие не обладают достаточной производительностью по расходу дезинфектанта [10]. Так, требуемый по дисперсности аэрозоль позволяет создать отечественная установка САГ-1, но она характеризуется весьма низкой производительностью. Хорошую производительность имеют установки НТП с приводом ВДМ и АУ-1, а также термомеханический генератор АГ-УД-2, но получаемый аэрозоль является грубодисперсным. Часть генераторов монтируется на шасси, что не совсем приемлемо при дезинфекции помещений.

При использовании в качестве дезинфектанта перекисных растворов недопустимо герметизирование дезсредства в расходной емкости, а также использование механических или пневматических схем для создания давления в жидкостных коммуникациях. В оптимальных условиях перекисные растворы должны поступать в диспергирующие устройства самотеком. Эти требования к использованию перекисных растворов также ограничивают применение многих аэрозольных генераторов.

К новейшим эффективным технологиям проведения дезинфекции можно отнести проведение аэрозольной дезинфекции при помощи горячего и холодного тумана, получаемых термомеханическими генераторами и генераторами ультрамалообъемной обработки². Однако вследствие сложности конструкции и эксплуатации, а также их высокой стоимости, такие генераторы не получили в России широкого распространения.

При использовании метода аэрозольной дезинфекции в качестве дезинфектантов допускается использовать только дезинфицирующие средства, которые прошли тестирование на микробиологическую эффективность для аэрозольного способа применения, так как дезинфектанты и режимы обработки, эффективные при традиционных способах дезобработки, могут оказаться абсолютно неэффективными в случае использования их для аэрозольной дезинфекции [11].

Для увеличения вероятности контакта дезинфектанта с объектом обработки, повышения активности дезинфектанта в расчете на единицу массы, существенного снижения его расхода и уменьшения времени обработки, требуется, чтобы жидкие дезинфицирующие препараты эффективно переводились генератором в аэрозоль с размерами частиц 1–30 мкм.

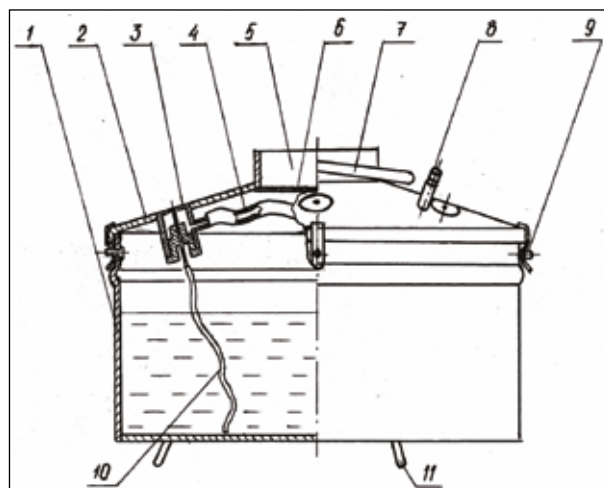


Рисунок 1 – Схема технического устройства для аэрозольной дезинфекции

(1 – резервуар, 2 – крышка, 3 – распылитель, 4 – резиновый шланг, 5 – горловина, 6 – мелкоячеистая сетка, 7 – ручка, 8 – штуцер, 9 – защелка, 10 – резиновая трубка, 11 – опора)

Для проведения аэрозольной дезинфекции замкнутых небольших объемов (до 100 м³) специалистами филиала 48 ЦНИИ Минобороны России (г. Киров) разработано техническое устройство, удовлетворяющее следующим требованиям:

конструкционный материал устройства устойчив к коррозионному действию дезинфектантов, а также к ударным и другим видам внешнего воздействия;

устройство может быть использовано для обработки внутренних поверхностей бронетанкового вооружения и техники и проведения дезинфекционной обработки различных внутренних объемов в полевых условиях с применением штатной войсковой техники;

устройство может быть использовано специальными мобильными группами, выполняющими задачи в отрыве от основных подразделений;

имеет простую технологическую конструкцию, которая позволяет осуществлять его производство с минимальными затратами и эксплуатацию персоналом даже невысокой квалификации.

Конструкция технического устройства для аэрозольной дезинфекции представлено на рисунке 1.

Устройство представляет собой резервуар с крышкой, на которой установлены четыре распылителя, соединенных воздушными магистральями из армированного резинового

² Аэрозольные генераторы горячего тумана компании Igeba GmbH (Игеба ГмбХ) URL: <http://igeba.ru/produksiya/aerolnye-generatory-goryachego-tumana/> (дата обращения: 08.04.2018).

Таблица 1 – Режимы полной дезинфекции с использованием технического устройства

Форма микроорганизма	Состав дезинфицирующего средства	Объем обрабатываемого помещения, м ³	Время диспергирования дезинфицирующего раствора, минут	Экспозиция после завершения диспергирования, минут
Веgetативная	5% водный раствор H ₂ O ₂ с 1% молочной кислоты и 0,3% СФ-2У	10	5	30
		50	15	30
		100	25	30
Споровая	10% водный раствор H ₂ O ₂ с 1% молочной кислоты и 0,3% СФ-2У	10	5	90
		50	15	90
		100	25	90

шланга. Подача сжатого воздуха на распылители осуществляется через штуцер, закрепленный сваркой на крышке. Для подачи дезинфектанта к распылителям служит заборная трубка, позволяющая подавать раствор для диспергирования за счет возникающей при подаче сжатого воздуха эжекции. В верхней части крышки вварена горловина с мелкоячеистой сеткой, через которую проводится заполнение устройства дезраствором. Сетка также препятствует попаданию в резервуар твердых частиц, которые могут привести к засорению жидкостных сопел распылителей и, как следствие – к нарушению процесса диспергирования дезинфектанта. Для удобства переноски установки на горловине имеется ручка. К нижней части резервуара приварены три короткие опоры, позволяющие установить устройство на любую горизонтальную поверхность. Общие габаритные размеры устройства: диаметр – 270 мм, высота – 195 мм. Объем резервуара для дезинфектанта составляет 5 дм³.

Конструкция технического устройства для аэрозольной дезинфекции вполне приемлема для условий войсковой эксплуатации. Для проведения аэрозольной дезинфекции необходимо залить через горловину расчетное количество дезинфектанта и подать на устройство сжатый воздух через штуцер. Диспергирование раствора производится при давлении сжатого воздуха 2–4 кгс/см². Резервуар и крышка, к которой прикреплены все основные узлы устройства, изготовлены из листовой нержавеющей стали. Это придает конструкции не только устойчивость к ударным воздействиям, но и возможность длительной эксплуатации с использованием всех видов дезинфектантов.

Оценка работоспособности технического устройства была проведена с использованием дезинфицирующих растворов на основе перекиси водорода. Использование перекиси водорода обусловлено ее высокой дезинфицирующей эффективностью в отношении практически всех известных видов микроорганизмов. Для оценки работоспособности резервуар заполняли жидким дезинфектантом до 1/3 объема и подсоединяли установку к линии сжатого воздуха. Визуальное наблюдение при испытании устройства показало, что при достижении давления

сжатого воздуха в 2 кгс/см² происходит равномерное диспергирование жидкого дезинфектанта. В проведенных экспериментах массовая доля аэрозоля в диапазоне размеров частиц до 10 мкм составляла 60–75%, до 20 мкм – 90–95%. Контаминацию воздуха и поверхностей проводили мелкодисперсными аэрозолями регидратированной чумной живой сухой вакцины на основе вакцинного штамма чумного микроба EV и порошкообразного препарата бескапсульного авирулентного штамма сибиреязвенной вакцины СТИ-1. Режимы дезинфекции для полного обеззараживания воздуха и поверхностей с плотностью загрязнения до (0,5–1,5)×10⁶ живых микробных клеток/см² от вегетативных и споровых форм микроорганизмов указаны в таблице 1.

Таким образом, проведенные в лабораторных и полевых условиях экспериментальные исследования по деконтаминации воздуха и внутренних поверхностей замкнутых объектов показали эффективность работы технического устройства в отношении как вегетативных, так и споровых форм микроорганизмов.

Выводы

Аэрозольная дезинфекция является эффективным и экономичным методом как с точки зрения расхода дезинфицирующих препаратов, так и по уровню трудозатрат. При использовании аэрозольного метода высокая эффективность дезинфекции достигается за счет того, что аэрозоль, обладая большой проникающей способностью, обеззараживает не только поверхности, но и воздушную среду в замкнутом объеме.

Разработанное и испытанное специалистами филиала 48 ЦНИИ Минобороны России (г. Киров) техническое устройство для аэрозольной дезинфекции позволяет эффективно, с низким расходом жидких дезинфицирующих средств, проводить обработку вооружения, воздуха и внутренних поверхностей военной техники, различных полевых объектов внутренним объемом до 100 м³. Техническое устройство может также использоваться для проведения дезинфекционных мероприятий специальными мобильными группами, выполняющими задачи в отрыве от основных подразделений.

Простота конструкции технического устройства позволяет производить его с мини-

мальными затратами и эксплуатировать персоналом без специальной подготовки.

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. Army FM 8-284. Navy NAVMED P-5042 Air Force AFMAN (I) 44-156 Marine Corps MCRP 4-11.1C, 2000.
2. Frerih R., Salerno R.M., Vogel K.M. et al. Historical precedence and technical requirements of biological weapons use: a threat assessment. Sandia National Laboratories, Albuquerque, California, 2004.
3. Каракчиев Н.И. Токсикология ОВ и защита от оружия массового поражения. Ташкент, 1973.
4. Дроздов С.Г., Гарин Н.С., Джиндоян Л.С., Тарасенко В.М. Основы техники безопасности в микробиологических и вирусологических лабораториях. М.: 1987.
5. Дунский В.Ф., Никитин Н.В., Соколов М.С. Пестицидные аэрозоли. М.: Наука, 1982. 288 с.
6. Ярных В.С. Аэрозоли в ветеринарии. М.: «Колос», 1972. 352 с.
7. Алексеева М.И., Цетлин В.М., Мальков О.С., Савельева А.Р. Использование аэрозольного метода с целью обеззараживания больших помещений// Журн.

микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1969. №9. С. 74-77.

8. Алексеева М.И., Манников Л.М., Цетлин В.М. и др. Аэрозольный метод дезинфекции санитарного автотранспорта// Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1973. №4. С. 137-140.

9. Ларский П.П., Цетлин В.М. Дезинфекция аэрозолями. М.: Медицина. 1981. 176 с.

10. Медведев Н.П. Биологические и технологические основы экологически безопасной системы аэрозольной дезинфекции объектов ветеринарного надзора. Дисс. на соиск. уч. ст. доктора биологических наук. Киров, 2001. 293 с.

11. Методические рекомендации по применению метода аэрозольной дезинфекции в медицинских организациях. МР 3.5.1.0103-15. Утверждены: Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека-Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А.Ю. Поповой 28.09.2015 г. // Дезинфекционное дело. № 4, 2015. С. 65-69.

Об авторах

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

Крючков Александр Васильевич. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела, канд. техн. наук.

Смирнов Максим Борисович. Начальник научно-исследовательского отдела, канд. техн. наук.

Красаков Веньямин Дмитриевич. Начальник группы научно-исследовательского отдела, канд. техн. наук.

