# Общие вопросы биобанкирования микробиологических образцов



Азизов Илья Сулейманович, д.м.н., профессор

# Чем занимается НИИАХ?



**2020** Методический верификационный центр по вопросам антимикробной резистентности — референс-центр по клинической фармакологии
(приказ МЗ РФ №1366 от 24.12.2020 г.)

**2016** Сотрудничающий центр ВОЗ по укреплению потенциала в сфере надзора и исследований антимикробной резистентности

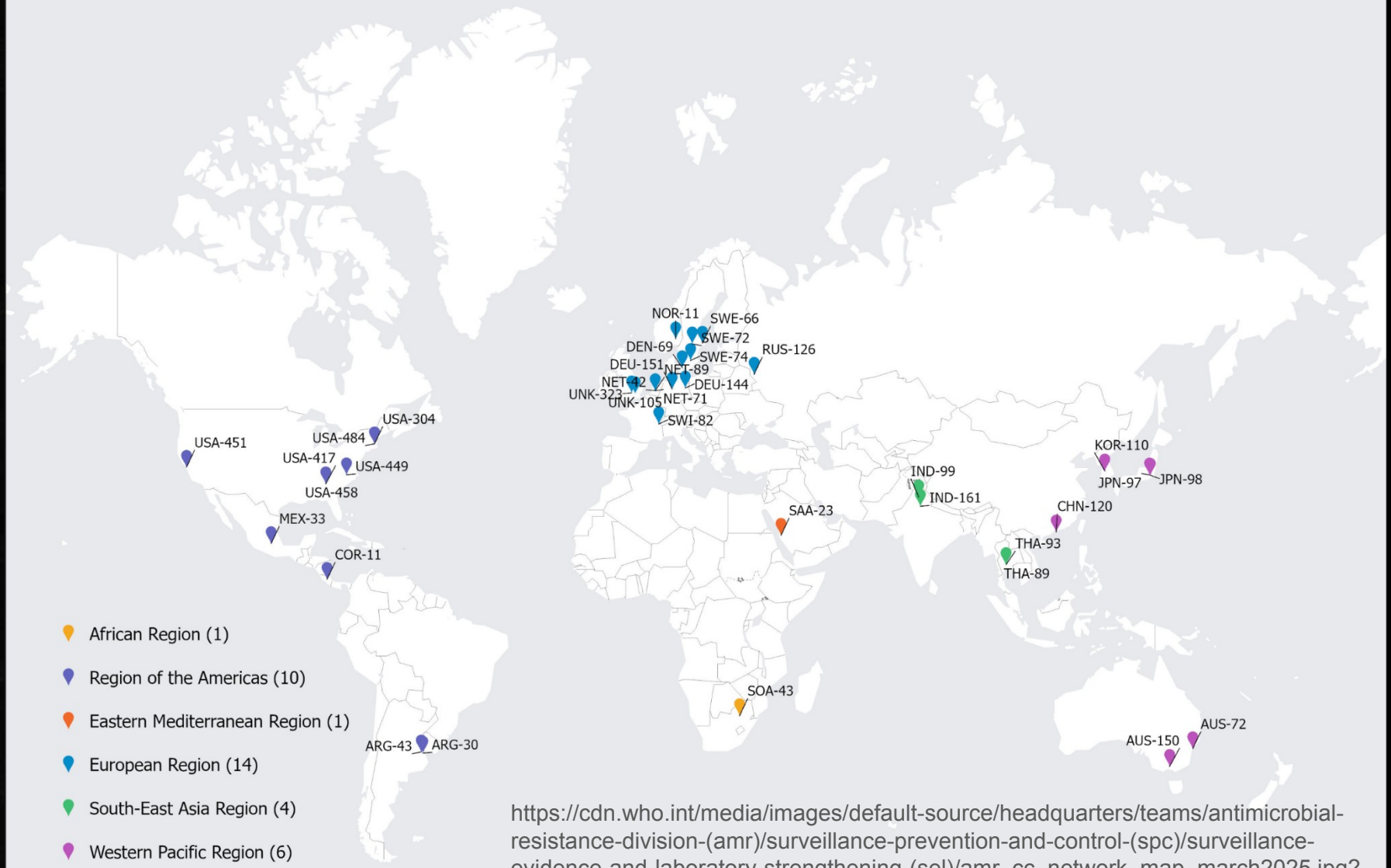
Сотрудничающий центр Европейского общества по клинической микробиологии
и инфекционным болезням (ESCMID)

**2000** Научно-методический центр МЗ РФ по мониторингу антимикробной резистентности

**1999** **Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии**

# WHO AMR Surveillance and Quality Assessment Collaborating Centre Network

World Health Organization




https://cdn.who.int/media/images/default-source/headquarters/teams/antimicrobial-resistance-division-(amr)/surveillance-prevention-and-control-(spc)/surveillance-evidence-and-laboratory-strengthening-(sel)/amr_cc_network_map_march2025.jpg?sfvrsn=8ac1e8b_1

# НИИ антимикробной химиотерапии: многоцентровые исследования антибиотикорезистентности

1994-1995 гг., 2 города
1995-1997 гг., 9 городов
1997-2000 гг., 15 городов
2000-2010 гг., 30 городов
2010-2023 гг., > 50 городов

Более 70ти локальных центров в различных регионах России, Беларуси и Казахстана

**Единственная организация, выполняющая масштабные многоцентровые исследования по антимикробной резистентности в Российской Федерации на постоянной основе**




AMRmap
*In vivo. In vitro. In silico.*

https://AMRmap.net

frontiers in Microbiology

ORIGINAL RESEARCH
published: 12 March 2021
doi: 10.3389/fmicb.2021.620002

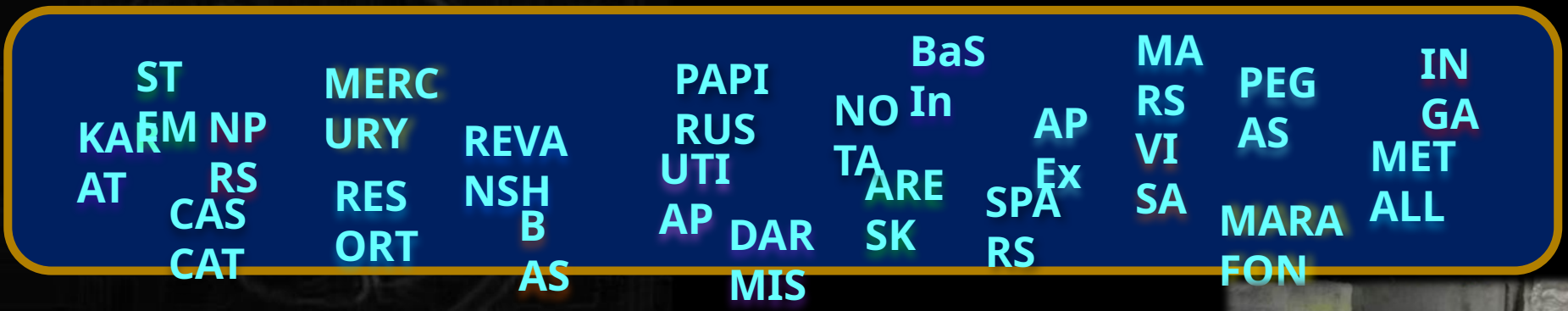
## AMRmap: An Interactive Web Platform for Analysis of Antimicrobial Resistance Surveillance Data in Russia

*Alexey Y. Kuzmenkov[1], Ivan V. Trushin[1], Alina G. Vinogradova[1]*, Andrey A. Avramenko[1], Marina V. Sukhorukova[1], Surbhi Malhotra-Kumar[2], Andrey V. Dekhnich[1], Mikhail V. Edelstein[1] and Roman S. Kozlov[1] on behalf of the Interregional Association for Clinical Microbiology Antimicrobial Chemotherapy (IACMAC) Working Group on Resistance Surveillance Programmes the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Study Group for Antimicrobial Resistance Surveillance (ESGARS)*

[1] Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Smolensk, Russia, [2] Department of Medical Microbiology, University of Antwerp, Antwerp, Belgium

# НИИАХ: коллекция клинических штаммов

- Более 25ти лет опыта проведения многоцентровых исследований по антимикробной резистентности




- Крупнейшая коллекция клинических штаммов микроорганизмов в России (>120 000 изолятов



# Биобанкирование микробиологических образцов

Теоретические аспекты

Методические аспекты



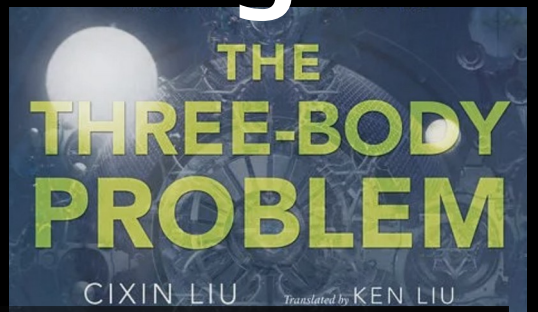
Юридические аспекты

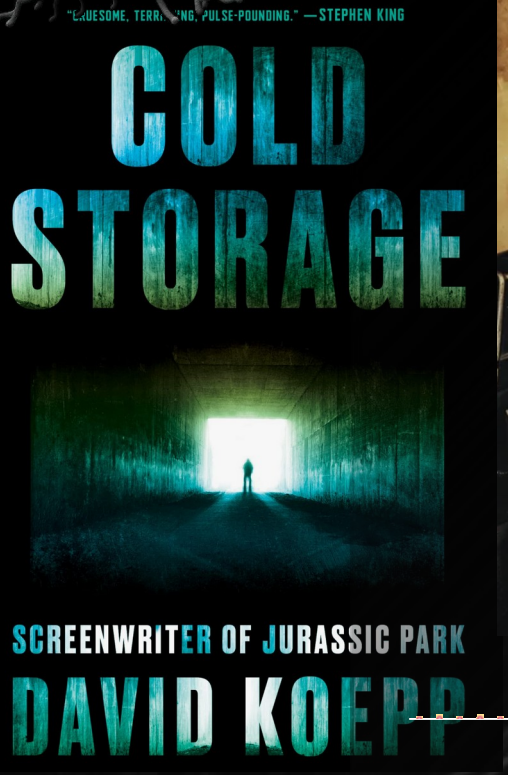
Информационные аспекты

# NCBI: “bacteria”+”biobanking”





НАСБИО
национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию

isber
INTERNATIONAL SOCIETY FOR BIOLOGICAL AND ENVIRONMENTAL REPOSITORIES



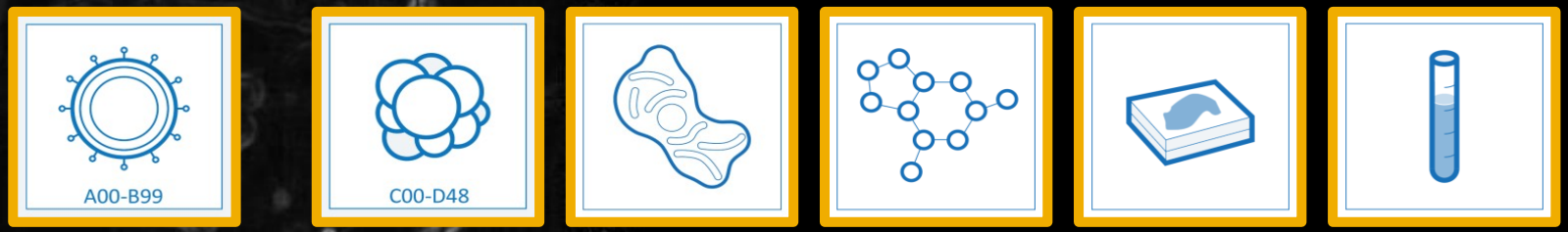

**Биобанк** – организация или подразделение организации, которая может принимать, обрабатывать, хранить и распространять **биологические образцы и ассоциированные с ними данные** для текущих и будущих исследований, диагностики и терапии в соответствии со **стандартными операционными процедурами** и включает в себя полный комплекс мероприятий, связанных с его функционированием.

