

Г.Г.Онищенко<sup>1</sup>, В.В.Кутырев<sup>2</sup>, А.В.Топорков<sup>2</sup>, А.В.Осин<sup>2</sup>**СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ КОЛЛЕКЦИОННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ,  
СВЯЗАННОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ  
I–II ГРУПП ПАТОГЕННОСТИ**<sup>1</sup>Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва;<sup>2</sup>ФГУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

В обзоре представлена нормативно-правовая база, регламентирующая коллекционную деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности. Рассмотрены приоритетные направления деятельности, которые должны быть реализованы ведущими коллекциями патогенных микроорганизмов. Предложены перспективные подходы к совершенствованию работы коллекционных центров, требующие решения на современном организационно-правовом, техническом и научно-методическом уровне.

*Ключевые слова:* коллекции патогенных микроорганизмов, штаммы микроорганизмов, технологии хранения, таксономия, молекулярная биология, паспортизация штаммов, каталоги микроорганизмов.

Коллекционная деятельность направлена на сохранение и рациональное использование биологического разнообразия микроорганизмов – возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных. Целью коллекционной деятельности является централизованный сбор и хранение входящих в коллекционный фонд биологических ресурсов с гарантией их воспроизводства и неизменности – природных, генетически модифицированных штаммов микроорганизмов I–IV групп патогенности, непатогенных штаммов с фрагментами генома I–II групп патогенности (опасности), а также штаммов микроорганизмов, используемых в биотехнологическом производстве медицинских иммунобиологических препаратов.

Действующая в настоящее время нормативно-правовая база, регламентирующая работу коллекций патогенных микроорганизмов, включает в себя законодательные акты как национального, так и международного значения. На международном уровне коллекционная деятельность в отношении микроорганизмов регулируется Будапештским договором от 28.04.1977 г. о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры (Российская Федерация (правопреемник СССР) участница договора с 22.04.1981), в котором заложены основные принципы депонирования штаммов микроорганизмов в авторизированных коллекциях для целей патентной процедуры, а также Конвенцией о биологическом разнообразии от 05.06.1992, (ратифицирована Российской Федерацией 17.02.1995 года), направленной на сохранение биологического разнообразия, устойчивое использование его компонентов и совместное получение на справедливой и равной основе выгод, связанных с использованием генетических ресурсов, в том числе путем предоставления необходимого доступа к генетическим ресурсам и путем надлежащей передачи соответствующих технологий с учетом всех прав на такие ресурсы и технологии, а также путем должного финансирования.

В Российской Федерации коллекционная деятельность, связанная с использованием патогенных для человека микроорганизмов, осуществляется в соответствии с действующей нормативно-правовой базой.

Общие положения, связанные с правом на осуществление коллекционной деятельности, регулируются: Федеральным законом Российской Федерации «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 30 марта 1999 г. № 52-ФЗ; Постановлениями Правительства Российской Федерации «О мерах по сохранению и рациональному использованию коллекций микроорганизмов, культивируемых клеток высших растений, перевиваемых соматических клеток позвоночных» от 24.06.1996 г. № 725-47 и «О разграничении полномочий федеральных органов исполнительной власти в области обеспечения биологической и химической безопасности Российской Федерации от 16 мая 2005 г. № 303 (с изменениями от 23 марта 2006 г. и 13 марта 2008 г.).

Биологическая безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности регламентирована Федеральным законом Российской Федерации «О лицензировании отдельных видов деятельности» от 8 августа 2001 г. № 128-ФЗ; Постановлением Правительства Российской Федерации «Об утверждении Положения о лицензировании деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных заболеваний» от 22 января 2007 г. № 31, а также Санитарными правилами «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)» (СП 1.3.1285-03) и «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности и гельминтами» (СП 1.3.2518-09).