Контактная информация для всех авторов: 23527@mil.ru

Контактное лицо: Крючков Александр Васильевич; 23527@mil.ru

AEROSOL DISINFECTION OF WEAPONS, INTERNAL VOLUMES OF MILITARY EQUIPMENT AND FACILITIES

A.V. Kryuchkov, M.B. Smirnov, V.D. Krasakov

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

The disinfection of weapons, internal volumes of military equipment and facilities is an important element in protecting the population and military personnel from biological agents. In order to increase the likelihood of contact of the disinfectant with the object of disinfection, to increase the activity of the disinfectant per unit of its mass, to reduce its consumption and the processing time, the liquid disinfectant preparations should be transferred effectively by the generator to a spray aerosol with a particle size of 1–30 μm . For the creation of such an aerosol, we have elaborated a special device – a tank with a lid with four diffusors, fixed on it and connected by air pipes made of rubber reinforced hose. The compressed air is supplied to the diffusors through a nozzle, fixed on the lid. An intake tube supplies disinfectant to the sprayers. This tube allows the solution to be dispensed for dispersion due to the ejection that occurs when compressed air is supplied. There is a neck, covered with micromesh, in the upper part of the lid, through which the filling process is carried out. The mesh also prevents solids from entering the tank, because the nozzles may get clogged, and that may lead to the disruption of the disinfectant dispersion process. There is a handle on the neck for the convenience of carrying the whole installation. Three short bearers are welded to the bottom of the tank, allowing the device to be installed on any horizontal surface. The dimensions of the device are: diameter – 270 mm, height – 195 mm. The volume of the tank for disinfectant is 5 dm^3 . The article also deals with the main techniques of using technical means for aerosol disinfection of premises and with the factors, affecting the quality of disinfection. The paper underlines the need for a systematic approach to the choice of technical means, disinfectants and modes of disinfection by the method of aerosol disinfection.

Keywords: *aerosol disinfection; armament and military equipment; technical device; disinfectant; aerosol generator; contamination; disperse aerosol.*

For citation: Kryuchkov A.V., Smirnov M.B., Krasakov V.D. Aerosol disinfection of weapons, internal volumes of military equipment and facilities // *Journal of NBC Protection Corps*. 2018. V. 2. № 4. P. 68–74.

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. Army FM 8-284. Navy NAVMED P-5042 Air Force AFMAN (I) 44-156 Marine Corps MCRP 4-11.1C, 2000.
2. Frerih R., Salerno R.M., Vogel K.M. et al. Historical precedence and technical requirements of biological weapons use: a threat assessment. Sandia National Laboratories, Albuquerque, California, 2004.
3. Karakchiye N.I. Toxicology of chemical agents and protection against weapons of mass destruction. Tashkent, 1973 (in Russian).
4. Drozdov S.G., Garin N.S., Jindoyan L.S., Tarasenko V.M. Fundamental principles of safety in microbiological and virological laboratories M.: 1987 (in Russian).
5. Dunsky V. F., Nikitin N.V., Sokolov M.S. Pesticidal aerosols. M.: «Nauka». 1982. 288 p. (in Russian).
6. Yarnykh, V. S., Aerosols in veterinary medicine. M.: «Kolos». 1972. 352 p. (in Russian).
7. Alekseev M.I., Tsetlin, V.M., Malkov O.S., Savelyev A.R. et al. The use of aerosol method for disinfection of large premises // Journal Microbiol., Epidemiol. and Immunobiol. 1969. No. 9. P. 74–77 (in Russian).
8. Alekseev M.I., Mannikov L.M., Tsetlin V.M. et al. The aerosol method of disinfection of sanitary motor transport // Journal of Microbiology, Epidemiol. and Immunobiol. 1973. No. 4. P. 137–140 (in Russian).
9. Larski P.P., Tsetlin V.M. Disinfection by aerosols. M.: Medicine. 1981. 176 p. (in Russian).
10. Medvedev N. P. Biological and technological bases of environmentally safe system of aerosol disinfection of veterinary surveillance facilities. Dis. on competition of a scientific degree Doctor of biological Sciences. Kirov. 2001. 293 p. (in Russian).
11. Guidelines for the use of aerosol disinfection in medical organizations. MR 3.5.1.0103-15. Approved: the Head of the Federal service for supervision of consumer rights protection and human well-being-Chief state sanitary doctor of the Russian Federation A. Y. Popova 28.09.2015. // Disinfection Affairs. № 4. 2015. P. 65–69. (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 (Kirov), Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation.

Kryuchkov Aleksandr Vasilyevich. Leading Researcher of the Scientific and Research Department. Candidate of Technical Sciences.

Smirnov Maksim Borisovich. Chief of the Scientific and Research Department. Candidate of Technical Sciences.

Krasakov Venyamin Dmitryevich. The Head of the Group in the Scientific and Research Department. Candidate of Technical Sciences.

Contact information for all authors: 23527@mil.ru

Contact person: Kryuchkov Aleksandr Vasilyevich; 23527@mil.ru

К 60-ЛЕТИЮ СОЗДАНИЯ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ТЕХНИЧЕСКОГО БЮРО

Д.Л. Поклонский

*Научно-исследовательский центр (экспертный, химических и биологических угроз)
Федерального государственного бюджетного учреждения
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации,
105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13*

Поступила 03.08.2018 г. Принята к публикации 15.10.2018 г.

В историческом ракурсе рассмотрены этапы становления и основные направления деятельности Научно-исследовательского технического бюро – профильной организации Министерства обороны, занимавшейся вопросами проектирования лабораторно-экспериментальной базы для разработки и производства медицинских иммунобиологических препаратов. За годы своего существования, с 1958 по 2009 гг., организация внесла большой вклад в формирование научных основ укрепления биологической безопасности нашей страны. Технические идеи и решения, заложенные коллективом бюро, успешно используются до сих пор, а созданные в этот период научные школы в области обеспечения специальной техники безопасности при производстве медицинских иммунобиологических препаратов определили развитие научной мысли в этой отрасли на десятилетия вперед. Специалистами бюро были разработаны и введены в действие Ведомственные строительные нормы, регламентирующие требования к проектированию, строительству и оснащению лабораторных корпусов. Профильным подразделением бюро проводилась информационная и библиографическая работа, регулярно публиковалась аналитическая информация и обзоры о состоянии и тенденциях развития системы биологической защиты за рубежом. Одним из направлений работы организации являлось договорно-правовое обеспечение международной деятельности в области запрещения биологического оружия. Силами сотрудников осуществлялся анализ научно-технической информации, связанной с реализацией положений Конвенции о запрещении биологического и токсинного оружия, создавались информационные базы данных по проблемам КБТО.

Ключевые слова: биологическая безопасность; биологическая защита; КБТО; лабораторно-экспериментальная база; медицинские иммунобиологические препараты; научно-исследовательское техническое бюро; специальная техника безопасности.

Библиографическое описание: Поклонский Д.Л. К 60-летию создания Научно-исследовательского технического бюро // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2. № 4. С. 75–81.

В 2018 г. исполняется 60 лет с момента создания Научно-исследовательского технического бюро (НИТБ) – уникальной организации Министерства обороны, воспитавшей не одно поколение ученых и инженеров. Примечательно, что 60-летие организации совпадает со 100-летним юбилеем войск РХБ защиты, в структуру которых входило бюро.

После окончания Второй мировой войны в целях надлежащей защиты Вооруженных Сил и

населения Советского Союза от биологического оружия была поставлена задача в кратчайшие сроки обеспечить разработку вакцинных препаратов от опасных и особо опасных инфекций.

В августе 1958 г., в соответствии с решением ЦК КПСС и Совета Министров СССР, было принято решение о создании НИТБ, выполняющего научно-исследовательские и проектно-технологические работы в целях защиты от биологического оружия вероятного



Рисунок 1 – Здание НИТБ в Москве (2000 г.)

противника и повышения боеготовности Вооруженных Сил.

Целью данной статьи является анализ исторических аспектов становления и развития Научно-исследовательского технического бюро – профильной организации Министерства обороны, занимавшейся вопросами проектирования лабораторно-экспериментальной базы для разработки и производства медицинских иммунобиологических препаратов (рисунок 1).

Одним из инициаторов создания бюро был начальник 15 управления Генерального штаба ВС СССР, Герой Социалистического Труда, академик РАМН, генерал-полковник медицинской службы Ефим Иванович Смирнов¹.

За более, чем полувековое существование, бюро сменило несколько названий, последнее из которых – 42 Научно-исследовательский центр биологической безопасности Минобороны России. Ранее, в 1952 г., в Министерстве Обороны было создано 15 управление, задачей которого было в кратчайшие сроки развернуть исследования по созданию вакцинных препаратов от опасных и особо опасных инфекций для обеспечения ими Вооруженных Сил и населения СССР в случае применения противником биологического оружия. Министерству обороны было передано три научных учреждения в г. Кирове, г. Свердловске (Екатеринбург) и г. Загорске (Сергиев Посад), которые сразу приступили к работе. Однако к середине 1950-х гг. стало понятно, что для проведения исследований необходимо существенно модернизировать существующую научно-исследовательскую базу.

Профильный отдел 15 управления, занимавшийся этой проблематикой, не мог справиться с такой масштабной задачей, поэтому на его базе было решено создать технологическое бюро, усилив его специалистами войсковой части 92894. На момент создания бюро базировалось на базе военного городка в Сокольниках,

на улице Матросская Тишина, в конце 1960 г. оно было передислоцировано в Лефортово. С первых дней существования организации перед ней были поставлены сложные задачи в области науки и инженерно-технического проектирования, численность научных и инженерных сотрудников уже составляла более 30 человек.

Первым начальником НИТБ был назначен инженер-полковник Г.Д. Яновский. Он возглавлял организацию в достаточно непростой период первоначального становления. Его несомненной заслугой являлся подбор квалифицированных научных и инженерных кадров.

Бесомый вклад в изучение и производство защитных препаратов против опасных и особо опасных инфекционных заболеваний внесли Валентин Георгиевич Матвеев и Лев Семенович Джиндоян – лауреаты Государственной премии.

С 1959 г. коллективом бюро велись плановые научные исследования и проектные работы, в 1962 г. защищена первая диссертация кандидата технических наук.

В период с 1962 г. по 1974 г. бюро возглавляет инженер-полковник А.А. Миклашевский. Под его руководством налажены тесные рабочие отношения с проектными организациями, научными и производственными предприятиями РСФСР и союзных республик, среди которых такие промышленные гиганты, как НИИХИММАШ (г. Северодонецк), завод им. Фрунзе (г. Сумы), РигаХИММАШ (г. Рига), организована совместная работа с профильными научными организациями СССР: Институтом органической химии Сибирского отделения академии наук (г. Новосибирск), Институтом прикладной физики, СКБ «Холодмаш».

Увеличение числа задач, решаемых специалистами НИТБ, расширение научных связей способствуют росту организации: в 1965 г. в штате уже свыше 50 инженеров и ученых.

С 1974 г. по 1988 г. бюро руководит доктор технических наук, профессор, Лауреат Государственной премии полковник Л.С. Джиндоян. К началу семидесятых годов в научно-исследовательских организациях 15 управления возникла новая проблема.