**Синонимы**

Биорепозиторий - Biorepository

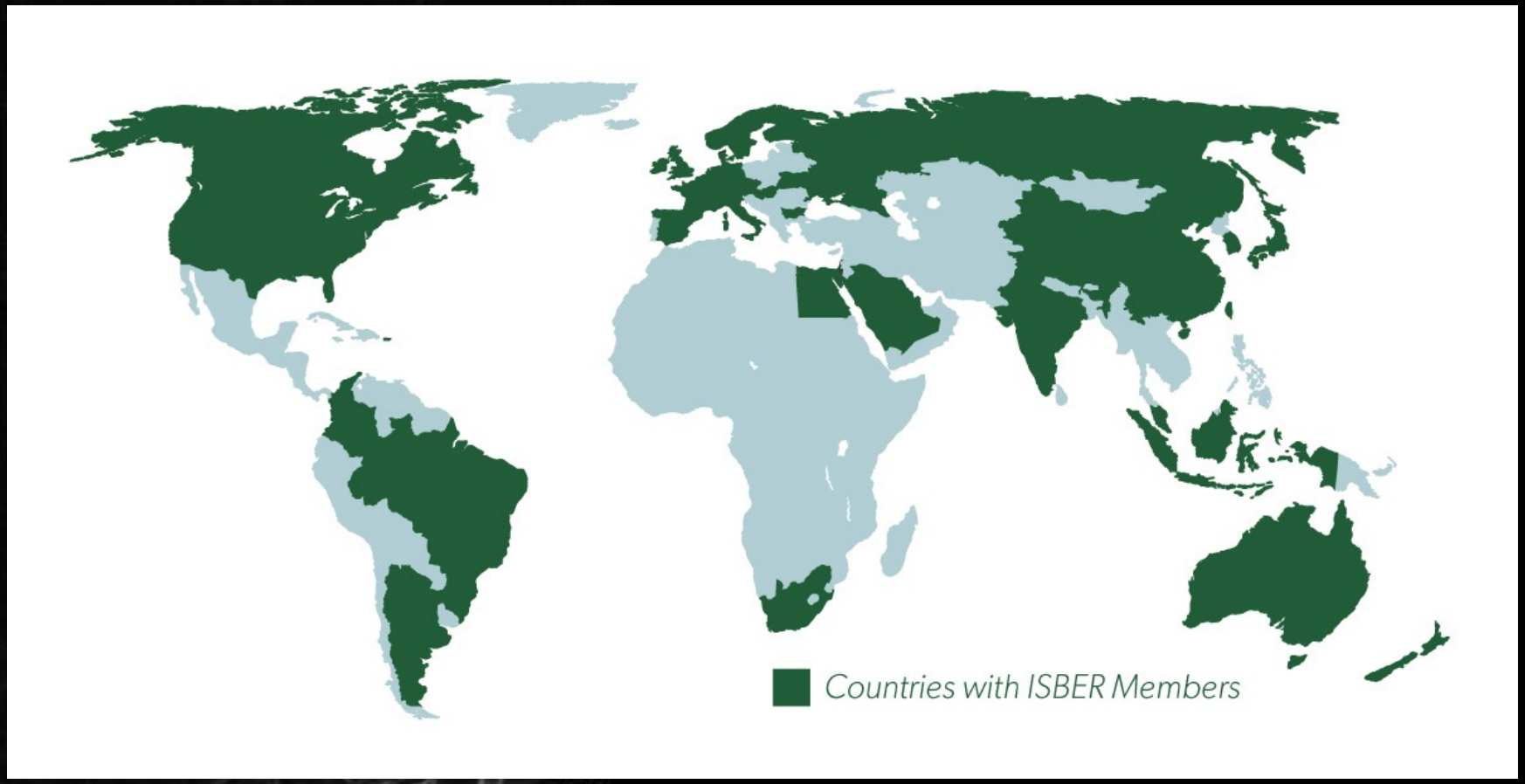
Репозиторий – Repository

Биологический ресурсный центр - Biological resource centre (BRC)




Биобанкирование. Национальное руководство. М:2022. http://nasbio.ru

# Члены ISBER



# Биобанки и стандартизация

Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии

## ISO 20387:2018

Biotechnology

Biobanking

General requirements for biobanking

Status : **Published**

→ This standard will be replaced by ISO/AWI 20387

## ISO 24088-1:2022

Biotechnology — Biobanking of microorganisms

Part 1: Bacteria and archaea

**Published** (Edition 1, 2022)

## ГОСТ Р ИСО 20387-2021

**БИОТЕХНОЛОГИЯ. БИОБАНКИНГ. ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ**

ПОЛНЫЙ ТЕКСТ ГОСТ Р ИСО 20387-2021 (40 страниц)

БИБЛИОГРАФИЯ

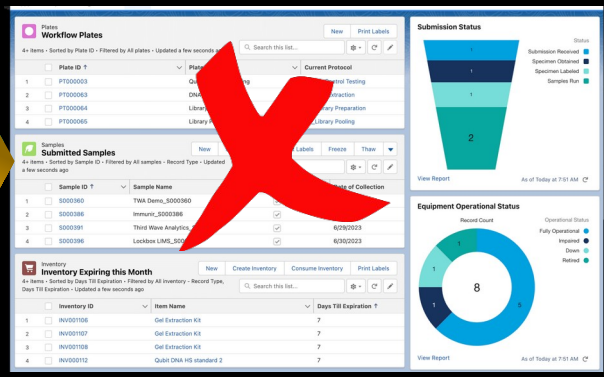
| | |
|---|---|
| Обозначение ГОСТ | ГОСТ Р ИСО 20387-2021 |
| Наименование на русском языке | Биотехнология. Биобанкинг. Общие требования |
| Наименование на английском языке | Biotechnology. Biobanking. General requirements |
| Дата введения в действие | 01.03.2022 |
| Код ОКС | 07.080 |
| Количество страниц | 40 |
| Статус | Действует |

ГОСТ Р 24088-1-2024
Биотехнология. Биобанкирование.

# Качество биообразцов и информации



Аналит
и-
ческие
систем
ы




Garbage in/Garbage out

# Путь к качественным данным



**Плохие данные**
Разрозненные системы хранят данные разрозненно, неполно и не поддаются анализу

**Хорошие данные**
Ошибки, аномалии и неорганизованность данных затрудняют получение информации

**Надежные данные**
Данные достаточно точны и доступны лицам, принимающим решения, однако существуют пробелы

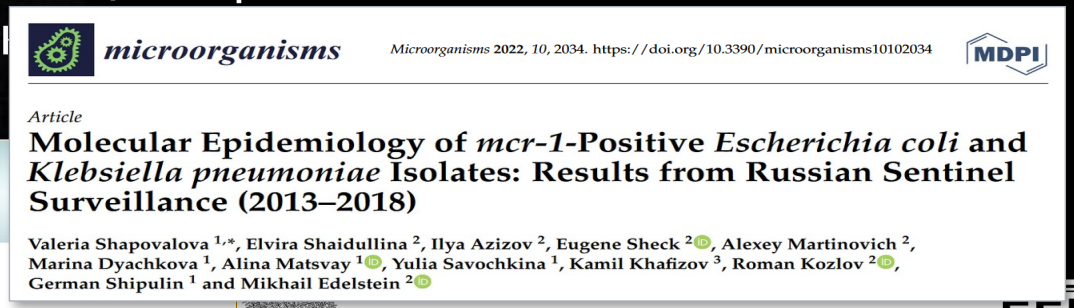
**Расширенные данные**
Данные очень точны и готовы к использованию инструментов и аналитики на базе ИИ

**Качественные данные**
Данные, доступные для предиктивной аналитики и машинного обучения и формирования точных прогнозов

Президент НАСБИО А.И. Муравьев

# Зачем хранить?

- Изучение биоразнообразия и микробной эволюции
- Изучение свойств микроорганизмов
- Проведение долговременных эпидемиологических исследований
- Формирование банка референтных культур
- Длительное хранение клинических аутоштаммов для пациентов с длительной терапией
- Формирование коллекций пробиотических штаммов
- Формирование бан
продуцентов



microorganisms

Microorganisms 2022, 10, 2034. https://doi.org/10.3390/microorganisms10102034

MDPI

Article

**Molecular Epidemiology of *mcr-1*-Positive *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates: Results from Russian Sentinel Surveillance (2013–2018)**

Valeria Shapovalova [1,*], Elvira Shaidullina [2], Ilya Azizov [2], Eugene Sheck [2], Alexey Martinovich [2], Marina Dyachkova [1], Alina Matsvay [1], Yulia Savochkina [1], Kamil Khafizov [3], Roman Kozlov [2], German Shipulin [1] and Mikhail Edelstein [2]



nature COMMUNICATIONS

ARTICLE

https://doi.org/10.1038/s41467-019-13836-5 OPEN

The Mouse Gut Microbial Biobank expands the coverage of cultured bacteria

Chang Liu [1,2], Nan Zhou [1,2], Meng-Xuan Du [1], Yu-Tong Sun [1], Kai Wang [3,4], Yu-Jing Wang [1,3], Dan-Hua Li [1], Hai-Ying Yu [1], Yuqin Song [1,2], Bing-Bing Bai [5], Yuhua Xin [6], Linhuan Wu [6], Cheng-Ying Jiang [1,2,3], Jie Feng [1,2], Hua Xiang [1], Yuguang Zhou [6], Juncai Ma [6], Jun Wang [3,5], Hong-Wei Liu [3,4*] & Shuang-Jiang Liu [1,2,3*]