Обращение штаммов микроорганизмов I–IV групп патогенности, их хранение и передача на территории Российской Федерации и за ее пределы осуществляется согласно Федеральному закону Российской Федерации «Об экспортном контроле»

от 19 июля 1999 г. № 183-ФЗ; Указу Президента Российской Федерации «Об утверждении списка микроорганизмов, токсинов, оборудования и технологий, подлежащих экспортному контролю» от 20 августа 2007 г. № 1083; Постановлению Правительства Российской Федерации «О внесении изменений в постановление Правительства Российской Федерации» от 29 августа 2001 г. № 634 «Об утверждении Положения об осуществлении контроля за внешнеэкономической деятельностью в отношении возбудителей заболеваний (патогенов) человека, животных и растений, генетически измененных микроорганизмов, токсинов, оборудования и технологий» от 11 сентября 2007 г. № 580, а также Санитарным правилам «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности» (СП 1.2.036-95).

Защита интеллектуальной собственности в области использования патогенных микроорганизмов регулируется Федеральным законом Российской Федерации «О введении в действие части четвертой Гражданского кодекса Российской Федерации» (раздел VII. Права на результаты интеллектуальной деятельности и средства индивидуализации) от 18 декабря 2006 г. № 231-ФЗ.

Таким образом, в Российской Федерации существует обширная нормативно-правовая база, регламентирующая коллекционную деятельность, связанную с использованием патогенных микроорганизмов, тем не менее необходимо ее дальнейшее совершенствование. Совершенствование должно быть направлено на формирование единых подходов к ранжированию коллекций микроорганизмов, созданию единых алгоритмов их функционирования и направлений деятельности, принятию мер по государственной поддержке ведущих коллекционных центров микроорганизмов.

Формирование коллекций микроорганизмов является важнейшим этапом в развитии микробиологии. Впервые «живая» коллекция культур была создана Франтишеком Кралом в 1890 г. на медицинском факультете Института гигиены в Праге. Эта частная коллекция содержала несколько сотен культур и препаратов, фиксированных на предметных стеклах, большая часть которых после смерти Краля была вывезена в США и впоследствии включена в Американскую коллекцию типовых культур [29]. Другие коллекции, созданные в эти же годы в различных странах Европы отдельными лицами или научными организациями, а также коллекция, созданная в Японии в 1884 г. [34], на сегодняшний день утрачены. В 1920 г. в Великобритании была основана Национальная коллекция типовых культур (NCTC), в состав которой вошли более 5000 бактериальных штаммов. Созданная в США пятью годами позже Американская коллекция типовых культур (ATCC) считается в настоящее время крупнейшим в мире биоресурсным центром по хранению и изучению микроорганизмов. Коллекция располагает 18000 бак-

териальных штаммов, принадлежащих к 750 родам. В ATCC хранится более 3600 типовых штаммов, составляющих основу для изучения систематики бактерий. Формирование микробных коллекций в России началось в 30-е годы прошлого века, а пик их организации приходится на 50–60-е годы, когда были образованы в общей сложности 36 коллекций [7]. Одними из первых коллекций патогенных микроорганизмов бактериальной природы с официально закрепленным статусом (приказ Минздрава СССР № 205/а от 30 апреля 1955 г.) являются коллекции патогенных микроорганизмов I–II групп патогенности в Российском научно-исследовательском противочумном институте «Микроб» и III–IV групп патогенности при Государственном институте стандартизации и контроля им. Л.А.Тарасевича. Согласно этому приказу официальный статус коллекций получили музеи живых культур Института эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалея, Института вирусологии им. Д.И.Ивановского, Иркутского противочумного института и ряда других учреждений. В настоящее время в Российской Федерации наиболее значимые коллекции микроорганизмов I–II групп патогенности находятся в подведомственных учреждениях Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Российской академии наук, Российской академии медицинских наук, Министерства обороны Российской Федерации, Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, Российской академии сельскохозяйственных наук.

В последнее время значение коллекции микроорганизмов расширяется, переходя от функций простых хранилищ штаммов возбудителей инфекционных болезней к формированию центров («государственных коллекций»), обеспечивающих хранение, комплексное изучение с помощью современных методов и использование коллекционных штаммов.