Интенсивные исследования по созданию средств профилактики опасных и особо опасных инфекций приводили к случаям внутрилабораторного заражения. Анализ такого рода случаев показал, что причиной их являются устаревшие правила работы с микроорганизмами, а также отсутствие строительных норм проектирования сооружений для работы с возбудителями особо опасных инфекций. Данная проблема была успешно решена Л.С. Джиндояном при непосредственном участии сотрудников

¹ Начальник Главного Военно-медицинского управления МО СССР в 1939–1947 гг., министр здравоохранения СССР в 1947–1952 гг.



Рисунок 2 – Коллектив отдела профессиональной санитарии и техники безопасности (1983 г.)



Рисунок 3 – Коллектив технологического отдела (1986 г.)

15 управления – генерал-майора В.М. Тарасенко и полковника Н.С. Гарина. Ими были теоретически и экспериментально обоснованы правила работы с патогенными микроорганизмами и предложены технические устройства для обеспечения безопасной работы в лабораториях. На основе этих идей в бюро были разработаны ведомственные строительные нормы и альбомы технических решений для унификации при проектировании лабораторных помещений для работы с возбудителями ООИ. Для этих целей в бюро был создан специальный отдел, который занимался проблемами профессиональной санитарии и техники безопасности (рисунок 2), а Л.С. Джиндоян стал основателем научной школы по данному направлению.

С начала 1980-х гг. организация вступила в принципиально новый этап своего развития. В первую очередь это связано с тем, что были разработаны и введены в действие новые Ведомственные строительные нормы (ВСН), регламентирующие требования к проектированию, строительству и оснащению лабораторных корпусов, предназначенных для проведения исследований медицинских иммунобиологических препаратов.

Новый норматив явился не простой переработкой ранее действовавших дополнительных норм и технических условий, а включил в себя перспективные подходы к созданию архитектуры зданий, технологических, вспомогательных и инженерных систем. Необходимо отдать должное принципиальности и последовательности должностных лиц Министерства обороны, обеспечивших утверждение новых ВСН, поскольку резко возросший уровень требований, ставших нормативными, потребовал проведения колоссального объема работ по реконструкции, модернизации и техническому перевооружению всей лабораторной базы.

С введением Ведомственных строительных норм сложности различного характера возникали практически по всем направлениям

проектирования и строительства: недостаток строительных площадей; не удовлетворяющие новым требованиям строительные конструкции; отсутствие отделочных материалов с необходимыми техническими характеристиками. С проблемными вопросами, связанными с переходом на новую нормативную базу, в первую очередь сталкивались специалисты технологического отдела, в задачи которых входила разработка исходных данных и технических заданий на проектирование зданий и сооружений лабораторной и испытательной баз.

Увеличение объема научно-исследовательских и проектных работ потребовало создания в период с 1984 г. по 1989 г. дополнительного технологического отдела, основная задача которого состояла в обосновании технических и проектных решений по организации научно-исследовательской базы для получения новых и совершенствования существующих иммунобиологических препаратов (рисунок 3). В ходе проектирования были использованы методические подходы, базирующиеся на принципах масштабирования процессов получения опытных партий вакцинных препаратов и оценки их свойств с последующим физическим моделированием.

С 1988 г. по 1994 г. коллективом бюро руководил кандидат технических наук полковник В.А. Бородавко. В указанный период проведен большой объем инженерных, изыскательских и строительных работ по переоснащению лабораторной базы. При этом инженеры столкнулись с проблемой практически полного отсутствия серийно выпускаемого оборудования для оснащения микробиологических лабораторий. Это вызвало необходимость технологического проектирования и опытно-конструкторских разработок нестандартизованного оборудования, включая авторский и технический контроль, разработку программ и методик комплексного опробования инженерных систем, проведение приемочных испытаний. Указанные задачи решались силами специалистов отдела автомати-

зации и электротехнических устройств. Если ранее работы по автоматизации носили фрагментарный характер и сводились в большинстве случаев к разработке систем управления отдельными единицами лабораторного оборудования, то теперь разрабатывались альбомы типовых решений и уже на стадии проектирования предполагалось создание систем автоматизации основных и вспомогательных технологических процессов производства иммунобиологических препаратов. В ходе работы возникла необходимость индивидуального проектирования и для санитарно-технических систем, значимость которых в экологической защите окружающей среды существенно возросла.

Со сложными задачами пришлось столкнуться специалистам, занимающимся проектированием электротехнических систем. Казалось бы, из большого разнообразия серийно выпускавшихся электротехнических устройств и материалов – электроприводы, пусковая аппаратура, осветительные приборы, узлы прохода кабелей через строительные конструкции, собственно кабельная продукция – осуществление подбора оборудования, составляющего органическое единство в масштабах всего лабораторного корпуса, не казалось проблематичным. В действительности для этого требовалось настоящее инженерное искусство.

Особое место в работе отдела занимало создание систем контроля, управления и электроснабжения лабораторного оборудования, устанавливаемого в так называемых «заразных» помещениях, в которых проводились микробиологические исследования.

Особенностью таких лабораторий являлась необходимость проведения в них регулярной обработки дезинфицирующими веществами, вызывающими коррозионные повреждения металлических конструкций, а также деструкцию резинотехнических и полимерных материалов. Сотрудниками отдела, а также подрядных организаций, работающих по техническим заданиям НИТБ, был разработан целый ряд нестандартных технических решений в области автоматизации.

Следует отметить, что, в отличие от многих проектных организаций, специалисты отдела не просто рассуждали о необходимости внедрения передовой техники, но настойчиво добивались этого от других организаций – исполнителей работ.

Так, при проектировании автоматизации инженерных систем защиты окружающей среды в создаваемых лабораторных корпусах сотрудниками отдела была обоснована неприемлемость создания систем управления на базе релейно-контактной аппаратуры, так как в этом случае, вследствие использования многочисленных объектов управления (вентиляторы, гер-

метические клапаны, регулирующие заслонки, насосы и пр.) и контрольных датчиков, отказы автоматизированной системы появлялись бы практически ежедневно.

В результате проведенной аналитической работы было принято решение о проектировании систем управления на базе прообраза нынешних логико-программных комплексов. Это позволило использовать программируемые микропроцессорные контроллеры «Ремионт» и «МикроДАТ», о достоинствах которых в тот период в отечественной научно-технической литературе еще только шла полемика [1, 2]. Предлагая к внедрению самые современные средства и методы, сотрудники отдела проводили глубокие аналитические исследования, результаты которых позволяли обоснованно принимать принципиальные решения, направленные, в первую очередь, на повышение надежности и оптимизацию эксплуатации систем. Необходимо отметить, что технические решения по автоматизации технологических, вспомогательных и инженерных систем лабораторных корпусов микробиологического профиля, разработанные еще в 1980-х гг., до сих пор используются в качестве типовых не только в научно-исследовательских организациях Минобороны России, но и в лабораториях других министерств и ведомств, в том числе Министерства здравоохранения и Роспотребнадзора.

С 1994 г. по 2007 г. бюро руководит доктор технических наук, профессор, полковник М.Ю. Тарасов. В числе важных государственных задач, поставленных перед Управлением Начальника войск РХБ защиты ВС РФ в 1994–1995 гг., стояла задача сохранения предприятий промышленности и их мощностей по производству вооружения и средств РХБ защиты при ограниченном финансировании государственного оборонного заказа, а также обеспечения этих предприятий конструкторской документацией (КД) на современные и перспективные образцы вооружения и средств РХБ защиты (ВиС РХБЗ).

Для решения указанной задачи в 1995 г. была создана Система хранения и обращения технической (позднее конструкторской) документации. В рамках функционирования системы специалистами НИТБ был проведен сбор подлинников конструкторской документации, организованы их учет и хранение. К концу 1995 г. была завершена разработка общих организационных и технологических нормативов по обращению документации, на основе отдела обеспечения технической нормативной документацией и государственными стандартами были сформированы два новых профильных отдела: анализа, обращения и хранения подлинников и дубликатов технической документации на ВиС РХБЗ; отдел подготовки обеспечения



Рисунок 4 – Коллектив отдела обеспечения технической нормативной документацией и государственными стандартами (1982 г.)



Рисунок 5 – Коллектив отдела научно-технической информации (1983 г.)

технической документацией на ВиС РХБЗ (рисунок 4).

Для получения необходимых информационных материалов специалистами отдела была организована работа в профильных библиотеках Москвы, поддерживались постоянные связи с Всесоюзным институтом научной и технической информации Академии наук (ВИНИТИ) и другими научно-исследовательскими организациями.

Интенсивное развитие микробиологии и биотехнологии требовало планомерной аналитической проработки научной информации, публикуемой в нашей стране и за рубежом. Эта работа осуществлялась специалистами отдела научно-технической информации на протяжении всего периода существования бюро (рисунок 5).

Результаты работы отдела всегда были востребованы в научно-исследовательских организациях Минобороны. Ежеквартально публиковалась аналитическая информация и обзоры о состоянии и тенденциях развития системы биологической защиты за рубежом. Существенную научно-методическую поддержку при планировании и осуществлении научно-исследовательской деятельности оказывали сборники переводов статей и рефератов по проблемам биологической защиты, а также по вопросам эксплуатации средств РХБ защиты.

В 1990-х гг. осуществлялись энергичные меры по укреплению Конвенции 1972 г. о запрещении разработки, производства и накопления запасов бактериологического (биологического) и токсинного оружия и об их уничтожении (КБТО)².

На национальном уровне был принят ряд нормативных правовых актов, в том числе – Указ Президента, в соответствии с которым на

территории Российской Федерации не допускается разработка и выполнение биологических программ в нарушение КБТО и осуществляется контроль за выполнением требований Конвенции³.

Для реализации законодательных требований в бюро создается отдел договорно-правового обеспечения международной деятельности в области запрещения биологического оружия. Силами сотрудников отдела осуществлялся анализ научно-технической информации, связанной с реализацией положений КБТО, создавались информационные базы данных по проблемам запрещения биологического и токсинного оружия.

При непосредственном участии специалистов НИТБ осуществлено проектирование и строительство Института гражданской обороны на Кубе.

Технические идеи и решения, заложенные коллективом бюро, успешно используются до сих пор, а созданные в этот период научные школы в области обеспечения специальной техники безопасности при производстве медицинских иммунобиологических препаратов определили развитие научной и инженерной мысли в этой отрасли на десятилетия вперед.

С 2007 г. организацией руководил доктор технических наук В.Н. Бредихин. В период с 2005 г. по 2007 г. специалисты принимали активное участие в разработке проектной документации на реконструируемые и вновь возводимые объекты учебно-лабораторной базы Военной академии РХБ защиты в г. Костроме. Высокий технический уровень проектирования и оснащения корпусов Академии были отмечены Президентом Российской Федерации и Министром обороны.

² Конвенция о запрещении разработки, производства и накопления запасов бактериологического (биологического) и токсинного оружия и об их уничтожении. 10.04.1972 г.

³ Об обеспечении выполнения международных обязательств в области биологического оружия. Указ Президента Российской Федерации от 11.04.1992 г. № 390.