ELSEVIER

FEMS Microbiology Reviews 29 (2005) 897–910

FEMS MICROBIOLOGY Reviews

www.fems-microbiology.org

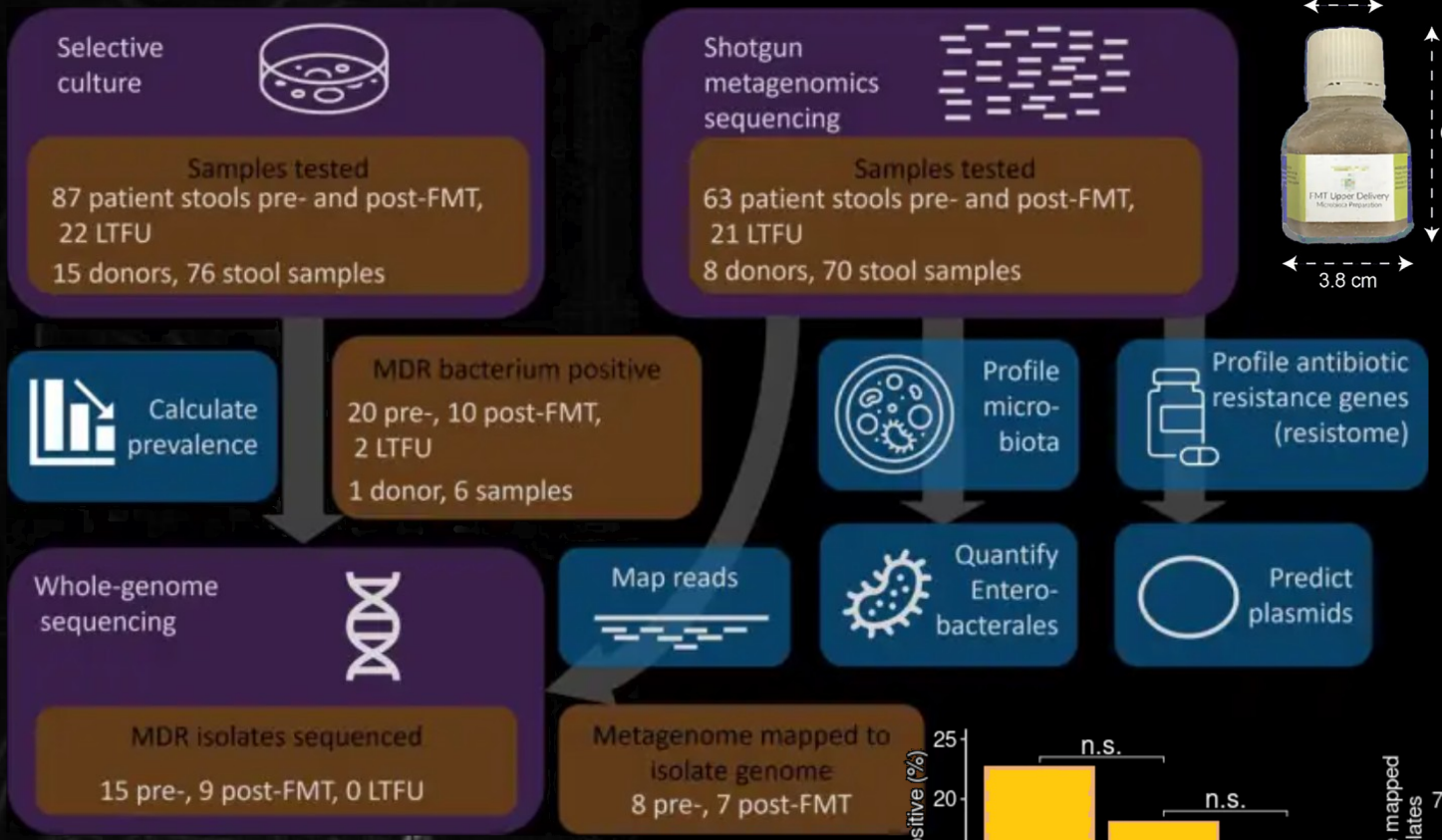
Biobanking in microbiology: From sample collection to epidemiology, diagnosis and research

Paolo De Paoli *

P De Paoli. Future of biobanking in microbiology for medical research https://doi.org/10.2217/17460913.3.1.79

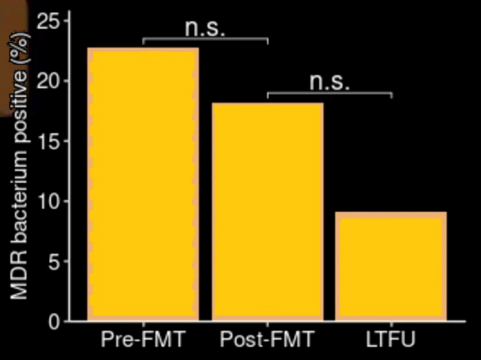
D.P.Yague et al. | Appl Microbiol. 2021; 131(3): 1030–1038

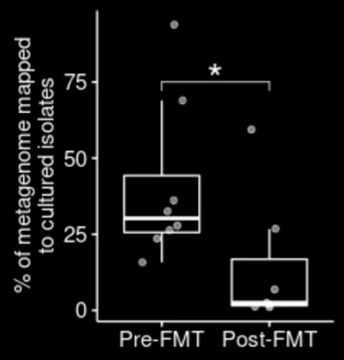
# Эффективность применения ФТ при инфекциях нижних дыхательных путей





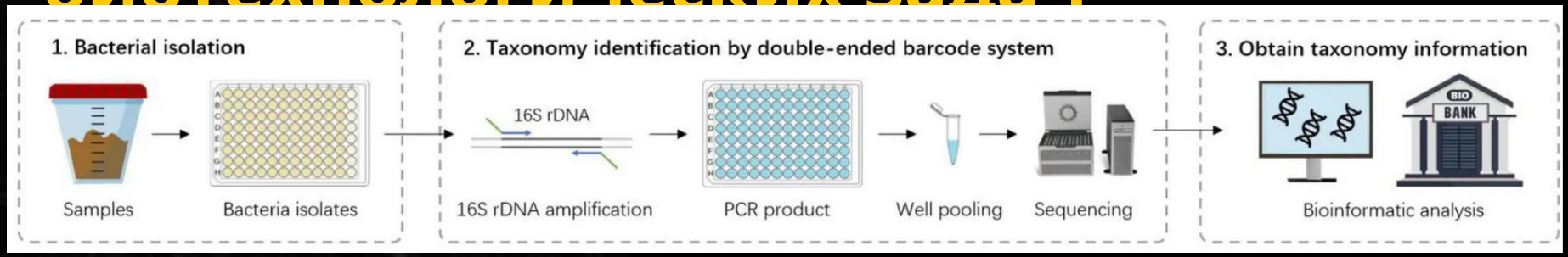




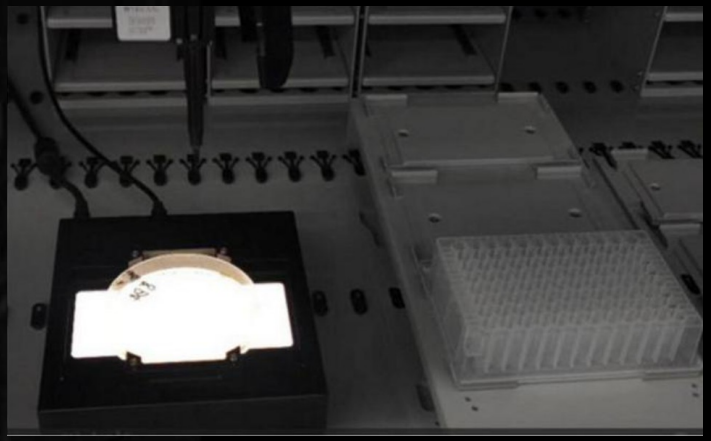




Chen J. et al. Front. Cell. Infect. Microbiol., 2021
Sec. Microbiome in Health and Disease
Volume 11 - 2021 | https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.622949

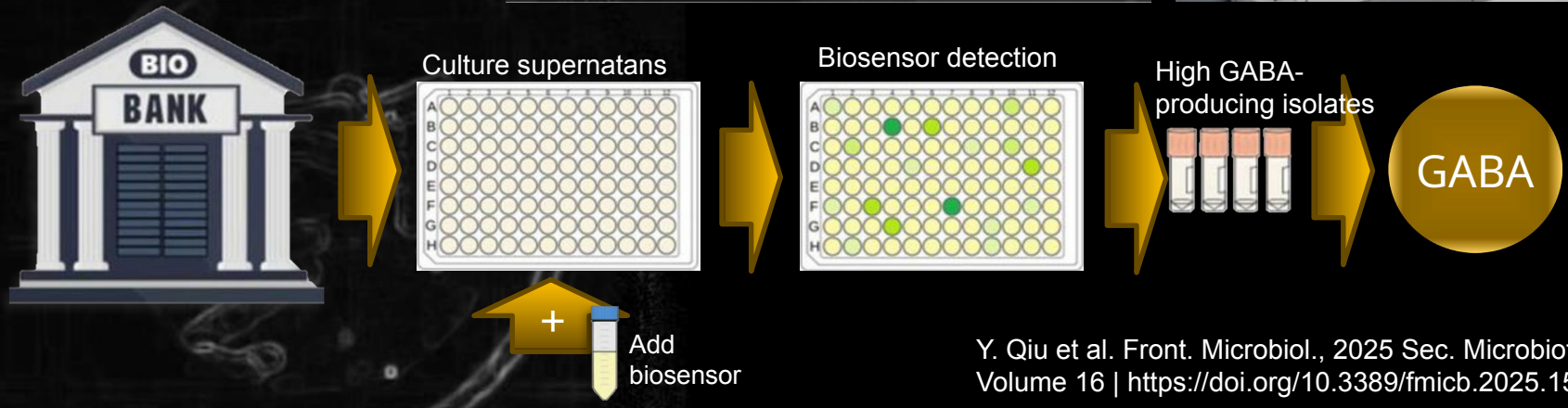
# Использование микробных биобанков для решения биотехнологических задач










Y. Qiu et al. Front. Microbiol., 2025 Sec. Microbiotechnology
Volume 16 | https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1545877

# *Serratia sarumanii* – доминирующий вид SMC среди клинических изолятов»






| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 121529 | *S. ureilytica* | 183 | Москва | 2020 |
| 105848 | *S. nevei* | 92 | Санкт-Петербург | 2018 |
| 118799 | *S. nevei* | 34 | Ростов-на-Дону | 2020 |
| 103101 | *S. nevei* | 34 | Ростов-на-Дону | 2018 |
| 87826 | *S. sarumanii* | 366 | Казань | 2017 |
| 121236 | *S. sarumanii* | 891 | Москва | 2020 |
| 98414 | *S. sarumanii* | 46 | Казань | 2018 |
| 97650 | *S. sarumanii* | 376 | Москва | 2017 |
| 87333 | *S. sarumanii* | 525 | Новосибирск | 2017 |
| 87360 | *S. sarumanii* | 525 | Новосибирск | 2017 |
| 87355 | *S. sarumanii* | 525 | Новосибирск | 2017 |
| 87336 | *S. sarumanii* | 525 | Новосибирск | 2016 |
| 87361 | *S. sarumanii* | 525 | Новосибирск | 2016 |
| 87331 | *S. sarumanii* | 525 | Новосибирск | 2016 |
| 87338 | *S. sarumanii* | 525 | Новосибирск | 2016 |

*pathogens*

MDPI

Article

**The Fires of Isengard Have Spread: *Serratia sarumanii* Is the Dominant Species in Clinical Isolates of the "*Serratia marcescens* Complex"**

Levin Joe Klages [1,2,3], Julia Hassa [2,3], Tobias Busche [2,3], Olaf Kaup [3,4], Christiane Scherer [3,5,†], Claudia Christine Freytag [3,6], Thorsten Kaiser [3,6], Jörn Kalinowski [1,2] and Christian Rückert-Reed [2,3,*]