В связи с этим основными задачами таких центров являются:

- поддержание, пополнение и учет коллекционного фонда патогенных микроорганизмов и их стандартных образцов;
- осуществление номенклатурной ревизии штаммов коллекции на основе традиционных и современных молекулярно-генетических методов исследования;
- проведение таксономических исследований, направленных на выявление и комплексный анализ новых видов и новых патогенных штаммов, сформировавшихся внутри вида;
- уточнение таксономического положения культур с атипичным фено- и генотипом;
- совершенствование методов консервации, разработка и внедрение новых технологий, направленных на сохранение коллекционных штаммов в жизнеспособном исходном состоянии;
- обеспечение научных, практических учреждений и производств микробиологического профи-

ля качественными образцами эталонных штаммов микроорганизмов, полностью соответствующих заявляемым свойствам;

- осуществление деятельности в качестве национального органа по депонированию микроорганизмов; проведение процедуры патентного и авторского депонирования штаммов микроорганизмов;

- ведение баз данных и каталогов коллекционных штаммов;

- консультативная и научно-методическая помощь по вопросам систематики и номенклатуры, поиску штаммов.

Важная роль в осуществлении коллекционной деятельности отводится проведению микробиологической, молекулярно-генетической и эпидемиологической паспортизации природных и генетически измененных коллекционных штаммов микроорганизмов, а также формированию панелей типовых и референтных штаммов микроорганизмов для научно-исследовательских работ, производственных работ микробиологического профиля и учебного процесса.

Одной из основных целей микробиологической коллекции является формирование и поддержание фонда культур в условиях, исключающих их утрату, морфологические изменения, изменение или утрату биохимических, серологических и токсических свойств, или изменение чувствительности к антибиотикам [4, 31]. В связи с этим любые, включаемые в коллекцию штаммы, должны неизменно содержаться в тех же условиях, в которых они были изначально выделены в виде чистой культуры, а для этих целей необходимо использование современных методов, позволяющих сохранять микроорганизмы в неизменном виде. Поддержание бактериальных культур методом постоянного пересева способствует накоплению генетических мутаций и, как следствие, изменению свойств бактериальной клетки. Кроме того, с увеличением коллекционного фонда процесс постоянных пересевов становится трудоемким. Для предотвращения накопления мутационных изменений в геноме бактериальных штаммов разработан ряд методов стабилизации свойств и длительного хранения коллекционных микроорганизмов: лиофилизация, хранение при низких температурах и криоконсервация.

Метод лиофилизации заключается в высушивании культур под вакуумом при низких температурах (-20, -50 °С). Лيوфилизированные культуры могут сохраняться в течение длительного времени (30 и более лет), если их хранить без доступа кислорода, влаги и света при пониженных температурах. Лيوфилизация обеспечивает для широкого круга микроорганизмов большую стабильность, по сравнению с обычными способами высушивания и периодических пересевов. Использование этого подхода имеет преимущество перед иными способами консервации еще и в том, что позволяет хранить большое число ампул каждой культуры, увеличивая тем самым сохранность коллекционного фонда, а также удобный, не

требующий дополнительных затрат, способ транспортировки штаммов микроорганизмов [10].

Другим вариантом длительного сохранения жизнеспособных клеток микроорганизмов является хранение при низких температурах. Многие микроорганизмы могут храниться при температуре ниже -60 °С с сохранением высокого содержания жизнеспособных клеток в течение многих лет. Преимущества данного метода консервации состоят в его простоте и удобстве, минимуме подготовительной работы, быстром извлечении хранимого материала для восстановления после замораживания, большей безопасности при возможном размораживании материала. При использовании этого метода консервации довольно редки генетические изменения, а культуры микроорганизмов, сохраняемые таким методом, оказываются менее поврежденными и имеют более высокий уровень жизнеспособности, чем при высушивании и лиофилизации. В то же время надежность метода низкотемпературной консервации связана с безотказной работой холодильников и требует постоянного энергопитания [13].

Известен также способ длительного хранения биоматериала в жидком азоте – криоконсервация. Криоконсервация предназначена для длительного сохранения биологических объектов. При хранении материала в температурном режиме -196 °С удается получить высокий уровень жизнеспособных клеток, титр которых при длительном хранении в жидком азоте сохраняется на исходном уровне, что делает практически неограниченным возможное время хранения. Определенную сложность представляет подбор условий такого хранения, поскольку универсальных способов криоконсервации не существует. Тем не менее, к настоящему времени отработаны режимы криоконсервации для целого ряда видов и штаммов микроорганизмов [23]. Несмотря на все описанные выше преимущества, данный способ хранения микроорганизмов не стал доминирующим, поскольку для консервации большого числа коллекционных штаммов требуется организация автоматизированного криогенного хранилища и выделение отдельного помещения для его установки, кроме того, стоимость доставки хранившегося таким способом материала до сторонних организаций выше, чем у лиофилизированных культур.