В 2009 г. в рамках оптимизации численности Вооруженных Сил было принято решение о реформировании организации, на тот момент носившей название 42 Научно-исследовательский центр биологической безопасности. Рассматривая многолетний путь становления и развития бюро, необходимо отметить заслуги коллектива в области проектирования лабораторных корпусов и аппаратно-технологического оснащения процессов производства иммунобиологических препаратов.

Многолетний труд специалистов бюро – яркий пример преданного отношения к делу и творческого подхода в решении сложных научных и инженерных задач. Специалистами бюро подготовлен ряд монографий, имеющих фундаменталь-

ное значение. Среди них «Основы техники безопасности в микробиологических и вирусологических лабораториях» [3], «Пены. Теория и практика их получения и разрушения» [4], «Научные основы получения чистых культур микроорганизмов в технологии вакцин» [5], «Научные основы микробиологической технологии» [6], «Основы асептики в технологии чистых микробиологических препаратов» [7]. Большой вклад специалисты бюро внесли в формирование научных основ укрепления биологической безопасности нашей страны. За весь период деятельности в организации созданы научные и инженерные школы, подготовлено 6 профессоров, 11 докторов и 35 кандидатов наук.

Информация о конфликте интересов

Автор заявляет, что исследования проводились при отсутствии любых научных, 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. Ершов А.П. Комплексное развитие системного программного обеспечения. Препринт 469. Новосибирск: ВЦ СО АН СССР. 1983.
2. Кукин В.И. Научно-методическое обеспечение применения вычислительной техники в условиях интенсификации народного хозяйства / Компьютеризация производства и управления в условиях интенсификации экономики. Сб. научных трудов АНХ СССР. М.: АНХ при СМ СССР, 1986.
3. Дроздов С.Г., Гарин Н.С., Джиндоян Л.С., Тарасенко В.М. Основы техники безопасности в микробиологических и вирусологических лабораториях. М.: Медицина, 1987.

Медицина, 1987.

4. Тихомиров В.К. Пены. Теория и практика их получения и разрушения. М.: Химия, 1975.
5. Матвеев В.Е., Вадимов В.М., Воробьев А.А. Научные основы получения чистых культур микроорганизмов в технологии вакцин. М.: Медицина, 1980.
6. Матвеев В.Е. Научные основы микробиологической технологии. Кинетика развития и инактивации микробных популяций. М.: Агропромиздат, 1985.
7. Матвеев В.Е. Основы асептики в технологии чистых микробиологических препаратов. М.: Изд. Легк. и пищ. пром-сти, 1981.

Об авторе

Научно-исследовательский центр (экспертный, химических и биологических угроз) федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13.

Поклонский Дмитрий Леонидович. Начальник центра, д-р техн. наук, доц.

Контактное лицо: Поклонский Дмитрий Леонидович; 48cnii_expert-1@mail.ru

FOR THE 60TH ANNIVERSARY OF THE CREATION OF THE SCIENTIFIC AND RESEARCH TECHNICAL BUREAU

D.L. Poklonskii

Scientific Research Center (expert, chemical and biological threats) of the Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation

In the historical perspective, the stages of formation and the main activities of the Scientific and Research Technical Bureau are considered. It is the profile organization of the Ministry of Defence, which dealt with the design of a laboratory and experimental base for the development and production of medical immunobiological preparations. Over the years (from 1958 to 2009), the organization has made a considerable contribution to the formation of scientific foundations for strengthening the biological security of our country. The technical ideas and solutions laid down by the collective of the bureau have been successfully used so far, and the scientific schools created in this period in the field of special safety equipment in the production of medical immunobiological preparations which determined the development of scientific thought in this field for decades. Specialists of the bureau have developed and launched standards that regulate the requirements for designing, building and equipping microbiological laboratory. The specialized division of the bureau carried out information and bibliographic work, regularly published analytical information and reviews on the status and trends of the development of biological protection systems abroad. One of the directions of the organization's work was contractual and legal support of international activities in the field of prohibition of biological weapons. The staff of the bureau carried out an analysis of scientific and technical information related to the implementation of the provisions of the Convention on the Prohibition of Biological and Toxin Weapons, created information databases on the problems of the BTWC.

Keywords: biosafety; biological protection; BTWC; laboratory and experimental base; medical immunobiological preparations; scientific-technical bureau; special safety precautions.

For citation: Poklonskii D.L. For the 60th anniversary of the creation of the Scientific and Research Technical Bureau // *Journal of NBC Protection Corps*. 2018. V. 2. № 4. P. 75–81.

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. Ershov A.P. Complex development of system software. Preprint 469. Novosibirsk: Computing Center of the Siberian Branch of the USSR Academy of Sciences. 1983.
2. Kukin V.I. Scientific and methodical support of the use of computer technology in the conditions of intensification of the national economy / Computerization of production and management in the context of intensification of economics. Proceedings of the Academy of Sciences of the USSR. Moscow: Academy of Sciences of the USSR, 1986.
3. Drozdov S.G., Garin NS, Jindoyan LS, Tarasenko V.M. Basics of safety in microbiological and virology laboratories. M.: Medicine, 1987.
4. Tikhomirov V.K. Foams. Theory and practice of obtaining and destroying them. M.: Chemistry, 1975.
5. Matveev V.E., Vadimov V.M., Vorobiev A.A. Scientific foundations of obtaining pure cultures of microorganisms in vaccine technology. M.: Medicine, 1980.
6. Matveev V.E. Scientific foundations of microbiological technology. Ki-netika development and inactivation of microbial populations. M.: Agropromizdat, 1985.
7. Matveev V.E. Fundamentals of aseptic technology in pure microbiological preparations. Moscow, 1981.

Authors

Scientific Research Center (expert, chemical and biological threats) of Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation.

Poklonskii Dmitry Leonidovich. Director of the Center. Doctor of Technical Sciences. Associate Professor.

Contact person: Poklonskii Dmitrii Leonidovich; 48 cnii_expert-1@mil.ru

НАУЧНО-ИСТОРИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «100 ЛЕТ – ВОЙСКАМ РАДИАЦИОННОЙ, ХИМИЧЕСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ВООРУЖЕННЫХ СИЛ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ»



10 октября 2018 г. в Центральном музее Вооруженных Сил Российской Федерации (далее – ЦМ ВС РФ) состоялась научно-историческая конференция войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации (далее – войска РХБ защиты ВС РФ) на тему «100 лет войскам радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации» (далее – конференция).

Организаторами мероприятия выступили Управление начальника войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации и командование федерального государственного бюджетного учреждения «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации (далее – 27 НЦ МО РФ).

В конференции приняли участие представители Управления начальника войск РХБ защиты ВС РФ, воинских частей и организаций войск РХБ защиты ВС РФ, Совета Федерации Федерального Собрания Российской Федерации, военные историки и научные деятели 27 НЦ МО РФ, ветераны войск РХБ защиты ВС РФ, специалисты Федерального управления по безопасному хранению и уничтожению химического оружия, председатель Синодального отдела по взаимодействию с Вооруженными

Силами и правоохранительными органами, а также воспитанники кадетских классов и юнармейцы московских школ (ГБОУ «Школа 1411» и ГБОУ «Школа № 354 имени Д.М. Карбышева»).

Конференция проводилась с целью систематизации знаний о важнейших событиях, связанных с созданием, становлением и развитием химической службы и войск РХБ защиты, выявления условий и факторов, повлиявших на процесс их формирования.

В своем вступительном слове председатель Военно-научного комитета (войск РХБ защиты), кандидат технических наук, доцент полковник **С.Н. Тырышкин** подчеркнул, что роль и значимость войск РХБ защиты ВС РФ в обеспечении оперативного боевого применения непрерывно возрастает. Год 100-летней годовщины создания войск стал годом больших преобразований во всех сферах жизнедеятельности, увеличения объема и характера выполняемых задач, совершенствования боевой и мобилизационной подготовки, а также повышения роли и значимости войск в структуре Вооруженных Сил Российской Федерации и в целом в обеспечении безопасности нашей страны. Являясь неотъемлемой частью Вооруженных Сил Российской Федерации,



*Председатель ВНК РХБЗ
полковник Тырышкин С.Н.*



*Главный научный сотрудник 27 НЦ МО РФ
генерал-полковник Петров С.В.*

войска РХБ защиты ВС РФ способны выполнить возложенные на них задачи и тем самым вносят достойный вклад в обеспечение обороноспособности государства.

Участник первой чеченской войны, командир взвода радиационной и химической разведки, Герой Российской Федерации, Почетный член Союза ветеранов войск РХБ защиты ВС РФ подполковник **Г.В. Цацорин** отметил, что сегодняшняя конференция как исторический факт, крайне важна. Она дает сильное патриотическое направление, которое необходимо при обучении молодежи. Старшее поколение делится тактическим опытом, опытом грамотного ведения обороны во время боевых действий, рассказывает о подвигах товарищей.

Об образовании войск РХБ защиты ВС РФ и дальнейших направлениях их развития рассказал главный научный сотрудник 27 НЦ МО РФ, доктор технических наук, лауреат Ленинской премии 1991 г. генерал-полковник **С.В. Петров** (в 1989–1991 гг. – начальник Химических войск СССР, в 1992–2001 гг. – начальник войск РХБ защиты Вооруженных Сил Российской Федерации). «Химические части появились во время Первой мировой войны, когда впервые были применены отравляющие вещества и огнеметное оружие. В силу особой значимости защиты военнослужащих и мирных граждан от химического оружия 13 ноября 1918 г. на основе химических частей Русской Императорской армии была создана химическая служба Красной Армии. От этой даты и ведут свою боевую летопись войска РХБ защиты ВС РФ», – подчеркнул С.В. Петров. Мощь советских химических войск в годы Великой Отечественной войны была такова, что фашисты не решились на применение химического оружия против Красной Армии, хотя и обладали более современными отравляющими веществами. Особое внимание участников конференции С.В. Петров обратил на необходимость применения научного подхода к

дальнейшему развитию войск РХБ защиты, учитывая новые радиационные, химические и биологические угрозы, а также возможности вероятного противника по совершенствованию и применению оружия массового поражения. Химическое и биологическое оружие не исчезло после его запрещения специальными Конвенциями. Эти виды оружия мимикрировали на стыке химии и биологии, при этом неоднократно увеличив свою поражающую мощь. Изменились химические и биологические агенты, грань между ними стала весьма условной, проходящей на наноуровне. Соответственно, появились и новые приемы химического и биологического поражения. Для распознавания их действия и ликвидации нанесенного ущерба нужны соответствующие знания, новая методологическая база исследования и новые кадры, понимающие, что специфика химической и биологической войны в XXI в. будет иной, чем в XX в. К тому же нужно учитывать и то, что химическая и биологическая война против России может вестись «под чужим флагом», т.е. руками подставных террористических организаций, а также иметь мощное информационное прикрытие глобальных средств массовой информации.

С приветственным словом к участникам конференции обратился председатель Синодального отдела по взаимодействию с Вооруженными Силами и правоохранительными органами протоиерей **Сергей Привалов**. Он сердечно поздравил присутствующих с наступающей 100-летней годовщиной и подчеркнул, что войска РХБ защиты ВС РФ – уникальное формирование, способное защитить от самого страшного оружия – оружия массового поражения.