Systematic and Applied Microbiology 47 (2024) 126527

Contents lists available at ScienceDirect

Systematic and Applied Microbiology

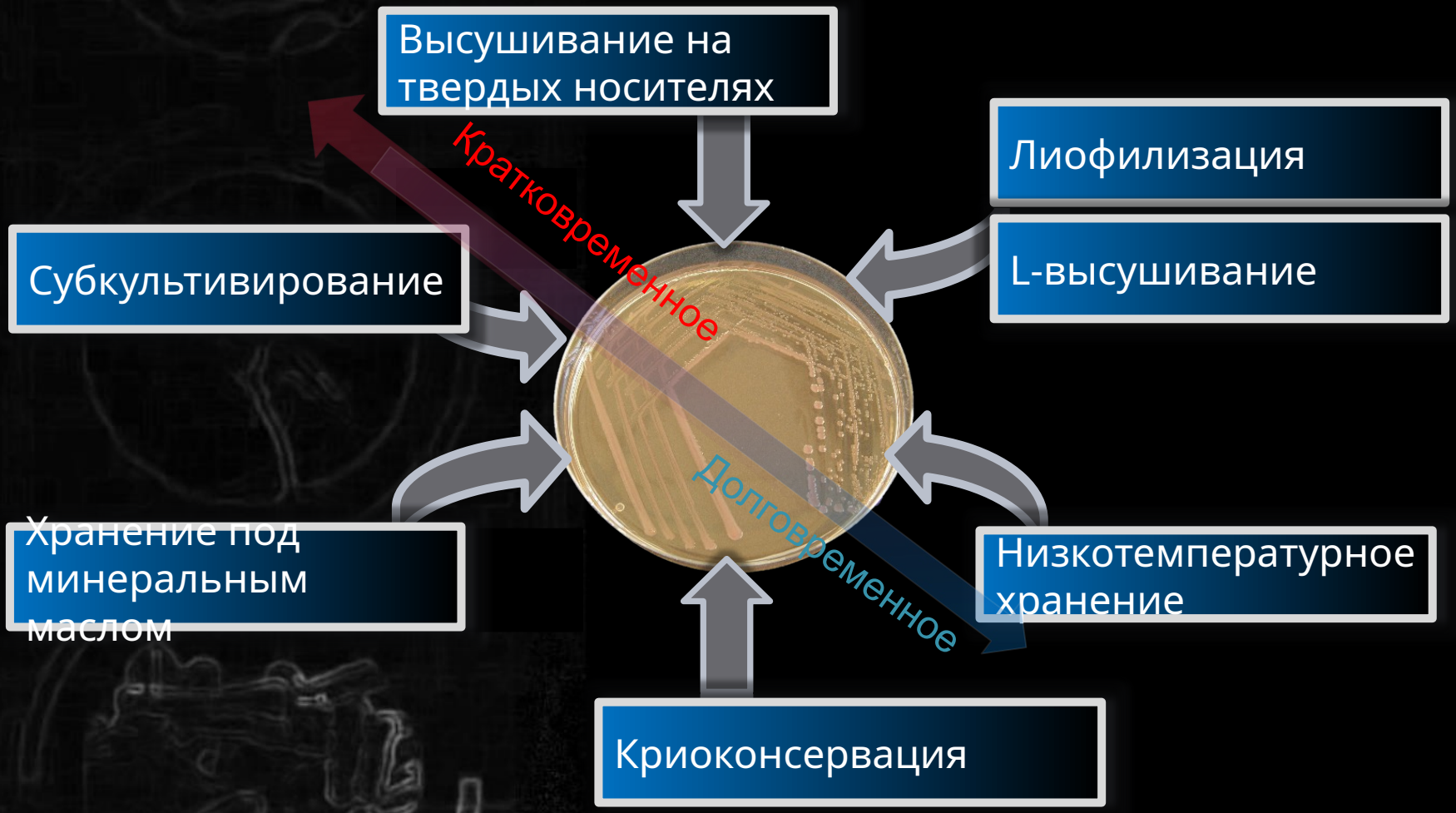
journal homepage: www.elsevier.com/locate/syapm

**Classification of a novel *Serratia* species, isolated from a wound swab in North Rhine-Westphalia: Proposal of *Serratia sarumanii* sp. nov**

Levin Joe Klages [a], Olaf Kaup [b], Tobias Busche [a,c], Jörn Kalinowski [a], Christian Rückert-Reed [a,c,*]

Неопубликованные данные, НИИАХ, 2026 г.

# Как хранить?


Высушивание на твердых носителях
Лиофилизация
Субкультивирование
L-высушивание
Кратковременное
Долговременное
Хранение под минеральным маслом
Низкотемпературное хранение
Криоконсервация

# Какой метод выбрать?

| Метод хранения | Срок хранения | Ключевой принцип | Основное преимущество | Основной недостаток |
|---|---|---|---|---|
| **Субкультивирование** | До нескольких месяцев | Периодический пересев на свежую среду | Простота | Высокий риск контаминации и изменчивости, трудоемкость |
| **Под минеральным маслом** | От 2-3 лет до 8-14 лет и более | Изоляция от кислорода, замедление метаболизма | Хорошо сохраняет свойства у многих групп | Не все бактерии подходят, есть риск загрязнения маслом |
| **Высушивание на твердых носителях** | От 2 до 5 лет, иногда дольше | Обезвоживание клеток до метаболически неактивного состояния | Простота и доступность, удобство транспортировки | Подходит не для всех видов, наиболее эффективно для спорообразующих |
| **Лиофилизация** | От 5 до 20-30 лет | Сублимационная сушка в вакууме из замороженного состояния | «Золотой стандарт» для долгосрочного хранения большинства групп | Требует дорогого оборудования, более сложный протокол |
| **Низкотемпературное хранение (-80°C)** | Более 5 лет и более | Остановка метаболизма при сверхнизких температурах | Сохраняет жизнеспособность чувствительных культур | Риск повреждения клеток кристаллами льда, затраты на оборудование |
| | | Полное | Сохранность | Очень высокая |

# Факторы, влияющие на стабильность образцов:

- скорость О/В-реакций в клетке
- фаза жизненного цикла клетки
- тип криоконсервирующего агента
- объем образца
- диапазон температур хранения
- время биоэквилибрации (скорость замораживания, скорость оттаивания)
- наличие контаминирующих агентов
- присутствие эндогенных ингибиторов

Holland, N.T., Smith, M.T., Eskenazi, B. and Bastaki, M. (2003) Biological sample collection and processing for molecular epidemiological studies. Mutat. Res. 543, 217–234

# Почему необходимо избегать многократных пассажей?

Дивергенция - процесс эволюционного расхождения признаков у организмов одного вида, приводящего к образованию новых видов или форм. Например, разные популяции одного вида животных могут постепенно приобретать различия вследствие адаптации к различным условиям среды обитания




Daniel E. Deatherage, Jamie L. Kepner, Albert F. Bennett, Richard E. Lenski & Jeffrey E. Barrick., 2017.
DOI: 10.1073/pnas.1616132114.

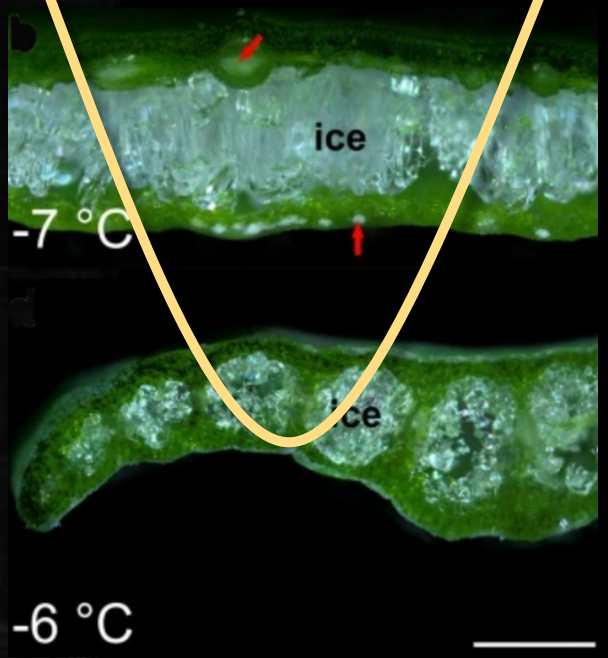
# Механизмы повреждения клеток при замораживании и оттаивании

Дегидратация

Изменение pH

Снижение текучести мембран

Перекристаллизация воды




Регидратация

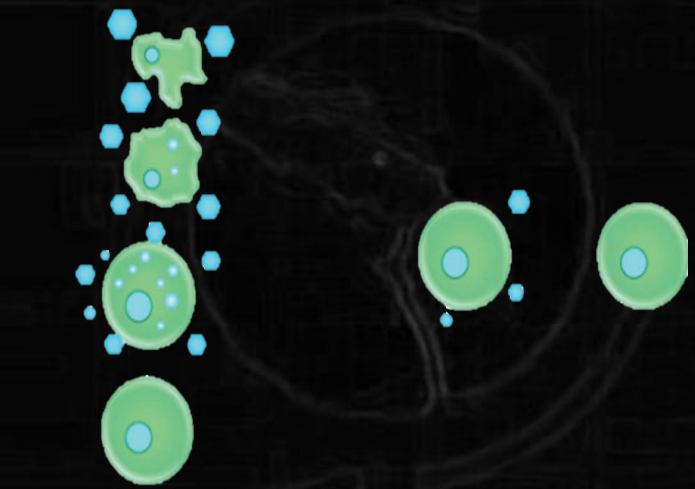
изменение осмолярности внутриклеточных жидкостей

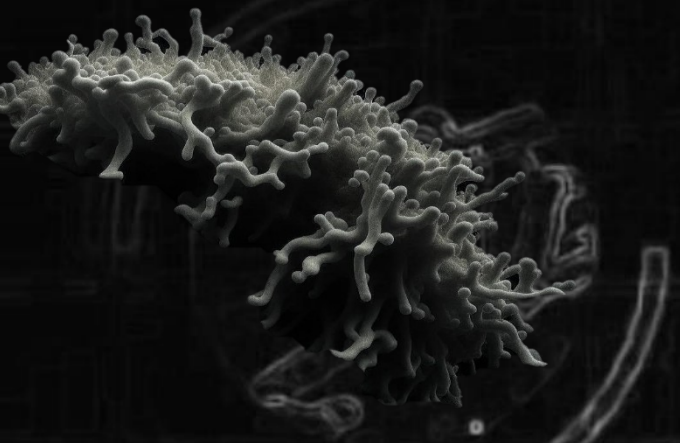
Окислительное повреждение мембран и белков