В настоящее время основным регламентированным методом консервации патогенных бактерий является лиофильное высушивание [3]. Однако в последние годы разработан широкий спектр современного высокотехнологичного оборудования для сохранения в неизменном виде штаммов микроорганизмов. В связи с этим для стандартизации и унификации методов консервации патогенных микроорганизмов требуется создание регламента и единых правил хранения штаммов возбудителей инфекционных заболеваний в Государственных коллекциях Российской Федерации.

Одним из важнейших аспектов коллекционной

деятельности, связанной с пополнением, хранением и изучением микроорганизмов, является составление каталогов поддерживаемых штаммов. В Российской Федерации работы в этом направлении велись в Институте биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН – Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ). Часть каталогов ВКМ 2003 была представлена в формате XML (от англ. Extensible Markup Language) [22].

В рамках государственной программы «Биоразнообразие» (1999–2001 гг.) был подготовлен в электронном виде объединенный каталог Российских коллекций немедицинского профиля. Базовой организацией по выполнению данного проекта была Всероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ ИБФМ РАН), а в качестве соисполнителей выступали 17 российских коллекций, в том числе и Государственная коллекция патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». Окончательный вариант электронной версии Объединенного каталога (Consolidated Catalogue of Microbial Cultures Held in Russian Non-medical Collections. CD version, release 1.0 (Fall 2002) был размещен в Интернете на Web-сайте ВКМ [22], в формате электронной книги MS eReader в 5 томах на английском языке [21]. Из иностранных каталогов, находящихся в открытом доступе, наиболее детально представлены каталоги Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ) и NCTC, расположенные в сети Интернет [16, 18].

Однако форма этих каталогов удобна лишь с точки зрения поиска микроорганизмов по номеру штамма, но не позволяет подбирать их по интересующим характеристикам. Создание полноценной базы данных как инструмента для проведения многофакторного анализа коллекционных штаммов является одной из приоритетных задач коллекционной деятельности.

Разработки по созданию такой базы данных микроорганизмов велась в Институте микробиологии РАН. Созданная база данных UNIQEM (UNIQue and Extremophilic Microorganisms) позволяла накапливать и поддерживать списочную информацию о широком спектре микроорганизмов – каталожная БД, а также осуществлять сбор, обработку и публикацию самой разнообразной информации по этим микроорганизмам и их характеристикам – БД свойств. При этом UNIQEM была изначально ориентирована на сбор любой микробиологической информации. В результате проведенной работы, авторами был создан программный комплекс, реализующий возможности хранения, обработки и опубликования информации о 1000 и более штаммов, характеризующихся не более чем по 1000 групп монофункциональных свойств; хранения связанной графической информации; хранения текстовой информации, включающей состав сред, секвенсы, текстовые описания штаммов [1]. В литературе отсутствуют сведения по разработкам баз данных подобной структуры, направленных на ката-

логизацию патогенных микроорганизмов, что указывает на высокую актуальность и приоритетность разработок, ведущихся в этом направлении.

Другим не менее важным направлением коллекционной деятельности является установление принадлежности штаммов к той или иной таксономической группе. Традиционно такие исследования проводятся с использованием культурально-морфологических, физиологических и серологических методов. Тем не менее, с развитием приборной базы большое значение приобретают методики, связанные с изучением генома коллекционных штаммов. Для определения генетических детерминант вирулентности и патогенности, видоспецифичных маркеров широкое применение получила полимеразная цепная реакция (ПЦР) [5].