В докладе «Развитие средств индивидуальной защиты военнослужащего в течение 100-летнего периода существования войск РХБ защиты», представленном кандидатом технических наук, доцентом полковником **В.М. Федосеевым**¹ (федеральное государственное бюджетное учреждение «33 Цен-

¹ Соавтор доклада С.В. Касимцев

тральный научно-исследовательский испытательный институт» Министерства обороны Российской Федерации, далее – 33 ЦНИИИ МО РФ), отмечено, что впервые такая проблема возникла в годы Первой мировой войны, когда на полях сражений стало применяться химическое оружие. Предвоенных наработок по СИЗ у воюющих сторон не было. Но именно тогда русским профессором Н.Д. Зелинским был заложен фундамент современного противогазостроения – противогазовые фильтры на основе активированного угля.

В 1913–1918 гг. профессором А.П. Поспеловым был разработан первый изолирующий дыхательный аппарат. В 1926 г. в СССР был разработан и принят на вооружение и снабжение Красной Армии фильтрующий противогаз Т-5. В период с 1936 г. по 1939 г. разработаны фильтрующий противогаз МТ-4, дыхательный аппарат с насогеновым регенеративным патроном на основе бертолетовой соли и кислородный изолирующий прибор КИП. Во время Великой Отечественной войны и в послевоенный период были разработаны фильтрующие противогазы МО-2 (1942 г.), МО-4 (1946 г.), изолирующие дыхательные аппараты УКАН (1941 г.) и ИП-46. В 1963 г. был принят на вооружение общевойсковой противогаз ПМГ, а позднее, в 1971 г. – противогаз ПМГ-2. В конструкциях регенеративного патрона изолирующих дыхательных аппаратов ИП-4 и ИП-5 (1971 и 1978 гг.) реализованы исследования надперекисных соединений. Исследования твердых источников кислорода в начале 2000-х гг. позволили разработать изолирующе-фильтрующий аппарат, который может быть использован в условиях, когда требуется изменение уровня защиты (фильтрующий, изолирующий).

В 1978–1980 гг. велись широкие исследования по улучшению конструкции и разработке лицевой части типа «маска» с улучшенными физиолого-гигиеническими и эксплуатационными характеристиками. По результатам исследований был разработан и принят на вооружение малогабаритный фильтрующий противогаз ПМК с лицевой частью типа «маска» и системой приема воды в зараженной атмосфере.

Необходимость создания первых средств индивидуальной защиты кожи возникла в летом 1917 г., когда немецкие войска во время третьего наступления британских войск под Ипром впервые применили отравляющее вещество кожно-нарывного действия – дихлордиэтилсульфид, позже названный ипритом. В 1930-е гг. были разработаны и приняты на вооружение Красной Армии общевойсковые образцы средств защиты кожи, изготовленные из промасленной, проолифленной и прорезиненной тканей.

После применения США ядерного оружия по японским городам появилась проблема ожоговых поражений человека при воздействии светового излучения ядерного взрыва (СИЯВ) и массо-

вых пожаров. Возникла необходимость создания комплексной защиты человека как от химических, так и от термических поражающих факторов. В 1952 г. был разработан уникальный по своим характеристикам легкий защитный костюм Л-1, который до настоящего времени находится на снабжении войск.

Концептуальные положения, лежащие в основе отечественных табельных средств защиты, были обоснованы в 1960-е гг.:

- мировая война с крупномасштабным применением всех видов ОМП неизбежна, в качестве крайнего случая рассматривались сценарии, когда по войскам будут наноситься массированные ядерные удары, а основу остального боекомплекта противостоящей группировки противника составят химические боеприпасы;

- существует высокая вероятность быстрой эскалации любого военного конфликта – от ведения боевых действий с использованием обычного оружия до внезапного применения противником ОМП, что требовало постоянного использования СИЗ;

- индивидуальная защита должна быть комплексной, с надежностью до 95%.

При реализации данной концепции к 1980-м гг. создан комплект СИЗ, включающий в себя средства индивидуальной защиты органов дыхания (СИЗОД) в составе противогазов и респиратора, общевойсковой защитный комплект в составе защитного плаща ОП-1М, перчаток и чулок, а также ранее разработанный ОКЗК.

В период 1980–1990-х гг. разработаны: специальный комплект защитной фильтрующей одежды КЗФО (летний, зимний); летный комплект защитной одежды КЗО-Л; одежда защитная фильтрующая ФЗО-Р; костюм защитный с вентилируемым подкостюмным пространством КЗВП и комплект защитный модернизированный КР-2М.

В настоящее время разработка боевой экипировки военнослужащих в России осуществляется в рамках «Целевой программы работ в области носимого вооружения, экипировки и специального оснащения Вооруженных Сил Российской Федерации».

В рамках ее второго этапа разработан комплект боевой экипировки второго поколения «Ратник». В составе комплекта боевой экипировки второго поколения в 2017 г. был принят на снабжение ВС РФ общевойсковой противогаз ПМК-4. На завершающей стадии находится ОКР, направленная на разработку комплекта средств индивидуальной защиты кожи нового поколения от РХБ и термических поражающих факторов, облегченного защитного комплекта на основе мембранного материала (комплект ОЗК-МТ) в составе комплекта боевой индивидуальной экипировки второго поколения и средства индивидуальной защиты кожи на основе изолирующего материала

однократного применения (комплект СИЗК-ИТ). Кроме того, в 2017 г. начата отдельная ОКР по созданию современного изолирующего противогаза (ИП-7) (взамен ИП-5), а в 2018 г. – исследования по разработке общевойскового средства индивидуальной защиты кожи на основе фильтрующего материала и специального средства индивидуальной защиты органов дыхания с комбинированной системой подачи дыхательной смеси.

В докладе «История развития огнеметно-зажигательного вооружения», представленном ведущим научным сотрудником 27 НИЦ МО РФ, доктором технических наук, профессором **Г.И. Маньковским**², показана роль русских инженеров в создании огнеметного оружия перед и во время Первой мировой войны. Наиболее значимым их вкладом в огнеметное оружие было создание в 1916 г. первого в мире фугасного огнемета СПС. Огнемет весил в снаряженном состоянии 32,5 кг. Дальность действия достигала 35–50 м, время действия – 1–2 с. Для сравнения: ранцевые огнеметы тех лет иностранных конструкций выбрасывали струю на 15–35 м, тяжелые – на 40–60 м. Фугасные огнеметы предполагалось устанавливать в одну или несколько линий с дистанциями между линиями в 100–150 м и с интервалами между отдельными огнеметами в линии в 35–50 м. Принцип использования в фугасном огнемете давления пороховых газов для выталкивания огнесмеси остается основным до сих пор.

К началу Великой Отечественной войны на вооружение поступил ранцевый пневматический огнемет конструкции М.П. Сергеева и В.Н. Ключева – РОКС-1 (ранцевый огнемет Ключева–Сергеева) образца 1940 г. Дальнейшим его развитием стали огнеметы РОКС-2 (1940 г.) и РОКС-3 (1942 г.). Последний имел очень хорошие технические характеристики для огнеметов такого типа: снаряжался 10 л вязкой огнесмеси и мог производить с помощью сжатого воздуха 6–8 коротких или 1–2 затяжных огневых выстрела на дальность 35–40 м (при попутном ветре – 42 м).

В июле 1941 г на вооружение Красной Армии был принят фугасный огнемет ФОГ-1, предназначенный для борьбы с пехотой и танками противника. Он являлся оружием одноразового действия и представлял собой цилиндр с направляющим стволом (брандспойтом), через который под давлением пороховых газов выбрасывалась горючая смесь. Его более совершенные модификации обозначались как ФОГ-2 и ФОГ-3.

В 1930-е гг. в СССР началась разработка огнеметных танков, успешно применявшихся в годы Великой Отечественной войны. Наиболее совершенным из танков военного периода считается огнеметный танк ОТ-34-85, созданный в 1943 г. на базе

знаменитой тридцатьчетверки. В 1960 г. на вооружение Советской Армии был принят огнеметный танк ТО-55. При разработке огнемета и его установке в танк учитывались различные варианты применения огнемета в бою. Углы наведения по вертикали и скорость струи огнесмеси позволяли в условиях городского боя вести огонь по окнам и чердакам до пятого этажа на дистанции 130–160 м. Дальность прямого выстрела по цели высотой 2 м при встречном ветре 3 м/с составляла 110 м.

В послевоенные годы боевой опыт применения огнеметов был положен в основу разработки более мощных, обладающих улучшенными тактико-техническими характеристиками огнеметов: легкого ЛПО-50 и тяжелого ТПО-50 пехотных огнеметов струйного принципа действия. В начале 1960-х гг. на место успешно применявшихся во время Великой Отечественной войны образцов ранцевых (РОКС-3) и фугасных (ФОГ-2) пришли более мощные, обладающие улучшенными тактико-техническими характеристиками легкий (ЛПО-50) и тяжелый (ТПО-50М) огнеметы. В период с 1960 г. до начала 1968 г. работы в области совершенствования огнеметно-зажигательного вооружения (ОЗВ) в СССР были фактически прекращены. ТПО-50 и его модернизированная версия ТПО-50М сняты с вооружения ВС РФ.

В первых образцах послевоенного времени использовался струйный принцип огнеметания, использованием которого можно объяснить значительные недостатки огнеметов:

- сложность технического обслуживания (необходимость обслуживания огнеметов в полевых условиях);
- срок хранения приготовленной огнесмеси составлял не более трех месяцев;
- необходимость использования, в зависимости от температурного диапазона – от минус 30 °С до плюс 40 °С, не менее двух рецептур огнесмеси с различной вязкостью;
- высокая зависимость результатов огнеметания и безопасности огнеметчика от силы и направления ветра;
- большая продолжительность процесса огнеметания и высокая уязвимость огнеметчика для ответного огня противоборствующей стороны;
- невозможность существенного увеличения дальности огнеметания из-за увеличения при этом силы отдачи.

Но основным и главным недостатком огнеметов того времени были высокие массогабаритные характеристики и недостаточная дальность огнеметания.

С целью устранения перечисленных недостатков в применении огнеметов в 1975 г. принят на вооружение реактивный пехотный огнемет (РПО «Рысь») с выстрелом в снаряжении маловязкой на-

² Соавторы доклада В.С. Ушаков, В.А. Филин, М.П. Шаройко

палмовой огнесмесью, явившийся логическим завершением работ по изысканию путей повышения эффективности струйного огнематания. Увеличение дальности и точности стрельбы, расширение условий применения, в том числе температурного диапазона, в этом огнемете было достигнуто за счет размещения смеси в мягкой открытой оболочке и горения в полете. С создания этого огнемета начался последовательный отход от струйного огнематания к капсульному – РПО «Рысь», РПО-А «Шмель». В середине 1980-х гг. РПО-А был принят на вооружение и сейчас выпускается в трех различных модификациях – РПО-А (термобарический боеприпас), РПО-З (зажигательный боеприпас) и РПО-Д (дымовой боеприпас). Результаты боевого применения РПО-А «Шмель» в Афганистане превзошли все ожидания. Существенно возросла дальность – прицельная до 600 м, максимальная – до 1000 м. РПО-А стал, по сути, «карманной артиллерией» наших бойцов. Принятие на вооружения РПО-А положило начало формированию системы огнеметно-зажигательного вооружения войск РХБ защиты ВС РФ.