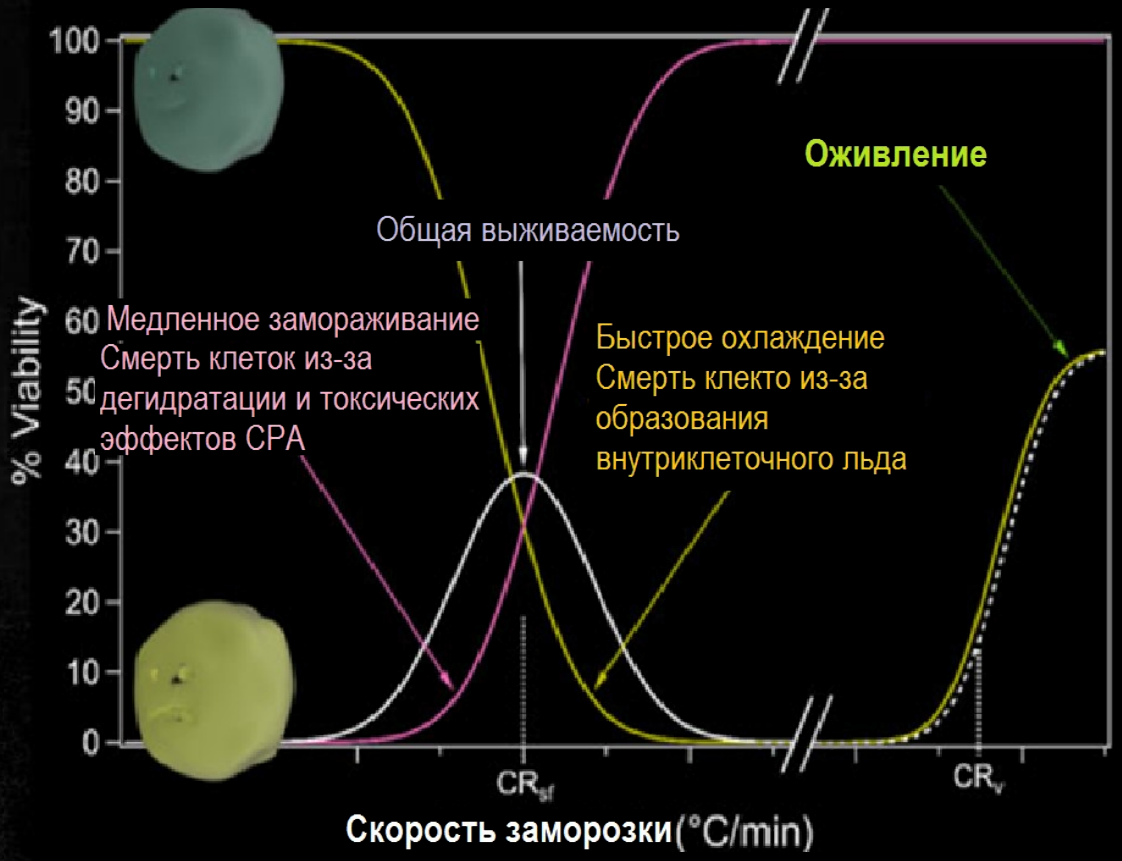
Stegner, M., Wagner, J. & Neuner, G. Ice accommodation in plant tissues pinpointed by cryo-microscopy in reflected-polarised-light. *Plant Methods* **16**, 73 (2020). https://doi.org/10.1186/s13007-020-00617-1

# Эквилибрация

это процесс приспособления клеток к низким температурам с сохранением их жизнеспособности и функциональных характеристик.








Bryant SJ, Elbourne A, Greaves TL and Bryant G (2023), Front. Soft. Matter 3:1219497. doi: 10.3389/frsfm.2023.1219497

# Что снижает риск повреждения клеток?

- **Сульфоксиды**: ДМСО 1-32% (М2%)*
- **Спирты, диолы**: метанол 2-10% (М5%), этанол 2-10% (М9%), этиленгликоль 2-45% (М10%)*, диэтиденгликоль 5-45% (М10%), полиэтиленгликоль 5-45% (М10%), полиэтиленоксид 5-15 (М10%), глицерол 5-55% (М10%), сорбитол 1-36% (М9%)
- **Сахариды и полисахариды**: глюкоза 1-18% (М4%), сахароза 1-68% (М10%), Лактоза 1-10% (М8%), трегалоза 5-19% (М10%), раффиноза 5%, декстран 5-15% (М9%), гидроксилэтилкрахмал 2,5-25% (м10%), метилцеллюлоза 1%, фикол 5-7,5% (М6%), гуммиарабик 2-10%
- **Амиды, имиды**: ацетамил 0,5-2%, диметилацетамид, диметилформамид 10%, сукцинимид 1.3%, N-метилпирролидон 2-20% (М10%), поливинилпиролидон 2-20% (М10%), глутамовая кислота* 1-5%,
- **Пептиды, протеины и гликопротеины**: сывороточный альбумин 0,1-4%, инактивированная сыворотка крови 10-20%, желатин 0,5-15% (М2%), пептоны 0,4-20% (М0,75%), АФП, муцин 5%, ионофоры (грамицидин, валиномицин)
- **Комплексные соединения**: ЭКД 0,25-5% (М0,5%), СЭ 0,5-20% (М2,5%), обезжиренное молоко 1-10% (М10%), яичный желток, ТСБ 0,5-5%, мёд* (10%),
- **ПАВ**: Твин-80, Тритон WR139, Макоциклон
- **Катионы**
- **Смеси криоконсервантов**

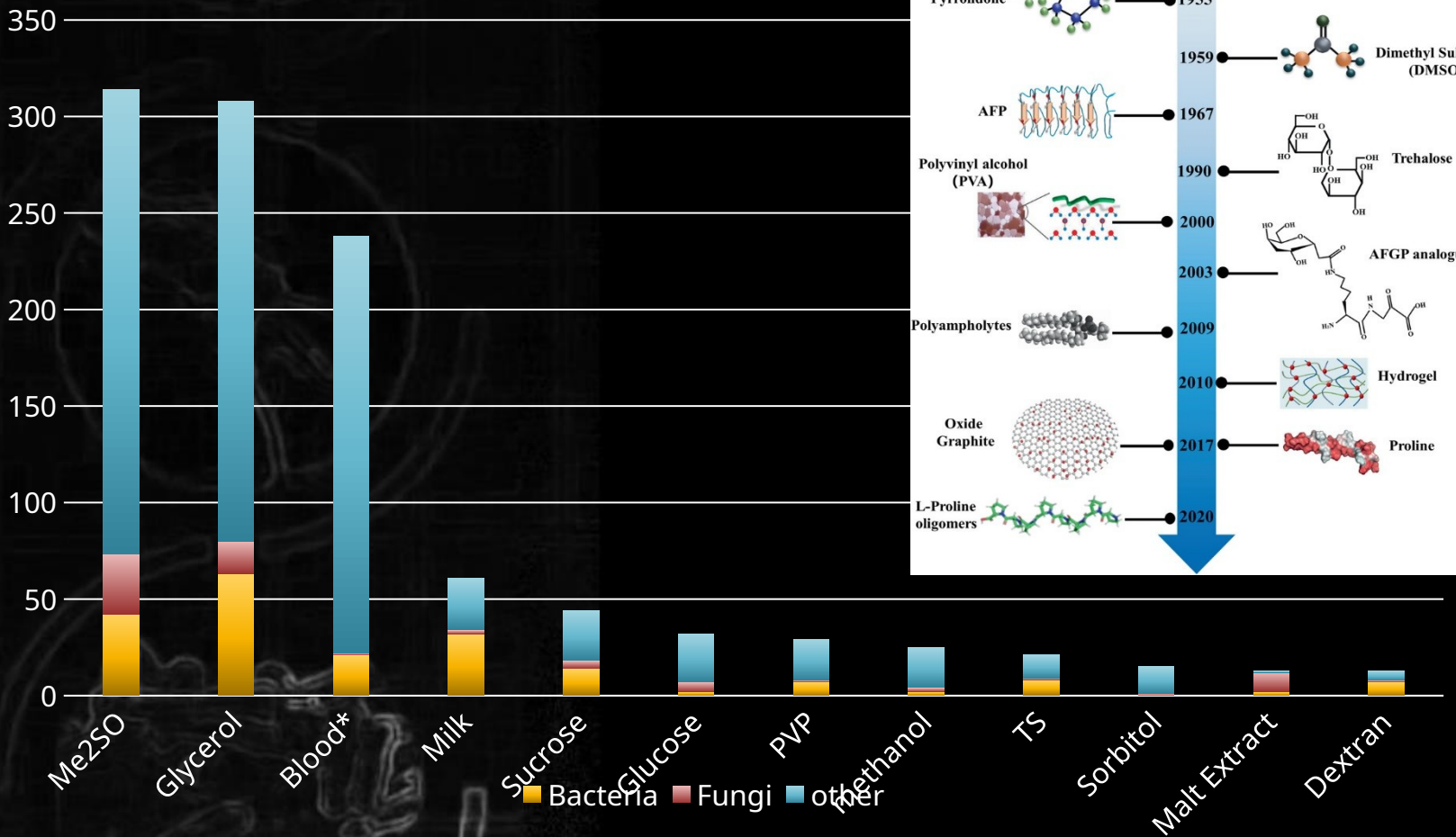
# Попарное сравнение эффективности криозащиты, определяемой по выживаемости после замораживания ПБА, с наиболее распространенными в криомикробиологии криопротекторами

| Compound | $Me_2SO$ | Met | EG | PG | PEG | Gly | Sor | Glu | Suc | Lac | Tre | Dex | HES | PVP | Serum | Milk |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $Me_2SO$ | | 6/5 | 6/2 | 0/3 | 2/1 | 45/14 | 4/0 | 6/0 | 10/1 | 2/0 | 2/0 | 3/1 | 2/2 | 13/7 | 1/1 | 2/0 |
| Methanol | | | NC | 0/1 | 1/0 | 6/4 | NC | 3/1 | 3/1 | 1/0 | 1/0 | NC | 1/0 | 4/1 | NC | NC |
| EG | | | | 2/1 | 0/1 | 4/5 | 1/1 | 3/1 | 2/1 | NC | NC | 1/0 | NC | 1/0 | NC | 1/0 |
| PG | | | | | NC | 1/1 | 1/0 | 1/0 | 1/0 | NC | NC | 1/0 | NC | 1/0 | NC | NC |
| PEG | | | | | | 1/3 | 0/1 | NC | NC | 1/0 | 1/0 | NC | 1/0 | 1/0 | NC | NC |
| Glycerol | | | | | | | 2/0 | 5/2 | 6/5 | 2/1 | 3/1 | 6/0 | 2/2 | 9/7 | 3/1 | 3/0 |
| Sorbitol | | | | | | | | 1/1 | 1/1 | NC | NC | 1/1 | NC | 1/1 | NC | 1/0 |
| Glucose | | | | | | | | | 2/2 | NC | NC | 2/1 | NC | 1/2 | NC | 1/0 |
| Sucrose | | | | | | | | | | 1/1 | 1/2 | 2/1 | NC | 1/2 | 0/3 | 1/2 |
| Lactose | | | | | | | | | | | 1/0 | NC | NC | 0/1 | 0/1 | 0/2 |
| Trehalose | | | | | | | | | | | | NC | NC | 0/1 | NC | NC |
| Dextran | | | | | | | | | | | | | NC | 0/1 | 0/1 | NC |
| HES | | | | | | | | | | | | | | 0/2 | 0/1 | NC |
| PVP | | | | | | | | | | | | | | | 0/1 | NC |
| Serum | | | | | | | | | | | | | | | | 1/1 |
| Overall score (%) | 74 | 64 | 52 | 79 | 50 | 47 | 37 | 31 | 32 | 21 | 23 | 18 | 31 | 43 | 67 | 33 |