Преимником РПО-А (З, Д) считается реактивный пехотный огнемет повышенной дальности и мощности РПО ПДМ-А «Приз». Максимальная дальность стрельбы – 1700 м. Для условий городского боя был создан малогабаритный реактивный огнемет МРО-А (З, Д). Другими представителями огнеметов для городского боя являются легкий пехотный огнемет ЛПО-97 и струйный пехотный огнемет СПО «Варна».

Важным направлением исследований и работ в области развития ОЗВ явилось обоснование и разработка систем массированного применения огнесмесей, способных поражать широкий круг целей, в том числе площадных, в тактической глубине боевых порядков противника и решать задачи по огневой поддержке и сопровождению общевойсковых соединений на наиболее важных участках боя.

Создание таких систем массированного применения огнесмесей оказалось возможным в результате исследований возможности использования напалмовых огнесмесей для создания объемного теплового поля, эффективно поражающего открыто расположенную живую силу, при этом расход огнесмеси сокращался по сравнению с традиционными методами применения в 14–15 раз за счет создания высокотемпературного теплового поля. Эти работы явились основой для разработки и создания в 1981 г. реактивной системы залпового огня ТОС-1 «Буратино» на шасси основного боевого танка Т-72. В течение 15 лет эксплуатации и боевого применения в Российской армии она показала высокую эффективность по поражающему действию и продемонстрировала исключительную надежность. На ее основе была создана и принята на вооружение Российской армии в 2001 г. модернизированная система ТОС-1А

(«Солнцепек»). В ее состав дополнительно включены НУРС повышенной дальности в снаряжении дымозажигательной огнесмесью ОМ-419.

Таким образом, в настоящее время в Российской армии сформирована система огнеметно-зажигательного вооружения, которая включает в себя реактивные и струйные пехотные огнеметы, средства массированного применения огнесмесей с неуправляемыми реактивными снарядами и транспортно-боевые средства. Указанная система позволяет выполнять широкий перечень задач по огневому поражению противника и аэрозольному противодействию ему. В докладе также отмечена роль отдельных ученых и научных школ в создании советского и российского огнеметного оружия.

В докладе ведущего научного сотрудника 27 НИЦ МО РФ, кандидата технических наук **Н.В. Волкова** «История развития средств аэрозольного противодействия», показано, что в период между Первой и Второй мировыми войнами взгляды на применение дымов в бою, существовавшие в большинстве иностранных армий, не выходили за рамки обеспечения тактических задач. Взгляды же на использование дымов при проведении операций крупного масштаба полностью отсутствовали. Отечественные дымовые средства использовались не только подразделениями, но и частями, и даже соединениями, играли не только тактическую, но и оперативную роль.

Для этого в предвоенный период была проведена огромная работа по созданию различных дымовых средств – гранат, шашек, снарядов, мин, авиабомб, машин, авиационных и морских дымовых приборов, а также систем централизованного управления дымопуском.

В 1936 г. разработана и испытана дымовая граната системы Дьяконова. В корпус гранаты заливался белый фосфор в количестве 600 г. Подрыв гранаты осуществлялся обычным и усиленным детонаторами, при этом разлет осколков составлял до 25 м. В 1937 г. на Центральном военном химическом полигоне Красной Армии прошли испытания ручных дымовых гранат РДГ-1, РДГ-2, РДГ-3а, РДГ-3б. Каждая такая граната состояла из оболочки, представляющей собой корпус штатной учебной ядовито-дымной шашки. Масса аэрозолеобразующего состава в гранате составляла около 260 г, в качестве составов использовались различные типы дымовых смесей – А-12, А-13, ДФ-11 и др. Одновременно проводились испытания ручных дымовых гранат на основе смеси С-4 для ослепления экипажей танков.

В 1939 г. была разработана ручная дымовая граната с корпусом из намотанного картона. Масса аэрозолеобразующего состава, размещенного в корпусе, составляла 400 г. Применялось два типа составов. Первый состоял из бертолетовой соли, антрацена, нашатыря и пирита. Второй –

из бертолетовой соли, нашатыря, пековой смолы и инфузорной земли. Время разгорания гранаты составляло около 15 с, время аэрозолеобразования – 45 с. В 1941 г. разработана ручная дымовая граната РДГ, снаряженная дымовой смесью черного или белого дыма. Граната общей массой 550 г содержала 435 г АОС и создавала в течение 1,5 мин завесу длиной 30 м. Неоднократно модернизировалась во время войны гранаты РДГ-2, РДГ-26 и РДГ-2ч (приняты на снабжение в 1943 г.).

В конце 1940-х гг. проводились работы по созданию РДГ с металлохлоридными аэрозолеобразующими составами. Испытания ручных дымовых гранат РДГ-2х показали, что образцы с металлохлоридным составом по маскирующей способности превосходили гранаты РДГ-2 в полтора раза. В 1949 г. граната РДГ-2х была принята на снабжение.

В 1970-х гг. разработана граната РДГ-П в металлохлоридном снаряжении. При весе 500 г в течение 90 с она образует аэрозольную завесу длиной до 35 м. В 2003 г. на вооружение Российской армии принята 40-мм выстреливаемая дымовая граната ВДГ-25 к подствольному гранатомету ГП-25. Она позволяет создать аэрозольную завесу размером 3×10 м в течение 20 с на дальности 400 м. Дальнейшее развитие ручных дымовых гранат предусматривает расширение диапазона маскирующего действия и увеличения пространственно-маскирующих характеристик за счет совершенствования существующих и создания принципиально новых аэрозолеобразующих составов.

Дымовые шашки в русской армии приняты на снабжение перед Первой мировой войной – шашка белого дыма конструкции Санникова и Ершова. Дымовая смесь шашек состояла из нитрата калия, серы и опилок. На вооружение Красной Армии в 1924 г. поступила модификацией шашки Санникова-Ершова – дымовая шашка Е-1, позже – ее модификация У-2. В 1928 г. принята на вооружение шашка АЕ-3, снаряжаемая антраценовой дымовой смесью. В 1930 г. на основе медленно горящих дымовых смесей «А» и «МГ», опытных футляров типа «Д» и «ЯД» были созданы дымовые шашки типа «А» и «МГ» различной конструкции. В этом же году на снабжение армии была принята дымовая шашка малого и среднего образцов ДМ-11 и ДС-11 соответственно. В 1930-х гг. разработаны дымовые шашки ДФ-11 и ДУФ-11 на основе желтого и красного фосфора, выполненных в футлярах ЯД-5/6.

Для создания аэрозольной завесы на большой площади наиболее перспективным направлением явилась разработка больших дымовых шашек (ДБ-11 и БДШ).

В 1936–1937 гг. изучался вопрос постановки аэрозольных завес цветного дыма. Но ввиду высокой стоимости компонентов дымовых смесей

промышленного производства налажено не было. Во время войны, ввиду трудностей с сырьем, особое внимание уделялось созданию рецептур на основе зеленого масла, хлопкового жмыха и каменноугольного пека. В послевоенные годы велись работы по созданию дымовых шашек и брикетов, содержащих металлохлоридные составы (шашки ДМХ-5 и ДСХ-15). В 1948 г. разработаны дымовые шашки БДШ-5 и БДШ-15, снаряженные дымовой смесью А-12. Их дальнейшее развитие – шашки БДШ-5Х и БДШ-15Х на основе металлохлоридной смеси.

В 1950-е гг. велись работы по усовершенствованию конструкции шашек и аэрозолеобразующих составов. Были разработаны составы: на основе феррофосфора, являвшегося отходом при производстве желтого фосфора; на основе гексахлорциклогексана; на основе гексахлорэтана.

В 1973–1975 гг. разработана унифицированная дымовая шашка УДШ, выполненная в металлическом корпусе противотанковой мины. В 1981 г. разработана блочная дымовая шашка ШДБ. В 1987 г. – единая дымовая шашка модульная ЕДШ-М.

В 1999 г. создана дымовая шашка повышенной эффективности ШД-П, конструктивными особенностями которой является наличие устройства, обеспечивающего передачу инициирующего импульса на последующие шашки как в начальный момент возгорания (при параллельном соединении), так и по мере ее догорания (при последовательном соединении). Данная шашка позволяет создавать в течение пяти минут аэрозольную завесу длиной не менее 150 м.

В ходе Первой мировой войны для постановки продолжительных по времени аэрозольных завес использовались специальные носимые (ранцевые) и возимые дымовые приборы различной конструкции. Путем распыления жидких аэрозолеобразующих смесей с помощью сжатого воздуха они позволяли создавать аэрозольные завесы в течение 10–40 мин.

До 1934 г. в РККА применялись стационарные дымовые приборы (баллоны) «Ганзеатише» немецкого производства, снаряжаемые дымовой смесью «С-4» и ранцевые дымовые приборы. К концу 1930-х гг. была разработана отечественная дымовая аппаратура: дымовая аппаратура «ЯД»; возимые дымовые приборы ВДП-50; прибор ТП-10 и др.

В ходе Великой Отечественной войны широкое применение получили бочки Л-100 и Л-250, дымовые приборы Е-24 и ЛДП. В послевоенный период основные усилия разработчиков дымовых приборов были направлены на создание термодымовой аппаратуры, использующей для аэрозолеобразования не смеси типа «С-4», а нейтральные нефтепродукты. Так, в 1947–1949 гг. была разработана легкая дымовая аппаратура «Кама». Непросматриваемая длина аэрозольной завесы составляла до 400 м.

С целью расширения боевых возможностей частей специальной обработки при ведении боевых действий с применением только обычного оружия в середине 1980-х гг. был разработан, испытан и в 1997 г. принят на снабжение комплект бортовых аэрозольных генераторов (комплект БАГ), предназначенный для установки на авто-разливочную станцию АРС-14.

В 1999 г. на снабжение войск РХБ защиты принят аэрозольный генератор универсальный АГУ, в качестве силовой установки которого используется турбореактивный двигатель АИ-9В. Длина непротрачиваемой части аэрозольной завесы – до 1200 м. Дальнейшее развитие аэрозольных генераторов предусматривает создание надежных, дистанционно управляемых, автономных и малогабаритных аэрозольных генераторов с изменяемым расходом аэрозоля.

Прообразом современных дымовых машин являются боевые химические машины и химические танки, принятые на вооружение РККА в начале 1930-х гг. Наряду с применением отравляющих веществ, они обеспечивали постановку аэрозольных завес путем распыления дымовой смеси С-4.

В послевоенный период происходят изменения во взглядах на роль дымов в современных условиях и способы их применения. На снабжение химических войск принимаются термические дымовые машины.

В 1951 г. на Центральном научно-исследовательском химическом полигоне прошли испытания экспериментального образца термической дымовой аппаратуры – ТДА (проект СК2-61). В ходе испытаний в полевых условиях были подтверждены правильность выбора принципа аэрозолеобразования и правильность общей конструктивной схемы аппаратуры. Испытания положили начало развитию дымовых машин, обеспечивающих создание маскирующих (подвижных и неподвижных) завес на основе термической возгонки нефтепродуктов.