Available online at www.sciencedirect.com
SCIENCE DIRECT®
ACADEMIC PRESS
CRYOBIOLOGY
Cryobiology 46 (2003) 205–229
www.elsevier.com/locate/ycryo
Review
Protectants used in the cryopreservation of microorganisms☆
Zdenek Hubálek*
Medical Zoology Laboratory, Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences, Kláštení 2, CZ-69142 Valtice, Czech Republic
Received 7 October 2002; accepted 7 May 2003

Z. Hubalek / Cryobiology 46(2003) 205–229

# Наиболее часто используемые криоконсерванты








Chang, T., Zhao, G., Ice Inhibition for Cryopreservation: Materials, Strategies, and Challenges. *Adv. Sci.* 2021, 8, 2002425. https://doi.org/10.1002/advs.202002425

Murray, K.A., Gibson, M.I. Chemical approaches to cryopreservation. *Nat Rev Chem* **6**, 579–593 (2022). https://doi.org/10.1038/s41570-022-00407-4

# Проблемные для хранения микроорганизмы

| Вид | криоконсервант | DOI |
|---|---|---|
| *Neisseria gonorrheae* | ТСБ+глицерин | https://doi.org/10.1128/jcm.34.5.1143-1146.1996 |
| *Helicobacter pylori* | Сыворотка + глицерин | 10.1136/jcp.45.8.735 |
| *Haemophilus influenzae* | Сыворотка + глицерин | https://doi.org/10.1590/S0074-02762001000400022 |
| Chlamidiae | Сыворотка плода теленка | https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1993.tb02804.x |
| Mycoplasmas | альбумин | https://doi.org/10.1099/00222615-31-3-203 |

# Как выбрать нужный криоконсервант?

- Читать
- Экспериментировать
- Сравнивать

characteristics for penetrating CPAs. Hydrogen donor and acceptor groups obviously play a significant role in the potential of a substance to protect organisms against freeze–thaw damage. However, it is very difficult or sometimes impossible at present to predict the actual activity that a specific CPA will have because the exact nature of the cryoinjury and its prevention is often unknown. Therefore the best CPA and its optimum concentration for a particular cryosensitive microorganism still has to be determined empirically, by trial-and-error. $Me_2SO$ (10%) might be generally regarded as the most universal CPA, although other cryoadditives can sometimes yield better results in certain microorganisms. Combinations of CPAs might be beneficial for fastidious organisms.



*…в настоящее время очень трудно…предсказать реальную активность того или иного вещества.*
*.. поскольку точная природа криоповреждения и его предотвращения зачастую неизвестна. Поэтому лучший CPA и его оптимальную концентрацию для конкретного микроорганизма все еще приходится определять эмпирическим путем, методом проб и ошибок.*

Z.Hubálek, Protectants used in the cryopreservation of microorganisms, Cryobiology, Volume 46, Issue 3, 2003, P205-229,
https://doi.org/10.1016/S0011-2240(03)00046-4.

# Выбор объема образца м/о для криоконсервации

Небольшие аликвоты для однократного использования



**4 x 0,3-0,5 мл**

**Рекомендуется для:**

- Кровь и ее компоненты
- НК
- Моча
- Штаммы м/о и тд.



Объем для многократного использования



**2,0 мл**
**(объем среды 1,4-1,6 мл)**

- ✓ **Причины выбора объема:**
- ✓ **Стремление к повышению теплоемкости образца**
- ✓ **Возможность многократного обращения к исходному стоку без его полного размораживания**
- ✓ **Удешевление стоимости хранения**
- ✓ **Избежание риска разрушения пробирки**
- ✓ **Предотвращение контаминации вследствие «выдавливания» образца**

https://cell.brc.riken.jp/en/cryotubes

# Хранение на бусинах

Applied Microbiology, Apr. 1972, p. 837–838 Vol. 23, No. 4
Copyright © 1972 American Society for Microbiology Printed in U.S.A.

## Simplified Storage and Retrieval of Stock Cultures

JANICE G. NAGEL AND LAWRENCE J. KUNZ

*Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, and Francis Blake Bacteriology Laboratories, The Massachusetts General Hospital, Boston, Massachusetts 02114*

Received for publication 31 January 1971

Multiple replicate units of stock cultures of certain bacteria and yeasts can be prepared, stored, and retrieved for use with a minimum of effort. The method involves the coating of sterile glass beads with a mixture of equal parts of broth culture and horse blood, and storage of the coated beads in a single, labeled, plastic tube in a mechanical freezer.




- Простота протокола
- Экономия ресурса (1 бусина, 1 аликвота)
- Безопасность
- Защита культуры (высоко адгезивные бусины)
- Коммерческий готовый криоконсервант

**«За»**

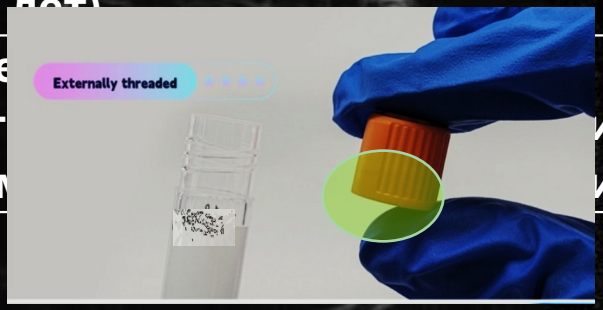
- **Зависимость от начальной концентрации клеток**
- **Потенциальное повреждение как самих бусин, так и клеток**
- **Неодинаковая эффективность для разных видов микроорганизмов**
- **Риск перекрёстного загрязнения**

**«Против»**

Anura et al. , 2023. doi: 10.4102/ajlm.v12i1.2172
Bus A et al. J Assist Reprod Genet. 2018 Jul;35(7):1187-1199. doi: 10.1007/s10815-018-1208-

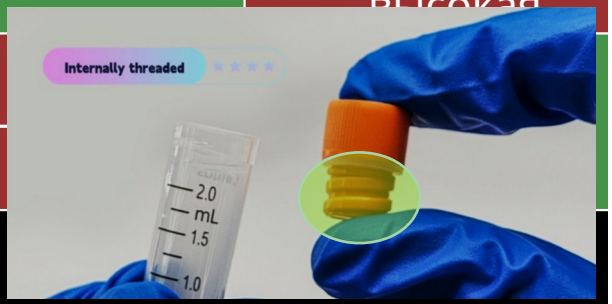
# Какой формат пробирок выбрать?

| Параметр | Внешняя резьба (External thread) | Внутренняя резьба (Internal thread) |
|---|---|---|
| **Риск контаминации** | Низкий. | Высокий. |
| **Герметичность при циклировании (-80°C → +37°C)** | Высокая. | Средняя. |
| **Риск самопроизвольного откручивания (back-off)** | Низкий. | Высокий. |
| **Удобство работы в толстых перчатках (криоперчатках, -80°C)** | Удобно. | Неудобно. |
| **Плотность хранения (количество пробирок в стандартном боксе 133×133 мм)** | Ниже на ~15-20%. | Выше. |
| **Механическая прочность (сколы, трещины при замерзании)** | Выше. | Ниже. |
| **Подсыхание образца (потеря объёма за 1-5 лет)** | Минимальная.. | Умеренная/ высокая |
| **Совме робот (авто** | Средн | и) |












# Лиофилизация

«За»

## Подготовка материала

- Продукт или вещество предварительно обрабатывают (например, фильтруют, стерилизуют, концентрируют).
- Добавляют криопротекторы (если необходимо) для сохранения структуры при замораживании.

## Заморозка

- Материал охлаждают до температуры ниже его эвтектической точки (обычно от **-30°C до -80°C**).
- Скорость заморозки влияет на размер кристаллов льда: медленная заморозка образует крупные кристаллы, быстрая — мелкие (важно для сохранения структуры).

## Первичная сушка (собственно сублимация)

- В вакуумной камере давление снижают (обычно **0,1–0,6 мбар**), и лед возгоняется.
- Температура постепенно повышается, но остается ниже точки плавления.
- Удаляется **~90–95% влаги**.
- Длительность: от нескольких часов до суток.

## Вторичная сушка (десорбция)

- Оставшаяся связанная влага удаляется за счет повышения температуры (до **+20°C–+50°C**) при низком давлении.
- Влажность продукта снижается до **1–4%**.
- Конечный продукт становится пористым и легким.

## Финальный этап

- Вакуум снимают, камеру заполняют инертным газом (азот, аргон) для предотвращения впитывания влаги.
- Продукт герметично упаковывают (например, под вакуумом или в атмосфере инертного газа).

«ПРОТИВ»

Wolkers, W.F., Tablin, F., and Crowe, J.H. (2002) From anhydrobiosis to freeze–drying of eukaryotic cells. Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr.

# Что рекомендуют международные рекомендации?

- Безопасность персонала и среды достигается путем исключения прямого контакта руки оператора с областью фиксации крышки.[2]
- Такая конструкция снижает вероятность аварийных ситуаций, таких как проливы, разбрызгивание и проникновение влаги внутрь контейнера.[2]
- Наружняя резьба защищает соединительный элемент от контакта с поверхностью стола или перчаток, что снижает риск передачи инфекций.[1]
- ✓ Герметичная конструкция надежно удерживает среду, защищая образец от деградации и перекрестного заражения.[1]
- Благодаря лучшей теплоизоляции и герметичности, внутреннее расположение резьбы продлевает срок службы пробирок и обеспечивает минимальное испарение водяного пара.[3]
- Конструкционные особенности делают пробирки менее уязвимыми к появлению микротрещин и разрушений по сравнению с внутренней резьбой[3]

1. World Health Organization (WHO). BioRisk Management Manual for Handling Biological Materials. Geneva, Switzerland, 2019
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Washington DC, USA, 2020.
3. International Society for Laboratory Diagnostics (ISLD). Technical Guideline for the Safe Transport and Long-Term Storage of

# Что хранить?

- Известное происхождение изолята (откуда, когда и т.п.)
- Чистая культура!
- Высокая жизнеспособность (фиксация фенотипа)
- Надежная ID (MALDI-ToF, секвенирование)
- Формализированная дополнительная информация по изоляту
- Паспорт культуры

Дублирование описательной части!



ГОСТ Р ИСО 24088-1-2024 — «Требования к сбору, обработке, хранению и транспортированию микроорганизмов.



# Правовые аспекты формирования микробных биобанков

# Регламентирующие документы

Федеральный закон «О биологической безопасности в российской федерации» (в ред. Федеральных законов от 14.11.2023 N 537-ФЗ, от 12.12.2023 N 582-фз,от 23.07.2025 n 261-фз).

Постановление Правительства РФ от 30 сентября 2021 г. N 1668 "Об утверждении Правил создания, пополнения, ведения и использования коллекций патогенных микроорганизмов и вирусов, а также Правил создания и ведения национального каталога коллекционных штаммов патогенных микроорганизмов и вирусов" (с изменениями и дополнениями)
Настоящее постановление вступает в силу с 1 июля 2022 г.

Санитарные правила и нормы СанПиН 3.3686-21.

"Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней«.