В 1988 г. на снабжение принята дымовая машина ТДА-2К, выполненная на шасси автомобиля КАМАЗ-4310. Производительность по АОС данного типа машин составляла от 300 до 1000 л/ч, при этом создавалась завеса длиной не менее 1000 м. В качестве АОС использовались дымовые смеси ДС № 1, ДС № 5б, дизельное топливо. Продолжительность дымопуска составляла от 1 до 11 ч. В 2014 г. на снабжение войск РХБ защиты принята дымовая машина нового поколения ТДА-3, предназначенная для замены дымовой машины ТДА-2К. Конструкция дымовой машины ТДА-3 позволяет осуществлять постановку приподнятых аэрозольных завес за счет использования отклоняющей насадки.

Возрастание возможностей авиации противника по нанесению ударов по крупноразмерным объектам потребовало повысить масштабы и оперативность применения дымов. Впервые система централизованного управления дымопуском (СЦУ-Д) была испытана 19 сентября 1935 г. в ходе учений по маскировке одного из портов Кронштадтской военно-морской базы.

Во время Великой Отечественной войны эффективно использовалась система централизованного управления дымопуском «Ястреб», предназначенная для задымления военно-морских баз, портов и отдельных объектов с целью маскировки их от прицельного бомбометания и артиллерийского обстрела противника. Система, состоявшая из центрального пульта управления и 172 дымовых станций, обеспечивала одним комплектом шашек ДШ-100 в количестве 2064 шт. полное задымление на площади до 16 км² при любом направлении ветра в течение 1,5 ч. В дальнейшем система централизованного управления дымопуском «Ястреб» была заменена системой «Сокол», оснащенной шашками ДШ-100М.

В 1982 г. на вооружение химических войск была принята система дистанционного управления дымопуском СДУ-Д «Распорядок». В 1984 г. на основе системы РПЗ-8, предназначенной для дистанционного управления минными полями, разработано радиоэлектронное средство дистанционного управления внешними устройствами РПЗ-8Х. В 2004 г. проведена модернизация РПХ-8Х с целью обеспечения срабатывания дымовых средств через промежутки времени, определяемые самим оператором. Система РПХ-8ХМ обеспечивает управление 24 дымовыми очагами избирательно, последовательно или автоматически.

Дальнейшее совершенствование средств аэрозольного противодействия будет направлено на увеличение пространственно-временных характеристик создаваемых аэрозольных завес; расширение спектрального диапазона маскирующего действия за счет создания специальных аэрозолеобразующих составов; сокращение номенклатуры средств.

В обстоятельном докладе «История развития средств биологической защиты военнослужащего» кандидата мед. наук **А.П. Пирожкова**³, ведущего научного сотрудника научно-исследовательского управления федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации («48 ЦНИИ» МО РФ), рассмотрена история создания и совершенствования средств вакцинопрофилактики опасных и особо опасных инфекци-

³ Соавторы доклада С.В. Борисевич, Д.А. Кутаев, А.В. Кузнецовский, М.Ю. Амосов, А.Ю. Кармишин, А.В. Карулин, А.Е. Бабичев.

онных заболеваний бактериальной, вирусной и риккетсиозной природы, средств экстренной профилактики и лечения таких болезней, специфических иммуноглобулинов и развитие технических средств биологической разведки и контроля. В частности, было показано, что именно военными биологами были созданы и либо производились промышленным путем, либо производятся до настоящего времени:

чумная живая сухая вакцина (1940 г.), первая отечественная сибиреязвенная живая вакцина СТИ (1942 г.);

туляремийная живая сухая вакцина (1944 г.); бруцеллезная живая сухая вакцина на основе штамма № 19 для подкожной иммунизации (1946 г.); лечебная бруцеллезная вакцина (1950 г.);

сыпнотифозная сухая эмбриональная для подкожного применения (1967 г.);

ВЭЛ (венесуэльского энцефаломиеелита лошадей) эмбриональная живая сухая для подкожного применения (1969 г.);

ВСЭЛ (восточного энцефаломиеелита лошадей) эмбриональная живая сухая для подкожного применения (1974 г.);

сыпнотифозная эмбриональная химическая абсорбированная жидкая (1983 г.);

оспенная живая для энтерального применения (1979 г.);

ВЭЛ (венесуэльского энцефаломиеелита лошадей) эмбриональная живая сухая для подкожного применения (1991 г.).

Почти два десятка вакцин в настоящее время находятся на различных стадиях исследования и промышленного освоения.

Фундаментальное значение для борьбы с инфекционными болезнями в масштабе всего СССР имели работы 1940-х гг. сотрудников института по созданию технологии получения первых отечественных антибиотиков. Именно у нас в годы войны впервые в стране при активном участии З.В. Ермольевой были получены промышленные партии пенициллина, которые сразу же поступили во фронтовые госпитали.

Одновременно с исследованиями по созданию средств иммунопрофилактики под руководством В.А. Лебединского развивалось направление разработки высокоэффективных методов массовой иммунизации. В 1962–1970 гг. разработаны ингаляционный метод вакцинопрофилактики легочной формы чумы, предусматривающий применение мелкодисперсного аэрозоля регидратированной культуры вакцинного штамма ЕВ чумного микроба; и пероральный метод иммунизации.

Для лечения тяжелых форм сибирской язвы разработан препарат противосибиреязвенного глобулина, обеспечивающий достижение высокого терапевтического эффекта за счет содержания в нем специфических антител, обладающих мощным антибактериальным и антитоксиче-

ским действием. Всего перечень разработанных в «48 ЦНИИ» МО РФ иммуноглобулинов включает 18 наименований (противооспенный, против возбудителя лихорадки Марбург, Эбола и др.).

В результате проведенных исследований уже в 1960-е гг. было налажено получение специфических иммуноглобулинов для обеспечения безопасности работы сотрудников с возбудителями I–II групп патогенности. Иммуноглобулины применялись в случаях аварийных ситуаций для экстренной профилактики и лечения заболеваний.

В 2001 г. на снабжение войск РХБ защиты принят комплект-укладка приборов биологического контроля КПБК-1У, предназначенный для проведения методом ПЦР анализа проб, отобранных из объектов внешней среды, с целью обнаружения в них ДНК возбудителей особо опасных инфекций бактериальной (чумы, сибирской язвы и холеры) и вирусной (ортопоксвирусов) природы.

В рамках ФЦП «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 гг.)» создан комплект молекулярно-биологических тест-систем для выявления, идентификации и генетического типирования патогенных биологических агентов.

С середины 1990-х гг. в «48 ЦНИИ» МО РФ и его филиалах проводятся исследования по созданию мобильных лабораторных комплексов.

В докладе «Участие войск радиационной, химической и биологической защиты в специальных операциях Министерства обороны (Афганистан, Чернобыль, Чечня, Сирия)» доктора военных наук **Р.Ю. Кондаурова**, старшего преподавателя кафедры «Радиационная, химическая и биологическая защита войск в бою и операции» Военной академии радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко Министерства обороны Российской Федерации, рассмотрен опыт участия войск РХБ защиты в боевых действиях после Второй мировой войны.

Основными задачами применения войск РХБ защиты в боевых действиях в Афганистане являлись:

- выявление радиационной и химической обстановки в районе действий войск;
- обеспечение безопасности личного состава при пропуске войск через туннели;
- применение аэрозолей для скрывания действий своих войск и ослепления противника;
- нанесение поражения противнику огнем воздействием огнеметных подразделений.

Подразделения химических войск в ходе рейдовых операций использовались для обследования мест разрыва боеприпасов на предмет обнаружения отравляющих веществ, для забора проб грунта и воды, выявления химических боеприпасов в захваченных складах противника

Широко применялись дымовые средства для фланговых прикритий подразделений на марше,

что лишало противника возможности вести прицельный огонь по движущейся колонне, оказывало определенное морально-психологическое воздействие на мятежников, которые были вынуждены покидать подготовленные огневые позиции.

С 1983 г. огнеметные подразделения химических войск приступили к активному участию в боевых действиях. Опыт ведения боевых действий в Афганистане выявил острую необходимость наличия вооружения, способного поражать огнем значительные массы пехоты на больших площадях. Решением этой проблемы явилась тяжелая огнеметная система ТОС-1 «Буратино», установленная на базе танка Т-72. Боевые испытания системы ТОС-1 прошла в Афганистане в 1989 г. В то время ТОС была еще совершенно секретным оружием и раскрыла свою ошеломляющую мощь в сражениях на территории Афганистана.

Следующим серьезным испытанием для химических войск стала произошедшая 26 апреля 1986 г. авария на Чернобыльской атомной электростанции – крупнейшая радиационная катастрофа XX века, в результате которой радиоактивному загрязнению подверглась территория не только СССР, но и Западной и Восточной Европы. Доля химических войск в выполненных задачах составляет по наземной и воздушной радиационной разведке – 90% от всего объема, по дезактивационным работам – до 64%, по пылеподавлению и локализации заражения – 70%. В пределах особой, наиболее опасной зоны, химические войска выполнили практически весь объем задач по радиационной разведке, 60% – по дезактивации и 70% – по пылеподавлению.

В ходе ведения боевых действий в Чечне основными задачами войск РХБ защиты являлись:

- ведение РХБ разведки на маршрутах движения войск, в боевых порядках штурмовых отрядов и групп, выполняющих боевые задачи по захвату радиационно и химически опасных объектов, а также РХБ наблюдение на пунктах управления и предприятиях, использующих в своем производстве СДЯВ;

- применение маскирующих аэрозолей с целью прикрытия действий своих войск, ослепления огневых точек и опорных пунктов противника, эвакуации раненых и поврежденной техники с поля боя;

- нанесение поражения противнику огнеметно-зажигательными средствами при бое в городе в составе штурмовых отрядов (групп), разведгрупп и блокпостов;

- поддержание необходимых запасов огнеметно-зажигательных средств, СИЗ, индикации и анализа для обеспечения выполнения мероприятий РХБ защиты войск и снабжение ими действующих частей.

В Чечне впервые был использован огнемет РПО-А с комбинированным боеприпасом. Кумулятивная бо-

евая часть способствовала глубокому проникновению основной боевой части, заполненной топливозвдушной огнесмесью, внутрь объекта. Это позволило использовать реактивные пехотные огнеметы для поражения не только живой силы противника в укрытиях, огневых точках, зданиях или на местности, но и для уничтожения легкобронированной и автотранспортной техники.

Наибольшая эффективность применения огнеметов достигалась при комбинированном использовании термобарических и зажигательных боеприпасов, в результате чего укрытия вначале разрушались, а затем поджигались. Одновременные залповые удары огнеметного взвода по первым этажам девятиэтажных зданий, превращенных боевиками в опорные пункты, приводили к тому, что здания полностью разрушались, превращаясь в груды развалин.

Сегодня войска РХБ защиты достойно выполняют свой воинский и профессиональный долг, принимают участие в выполнении специальных операций в Сирийской Арабской Республике.