# Правовые аспекты биобанкирования в КЗ и РФ

| Аспект | Казахстан | Россия |
|---|---|---|
| **Структура законодательства** | **Кодифицированное.** Ключевые нормы заложены в едином Кодексе «О здоровье народа и системе здравоохранения», что упрощает правоприменение и обеспечивает системный подход. | **Фрагментированное.** Отсутствует единый кодифицированный акт. Регулирование рассредоточено по отдельным законам, приказам и стандартам. Исследователи отмечают «фрагментарность» и «отсутствие комплексного правового регулирования». |
| **Специализированный закон** | **Нет отдельного закона о биобанкировании**, но его роль выполняет Кодекс о здоровье и сопутствующие подзаконные акты. | **Принят специальный закон** № 428-ФЗ «О биоресурсных центрах и биологических (биоресурсных) коллекциях» в 2024 году, что является попыткой систематизации в этой области. |
| **Основной регулятор** | **Централизованный.** Создание биобанка требует **положительного заключения Центральной комиссии по биоэтике**. Это единый разрешительный и надзорный орган. | **Распределенный.** Роль Минздрава важна (приказ № 842н), но значительная часть регулирования уходит в плоскость национальных стандартов (ГОСТ Р), которые носят более рекомендательный характер, и внутренних протоколов учреждений. |
| | Регулируются в рамках **Закона «О** | Микробиологические образцы |

# В соответствии с документом «Постановление Правительства РФ от 30 сентября 2021 г. N 1668» коллекции патогенов могут быть:

## Государственные коллекции

- Государственные коллекции патогенов создаются в организациях, подведомственных федеральному органу исполнительной власти, имеющих лицензию на осуществление деятельности в области использования возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных (за исключением случая, если указанная деятельность осуществляется в медицинских целях) и генно-инженерно-модифицированных организмов III и IV степеней потенциальной опасности

## Исследовательские коллекции

- Исследовательские коллекции патогенов создаются и ведутся в структурных подразделениях организаций, имеющих лицензию и осуществляющих научную, научно-исследовательскую и (или) научно-техническую деятельность в целях выполнения научно-исследовательских, опытно-конструкторских и (или) технологических работ.

## Рабочие коллекции патогенов

- Рабочие коллекции патогенов создаются для обеспечения деятельности организации, имеющей лицензию, и предназначены для решения конкретных текущих задач по выполнению научно-исследовательских, опытно-конструкторских и (или) технологических или производственных работ.

# Требования к помещениям

| Аспект | Казахстан | Россия |
|---|---|---|
| **Специализированный стандарт** | Отсутствует. Требования содержатся в общих Правилах. | **ГОСТ Р ИСО 24088-1-2024**, который прямо устанавливает требования к помещениям микробных биобанков. |
| **Зонирование** | Четких требований к обязательному зонированию помещений в общих правилах не прописано. | Стандарт требует **выделять специальные зоны** для различных видов деятельности: приобретение, подготовка сред, стерилизация, инкубация, культивирование, хранение, утилизация. |
| **Инженерные решения** | Указывается необходимость поддержания температурно-влажностного режима. | Инженерно-конструкторские решения должны соответствовать целям биобезопасности, например, **использование отрицательного давления** для предотвращения распространения опасных аэрозолей. |
| **Боксы биобезопасности** | Прямых требований нет. | Микробный биобанк **должен использовать боксы биологической безопасности** с соответствующей вентиляцией для защиты персонала и окружающей среды. |
| | Требования медицинских | Помимо этого, стандарт требует разработки плана защиты от случайных и |

**Санитарные правила и нормы СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней"**

(с изменениями на 25 мая 2022 года)

## I. Область применения

1. Настоящие санитарные правила и нормы (далее - Санитарные правила) разработаны с целью предупреждения возникновения и распространения инфекционных болезней среди населения Российской Федерации.

2. Санитарные правила устанавливают обязательные требования:

к комплексу организационных, профилактических, в том числе лечебно-профилактических, санитарно-противоэпидемических, лабораторно-диагностических мероприятий, направленных на обеспечение раннего выявления, предупреждения возникновения и распространения инфекционных болезней среди населения Российской Федерации;

к организационным, санитарно-противоэпидемическим (профилактическим), инженерно-техническим мероприятиям, направленным на обеспечение личной и общественной безопасности, защиту окружающей среды при работе с микроорганизмами, вирусами, белковоподобными инфекционными частицами (прионами), ядами биологического происхождения (токсинами) и иными биологическими агентами, в том числе созданными в результате генетических манипуляций, применения технологий синтетической биологии и другой направленной деятельности, способных вызывать патологический процесс в организме человека или животного, а также биологические материалы, в которых могут содержаться перечисленные патогены (далее - ПБА):

к порядку учета, хранения, передачи и транспортирования ПБА, а также объектов и материалов, содержащих или подозрительных на содержание ПБА.

# Требования СанПин 3-3686-21 по размещению помещений для хранения микроорганизмов

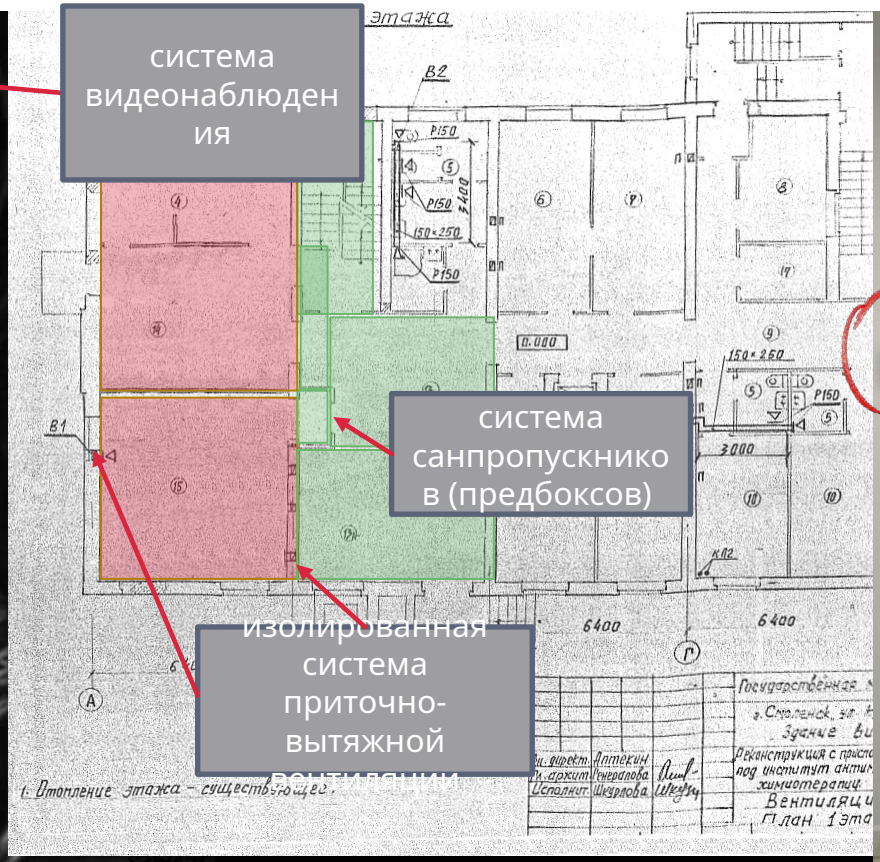
493. Хранение ПБА I-IV групп осуществляется в соответствии с требованиями безопасных условий работы с ПБА I-IV групп и обеспечения физической защиты[22] и Санитарных правил.

[22] Федеральный закон от 06.03.2006 N 35-ФЗ "О противодействии терроризму" (Собрание законодательства Российской Федерации, 2006, N 11, ст.1146; 2020, N 50, ст.8074); Федеральный закон от 30.03.1999 N 52-ФЗ "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения".

494. Хранение ПБА I-IV групп осуществляют в специально определенном помещении "заразной" зоны. Допускается хранение ПБА I-IV групп в "чистой" зоне, на этапах их транспортирования из одного учреждения в другое в упаковке, соответствующей категории опасности ПБА.



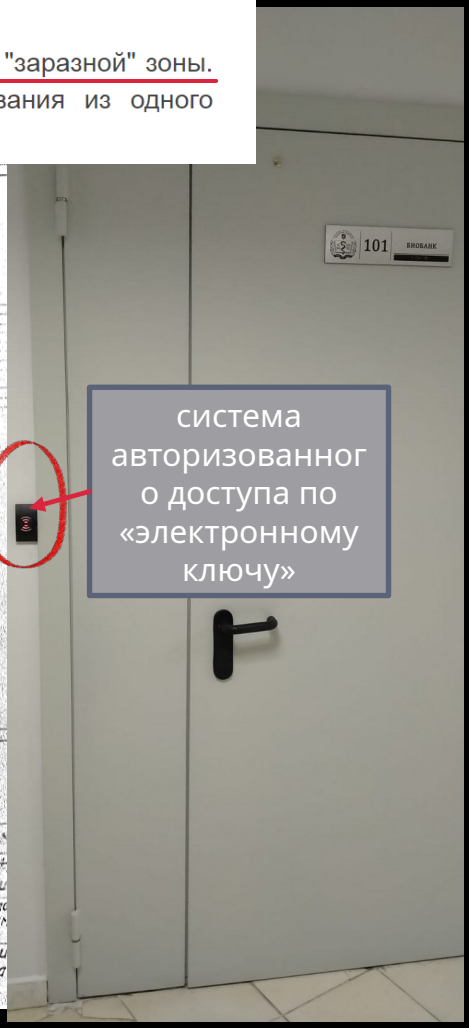
антивандальная система защиты от механических воздействий



система видеонаблюдения

система санпропускников (предбоксов)

изолированная система приточно-вытяжной вентиляции



система авторизованного доступа по «электронному ключу»

**Требования к порядку учета ПБА I-IV групп в организациях, осуществляющих деятельность, связанную с использованием ПБА I-IV групп**

484. Во всех подразделениях организации, осуществляющих работы с использованием ПБА I-IV групп, должен быть обеспечен учет их наличия, количества и передвижения (рекомендуемые образцы приведены в таблицах 1-4, 8, 10-14 приложения 7 к Санитарным правилам).

485. Подразделения, осуществляющие коллекционную деятельность ПБА I-IV групп (далее - коллекции), должны обеспечить учет наличия, количества и передвижения ПБА I-IV групп (рекомендуемые образцы приведены в таблицах 1-14 приложения 7 к Санитарным правилам).

486. Все штаммы, находящиеся на хранении в коллекциях патогенных микроорганизмов, подлежат паспортизации в электронном виде и на бумажном носителе (таблица 18 приложения 7).

487. В коллекции организации каждому коллекционному штамму присваивается инвентарный номер. Инвентарный номер присваивается штамму в порядке его поступления в коллекцию и регистрируется в журнале, с указанием особого обозначения при его наличии (рекомендуемый образец приведен в таблице 5 приложение 7).

| Аспект | Казахстан | Россия |
|---|---|---|
| **Специфическое оборудование** | Детальный перечень оборудования в общих правилах отсутствует. | ГОСТ Р ИСО 24088-1-2024 содержит раздел, посвященный оборудованию для микробного биобанкинга, включая требования к инкубаторам (термостатам), калибровке и т.д.. |
| **Управление данными** | Требуется ведение электронной базы данных и учет образцов. | Информационная система должна соответствовать **ИСО 20387:2018** и **ИСО 21710:2020**, что предполагает более строгие требования к прослеживаемости и минимальному набору данных |

## Требования к порядку учета ПБА I-IV групп
## связанную с испо

484. Во всех подразделениях организации, о
должен быть обеспечен учет их наличия, количес
в таблицах 1-4, 8, 10-14 приложения 7 к Санитарн

485. Подразделения, осуществляющие ко
коллекции), должны обеспечить учет наличия, ко
образцы приведены в таблицах 1-14 приложения

486. Все штаммы, находящиеся на хранени
паспортизации в электронном виде и на бумажном

487. В коллекции организации каждому колл
Инвентарный номер присваивается штамму в по
журнале, с указанием особого обозначения при ег
приложение 7).

| Таблица 18. Паспорт штамма |
|---|
| Наименование ведомства |
| Наименование учреждения |
| Наименование подразделения (отдела, отделения, лаборатории) |
| 1. Инвентарный номер штамма в коллекции организации |
| 1.1. Наименование штамм (род, вид) в латинской транскрипции |
| 1.2. Подвид, тип, субтип, генотип, серотип |
| 2. Особое обозначение штамма, присвоенное коллекцией |
| 3. Выделен (год, месяц, число): |
| 4. Объект выделения |
| 5. Место выделения |
| 6. Способ выделения |
| 7. Кем выделен |
| 8. Кем подтвержден |
| 9. Характеристика штамма: |
| 9.1. Морфология клеток при выделении |
| 9.2. Культуральные свойства |
| 9.3. Биохимическая активность |
| 9.4. Молекулярно-генетические характеристики штамма |
| 9.4.1. Данные о первичной структуре генома и (или) отдельных генов (ссылки на базы данных или другие источники, где хранится информация о последовательностях) |
| 9.4.2. Данные о плазмидном составе |
| 9.4.3. Данные об имеющихся характеристиках белкового состава, в том числе белковых спектрах (ссылки на базы данных или другие источники информации) |
| 9.4.4. Другие имеющиеся данные |
| 9.5. Отношение к фагам |
| 9.6. Серологические свойства |
| 9.7. Вирулентность |
| 9.8. Чувствительность к противобактериальным (антибиотикам) и противовирусным препаратам |
| 9.9. Другие свойства |
| 10. Среда хранения |
| <*> Наименования пунктов в Паспорте штамма могут различаться в отношении бактерий, вирусов, грибов, простейших. |

## Требования к порядку учета ПБА I-IV групп
## связанную с испо

484. Во всех подразделениях организации, о
должен быть обеспечен учет их наличия, количес
в таблицах 1-4, 8, 10-14 приложения 7 к Санитарн

485. Подразделения, осуществляющие ко

| Таблица 18. Паспорт штамма |
|---|
| Наименование ведомства |
| Наименование учреждения |
| Наименование подразделения (отдела, отделения, лаборатории) |
| 1. Инвентарный номер штамма в коллекции организации |
| 1.1. Наименование штамм (род, вид) в латинской транскрипции |
| 1.2. Подвид, тип, субтип, генотип, серотип |
| 2. Особое обозначение штамма, присвоенное коллекцией |
| 3. Выделен (год, месяц, число): |

**Таблица 5. Инвентарный журнал коллекционных патогенных биологических агентов**

Таблица 5

Инвентарный журнал
коллекционных патогенных биологических агентов

| **Наименование ведомства** | Хранить 3 года |
|---|---|
| Наименование учреждения | До: |
| | Начат: |
| Наименование подразделения (отдела, отделения, лаборатории, временного формирования) | Окончен: |
| | **(день, месяц, год)** |

| **N п/п** | **Инвентарный номер штамма в данной коллекции** | **Наименование штамма (род, вид) в латинской транскрипции** | **Особое обозначение штамма** | **Подвид, тип, генотип, серотип, иные идентификационные характеристики** | **Источник выделения** | **Метод выделения** | **Дата выделения** | **Место выделения** | **Кем выделен** | **Откуда поступил <*>** | **Дата поступления <*>** | **Судьба ПБА** | **Примечание** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** | **11** | **12** | **13** | **14** |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |

<*> Если штамм поступил из другой коллекции, в графе 11 указать наименование коллекции (организации), откуда поступил штамм, и инвентарный номер штамма, присвоенный этой другой коллекцией.

**Требования к порядку учета ПБА I-IV групп**
**связанную с испо**

484. Во всех подразделениях организации, о
должен быть обеспечен учет их наличия, количес
в таблицах 1-4, 8, 10-14 приложения 7 к Сани

485. Подразделения, осуществляю

**Таблица 5. Инвентарный журнал коллекционных патоген**

Инвентарный журнал
коллекционных патогенных биологических

| | |
|---|---|
| **Наименование ведомст** | |
| Наименование учреждения | |
| | |
| Наименование подразделения (отдела, отделения | |
| | |

| N п/п | Инвентарный номер штамма в данной коллекции | Наименование штамма (род, вид) в латинской транскрипции | С об | | | ание |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

<*> Если штамм поступил коллекцией.

Таблица 18. Паспорт штамма

| |
|---|
| Наименование ведомства |
| Наименование учреждения |
| Наименование по тдела, отделения, лаборатории) |
| 1. Инвентарный н коллекции организации |
| 1.1. Наименован й транскрипции |
| 1. ти |
| ей |



# Требования СанПин 3-3686-21 по хранению ПБА

Порядок формирования рабочих коллекций штаммов, период использования или временного хранения ПБА I-IV групп в составе рабочих коллекций штаммов определяется руководителем подразделения и утверждается приказом руководителя организации.

496. Качественный и количественный состав штаммов рабочей коллекции должен отвечать задачам, решаемым в подразделении, соответствовать необходимым требованиям нормативно-методической документации, регламентирующей использование ПБА в деятельности подразделения и не превышать допустимых пределов, установленных лицензией на работу с ПБА и санитарно-эпидемиологическим заключением.

Учет ПБА I-IV групп, находящихся в рабочих коллекциях штаммов и числящихся за конкретным сотрудником, осуществляется в соответствии с таблицей 8 приложения 7.

497. Хранение ПБА I-IV групп в "заразной" зоне должно осуществляться в холодильнике, морозильнике, металлическом шкафу (сейфе) раздельно по группам, в первичных герметичных емкостях, помещенных в прочные вторичные тары с плотно закрывающимися крышками. Вторичные тары опечатывают, снаружи или внутри их помещают список с перечнем и количеством хранящихся первичных емкостей с ПБА.

498. Допускается в лабораториях, проводящих диагностические исследования и работающих только с III-IV группой патогенности, вместо опечатывания вторичной тары использовать холодильники, морозильники, металлические шкафы (сейфы), оснащенные запирающими устройствами.

500. Первичные емкости с ПБА I-IV групп, находящиеся на хранении, должны иметь четкие, несмываемые надписи или прочно наклеенные этикетки с обозначением наименования ПБА (для микроорганизмов - видовое название, а также при наличии - особое обозначение штамма и инвентарный номер ПБА в коллекции организации), даты лиофилизации (пересева).

Микроорганизмы I-IV групп патогенности и культуры клеток в Государственных коллекциях могут храниться в лиофилизированном или замороженном состоянии, на плотных или жидких питательных средах, а также в виде суспензий органов или тканей в консерванте в лиофилизированном при температуре плюс 2°С - плюс 6°С или замороженном состоянии (при температуре от минус 18°С до минус 20°С, от минус 60 С минус 80°С, от минус 132°С до минус 155°С).

505. Хранение штаммов в криохранилищах осуществляют в соответствии со специально разработанными руководителем подразделения и утвержденную руководителем организации, осуществляющим данную форму хранения ПБА, инструкциями, утвержденными руководителем организации, обеспечивающими безопасные условия хранения.

506. Хранилища опечатывают, снаружи или внутри их помещают список с перечнем и количеством хранящихся первичных емкостей с ПБА.

| НИИ АНТИМИКРОБНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ГБОУ ВПО СГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ | | |
|---|---|---|
| **Вид документа** | **Стандартная операционная процедура (СОП)** | |
| | Версия | 2 |
| | Запись в Едином реестре документации лаборатории | СОП-АР-А08-2016 |
| | Экземпляр | 1 |
| | Общее количество страниц | 11 |
| | Введена в действие | 01.09.2021 |
| | Срок действия | 2 года |
| **Название документа** | **Методы хранения микроорганизмов в лаборатории** | |

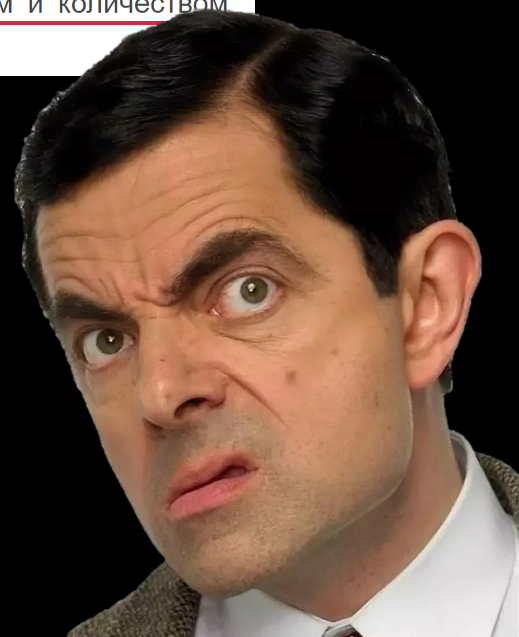
500. Первичные емкости с ПБА I-IV групп, находящиеся на хранении, должны иметь четкие, несмываемые надписи или прочно наклеенные этикетки с обозначением наименования ПБА (для микроорганизмов - видовое название, а также при наличии - особое обозначение штамма и инвентарный номер ПБА в коллекции организации), даты лиофилизации (пересева).

Микроорганизмы I-IV групп патогенности и культуры клеток в Государственных коллекциях могут храниться в лиофилизированном или замороженном состоянии, на плотных или жидких питательных средах, а также в виде суспензий органов или тканей в консерванте в лиофилизированном при температуре плюс 2°С - плюс 6°С или замороженном состоянии (при температуре от минус 18°С до минус 20°С, от минус 60 С минус 80°С, от минус 132°С до минус 155°С).

505. Хранение штаммов в криохранилищах осуществляют в соответствии со специально разработанными руководителем подразделения и утвержденную руководителем организации, осуществляющим данную форму хранения ПБА, инструкциями, утвержденными руководителем организации, обеспечивающими безопасные условия хранения.

506. Хранилища опечатывают, снаружи или внутри их помещают список с перечнем и количеством хранящихся первичных емкостей с ПБА.

| НИИ АНТИМИКРОБНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ГБОУ ВПО СГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ | | |
|---|---|---|
| **Вид документа** | **Стандартная операционная процедура (СОП)** | |
| НИИАХ | Версия | 2 |
| | Запись в Едином реестре документации лаборатории | СОП-АР-А08-2016 |
| | Экземпляр | 1 |
| | Общее количество страниц | 11 |
| | Введена в действие | 01.09.2021 |
| | Срок действия | 2 года |
| **Название документа** | **Методы хранения микроорганизмов в лаборатории** | |



# Личный опыт