В плане государственного патриотического образования военнослужащих войск РХБ защиты ВС РФ и молодежи на конференции был представлен доклад кандидата военных наук **В.Н. Малеева** на тему: «Героические страницы войск РХБ защиты ВС РФ». В своем выступлении он отметил основные героические вехи столетней истории войск. Рассказал о героях, которые своими жертвенными подвигами при защите Отечества стали легендами войск, прославили их и вписали золотыми буквами свои подвиги в боевую летопись не только войск, но и всей Армии, чем подняли авторитет наших войск на заслуженную высоту.

На конференции также прозвучали выступления:

профессора кафедры Военной академии РХБ защиты, доктора технических наук, профессора полковника **А.С. Мигачева** «История развития вооружения и средств войск РХБ защиты»;

заместителя начальника Федерального управления по безопасному хранению и уничтожению химического оружия, кандидата технических наук, профессора **В.Г. Мандыча**.

Военным университетом Министерства обороны Российской Федерации участникам конференции была представлена концертная программа с участием вокально-хореографического ансамбля «Курсантское братство».

Ведущий научный сотрудник управления 27 НЦ МО РФ
подполковник

Смирнов Александр Михайлович

Младший научный сотрудник 27 НЦ МО РФ

Соляник Нелли Павловна

Младший научный сотрудник 27 НЦ МО РФ

Шило Наталья Игоревна

Указатель авторов и статей журнала за 2018 год

Название	Номер журнала	Номера страниц
Редакционная статья		
Обращение главного редактора к читателям	№ 1	3
Кириллов И.А. Ложь как принцип!	№ 3	3–6
Кириллов И.А. Американский центр общественного здравоохранения им. Ричарда Лугара в Грузии – угроза биологической безопасности России	№ 4	7–9
Поздравления		
Центральному научно-исследовательскому испытательному институту Министерства обороны Российской Федерации 90 лет (1928–2018 гг.)	№ 2	3–9
Войскам Радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации 100 лет (1918–2018 гг.)	№ 4	3–6
Проблемы соблюдения Конвенций о запрещении химического и биологического оружия		
Рыбальченко И.В., Фатеев В.Н. Двадцать пять лет Лаборатории химико-аналитического контроля федерального государственного бюджетного учреждения «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации	№ 1	4–11
Ковтун В.А., Колесников Д.П., Супотницкий М.В., Шило Н.И. Сирийская «химическая война»	№ 3	7–39
Химическая безопасность и защита от химического терроризма		
Кужелко С.В., Ковтун В.А., Колесников Д.П. Экспедиция специалистов войск РХБ защиты на остров Матуа Курильской гряды	№ 1	12–23
Кухоткин С.В., Иноземцев В.А., Рябкин В.М. Становление и развитие 33 Центрального научно-исследовательского испытательного института Министерства обороны Российской Федерации	№ 2	10–17
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	№ 2	18–50
Корнеев Д.О., Петракова Л.В., Понсов М.А., Родионов А.А. Разработка методики определения низкомолекулярных биомаркеров заражения ипритом в пробах биологического происхождения	№ 3	40–54
Гладких В.Д., Мурадов М.М., Колосова Н.А., Касаткин И.К., Сластилова Л.М. Нормативно-правовые и научно-производственные аспекты состояния и перспектив развития системы антидотной терапии в Российской Федерации	№ 4	10–21
Биологическая безопасность и защита от биологических угроз		
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	№ 2	61–68
Онучина Н.В., Кузнецовский А.В., Воробьев А.А., Филиппов А.В. Генетическое конструирование рекомбинантного штамма <i>Bacillus subtilis</i> , продуцирующего протективный антиген сибиреязвенного микроба	№ 2	51–60
Канищев В.В., Морозов А.С., Лакомов В.П., Омеляненко Ю.В., Бухаева С.Р., Трошев Р.Г., Муравьев А.Г. Использование зарегистрированных в России дезинфицирующих средств войсками РХБ защиты в чрезвычайных ситуациях биологического характера	№ 4	57–67
Кибирев Я.А., Бурлачук С.Е., Грудцына А.С., Ситяков Д.О., Исупов С.Г., Дробков В.И. Методы идентификации возбудителей опасных и особо опасных инфекционных заболеваний, основанные на анализе нуклеиновых кислот	№ 4	22–35
Погорельский И.П., Лещенко А.А., Лазыкин А.Г., Гурин К.И., Тетерин В.В., Шаров Д.А. Биотехнология рекультивации и восстановления экологического статуса почвы в местах постоянной дислокации войск с использованием препарата нефтеструктора на основе микробно-растительной ассоциации	№ 4	44–56
Янов Д.С., Кузнецовский А.В., Дубровин М.Ю., Миронин А.В., Онучина Н.В., Филиппов А.В. Разработка способа обнаружения и идентификации днк токсигенных штаммов <i>Clostridium botulinum</i> типов А, В, Е методом ПЦР в реальном времени	№ 4	36–43
Повседневная деятельность войск РХБЗ		
Шабельников М.П., Михайлов В.Г., Терновой А.В., Комратов А.В., Макейкин Е.В., Кужелко С.В. Деятельность мобильной диагностической группы 27 НЦ МО РФ	№ 3	55–64
Лекции по ключевым вопросам РХБ безопасности		
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	№ 2	70–77

Название	Номер журнала	Номера страниц
Исторический архив		
Лещенко А.А., Туманов А.С., Шаров Д.А., Багин С.В., Логвинов С.В., Позгорельский И.П., Лазыкин А.Г., Ежов А.В., Мохов Д.А., Крупин В.В. История создания отечественного оборудования для промышленного культивирования микроорганизмов	№ 1	37-47
Петров С.В. Как создавался фундамент государственной программы уничтожения химического оружия в России	№ 1	24-36
Шило Н.И. Первые попытки запрещения химического оружия	№ 1	40-69
Супотницкий М.В. Инженер Рихард Фидлер и его огнемётная эпопея в России накануне Первой мировой войны	№ 3	64-89
Поклонский Д.Л. К 60-летию создания Научно-исследовательского технического бюро	№ 4	75-81
Обзор важнейших международных событий в области РХБ безопасности		
Обзор	№ 1	74-85
Хроника		
Грабаров Павел Алексеевич (к 90-летию со дня рождения)	№ 1	70-71
Климентьев Юрий Алексеевич (к 70-летию со дня рождения)	№ 1	72
Селезнев Леонид Вадимович (к 60-летию со дня рождения)	№ 1	73
Правила направления и опубликования научных статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты»	№ 1	86-92
Лукин Евгений Павлович (к 90-летию со дня рождения)	№ 2	89
Войска радиационной, химической и биологической защиты на конгрессе национального диалога Сирии	№ 2	78-79
16 мая 2018 года – 75 лет со дня образования войсковой части 19893	№ 2	80-81
Порядок рецензирования статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты»	№ 2	90-92
Пятая Спартакиада войск РХБ защиты	№ 2	82-83
Военно-историческая конференция: «Войскам РХБ защиты – 100 лет. Военная академия РХБ защиты в разрезе истории развития войск»	№ 2	84-85
Под Курском прошли масштабные учения войск радиационной, химической и биологической защиты	№ 2	86
Выставка к 100-летию войск РХБ защиты ВС РФ в Центральном музее ВС	№ 2	88
21 июня 2018 г. в России стартовал Всеармейский этап конкурса «Безопасная среда»	№ 3	64-90
В Костроме состоялась церемония вручения дипломов выпускникам ВА РХБЗ	№ 3	91-92
Научно-историческая конференция «100 лет – войскам радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации»	№ 4	82-90

Наша замечательная Россия

Халактырский пляж, восточное побережье Камчатки



К северо-востоку от Петропавловска-Камчатского, от мыса Птичий до сопки Козельская, простирается удивительное природное явление – черный пляж, получивший свое название от впадающей в Тихий океан реки – Халактырский. Побережье, покрытое черным песком – исключительно редкое явление. Формируется там, где тысячелетия назад по берегу в океан стекала лава. Океан делал свое дело, многократно наступая и отступая, приходили и уходили льды, постепенно лава перемывалась в песок черного цвета. Таких пляжей на планете всего семь: Аджуй и Лаго Верде на Канарских островах, Пиха на берегу Тасманова моря, Вик в Исландии, Пуналуу на Гавайях, «Потерянное побережье» в Калифорнии. Но по масштабу ни одному из них не сравниться с Халактырским. Его длина составляет около 30 км, ширина ~300–500 м, глубина песка достигает 20 и более метров. Черный цвет песка обусловлен содержанием в нем железосодержащего магнетита и титаномагнетита. Естественное обогащение песка металлическими минералами происходило благодаря флотационной активности океана – легкие частички уносились волнами, тяжелые, насыщенные металлами, опускались вниз и оставались на месте. Купаться на Халактырском пляже нельзя, вода холодная и волны опасные. Но рыбаки здесь могут выловить крупного камчатского краба.

На фотографии вверху – Халактырский пляж (в сторону Авачинского залива). Нижний снимок слева – песок действительно черный; в центре – Халактырский пляж с южного склона Авачинского вулкана (темная полоса вдоль побережья); справа – главное дерево Камчатки – каменная береза, скрученная ветром.

Управление начальника войск
радиационной, химической и биологической защиты
Вооруженных Сил Российской Федерации



Москва
2018

В ознаменование столетнего юбилея войск РХБ защиты ВС РФ Управление начальника войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации издает книгу – исторический очерк «Войска радиационной, химической и биологической защиты. 100 лет. Военно-исторический очерк, посвященный столетию со дня образования войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации».

Очерк предназначен ветеранам, военнослужащим и гражданскому персоналу войск РХБ защиты ВС РФ, а также всем, кто интересуется отечественной военной историей.

Книга выходит под общей редакцией начальника войск РХБ защиты ВС РФ, кандидата военных наук генерал-майора И.А. Кириллова.

Авторский коллектив – кандидат экономических наук Е.Г. Старков, кандидат химических наук, доцент полковник В.А. Ковтун, кандидат педагогических наук полковник И.П. Полищук, кандидат технических наук подполковник А.М. Смирнов, кандидат исторических наук В.Ф. Колесников, Ю.И. Борисов, В.Е. Герасимов, А.Н. Долгов, В.Н. Малеев, А.В. Надеин, М.В. Супотницкий, Л.М. Тюленева, П.П. Шеховал, Н.И. Шило, С.Н. Якутин.

Рецензенты – В.В. Клименко, И.Н. Климов, Ю.А. Леонов, В.Д. Манченко, С.В. Петров, Э.А. Черкасов.

Неоценимую помощь авторам в подборке необходимого архивного материала по истории войск РХБ защиты оказали коллективы Центрального архива Министерства обороны РФ, Российского государственного военного архива и Российского государственного военно-исторического архива.

Авторский коллектив выражает признательность А.В. Бессолицыну, И.В. Васильеву, Б.К. Волгину, Л.Н. Солдатову, В.П. Капашину, В.Ф. Колесникову, В.С. Кулаге, Е.Ф. Лысюку, И.И. Мухину, А.В. Павлову, С.Г. Петрову, А.М. Тригуку за представление материала из личных архивов.

Особая признательность ООО «Синтерия» за помощь в оформлении и издании очерка.