В настоящее время имеется широкий спектр молекулярно-генетических методов, позволяющих проводить типирование возбудителей инфекционных заболеваний с целью уточнения их таксономической принадлежности и определения происхождения. При этом полностью универсального подхода к молекулярному типированию всех возбудителей особо опасных инфекций не существует. Кроме того, использование одного методического приема связано с риском получения недостоверных результатов. Поэтому требуется разработка комплексного алгоритма молекулярного типирования для каждого из возбудителей особо опасных инфекций, который включал бы не менее 2–3 методов, дополняющих друг друга. Наиболее перспективными подходами для типирования возбудителей чумы, холеры, туляремии, бруцеллеза, сапа и мелиоидоза являются мультилокусное секвенирование (MLST – от англ. Multi Locus Sequence Typing), риботипирование, мультилокусный VNTR анализ (MLVA – от англ. Multiple Loci VNTR Analysis) [9, 11, 12, 14, 24, 25, 26, 27, 30, 32]. Для микроорганизмов, изучаемых с помощью MLST и MLVA, созданы базы данных <http://www.mlst.net/> и <http://minisatellites.u-psud.fr/MLVAnet/>, соответственно. Также для создания геномных «портретов» штаммов *V. cholerae* хорошо зарекомендовал себя метод риботипирования. Этот подход представляет собой вариант полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и основан на анализе генов рибосомальной РНК, обладает хорошей воспроизводимостью и простотой обработки результатов. С его помощью можно дифференцировать штаммы холерных вибрионов, сформировавшиеся на различных эндемичных по холере территориях [28, 35]. Одним из примеров практического применения молекулярного типирования является расследование источника случаев «почтового» терроризма в США в 2001 г. Изучение молекулярно-генетических свойств (в частности, метод MLVA) используемого для этих целей штамма и сравнение полученных характеристик с соответствующими характеристиками набора коллекционных штаммов возбудителя сибирской язвы позволило установить название штамма, источник и автора распылки сибирезвонных спор [33].

Применение систем молекулярного типирования для определения таксономического положения коллекционных штаммов используется в ряде зарубежных коллекций. В коллекции АТСС для определения аутентичности штаммов используется комплекс методов, включающий в себя классические микробиологические подходы и генотипирование, основанное на секвенировании генов и рибопринтинге [20]. В Национальной коллекции типовых культур (NCTC) применяют методы изоферментного анализа, ДНК фингерпринтинга и микросателлитного генотипирования, основанного на ПЦР [19]. Для идентификации бактериальных штаммов и их принадлежности к таксономическим группам в Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ) используют секвенирование 16S рДНК, рибопринтинг, VNTR-анализ и ДНК-ДНК гибридизацию [15]. В Российской Федерации молекулярно-генетические методы идентификации и филогенетического родства штаммов проводят в таких коллекциях немецкого профиля, как Всероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ) и Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов (ВКПМ) [17, 22]. Для патогенных микроорганизмов, в частности возбудителей I–II групп патогенности, решение этого вопроса пока остается открытым.

Таким образом, одной из важных задач в изучении таксономии патогенных бактерий является выработка единого алгоритма применения молекулярно-генетических методов исследования и создание баз данных, позволяющих анализировать полученные сведения. Реализация этого направления в деятельности коллекционных центров необходима как для уточнения таксономического положения коллекционных штаммов, так и для выявления происхождения и путей распространения возбудителей инфекционных болезней как в случае эпидемических вспышек, так и при актах биотерроризма. Кроме того, необходимо разработать документацию, нормативно закрепляющую комплексные подходы в изучении возбудителей инфекционных заболеваний, для их стандартизации и унификации в коллекциях патогенных микроорганизмов.

Приказом Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека «О мерах по совершенствованию мониторинга за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней» от 17.03.2008 г. № 88 регламентировано создание Национальных центров верификации диагностической деятельности и Национальных центров, осуществляющих функции государственных коллекций, на базе четырех учреждений Роспотребнадзора: ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор», ФГУН «ГНЦ ПМБ», ФГУЗ РосНИПЧИ «Микроб» и ФГУН ГИСК им. Л.А.Тарасевича.

В настоящее время в рамках Федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности (2009–2013 гг.)» осуществляется финансирование мероприятий, направ-

ленных на укрепление материально-технической базы и изучение штаммов микроорганизмов ведущих коллекционных центров.

Принципиальной функцией коллекционных центров является комплексный подход к пополнению коллекционного фонда микроорганизмов, в основе которого лежит депонирование штаммов микроорганизмов, обеспечивающее их сохранность в жизнеспособном состоянии. Обычно различают три формы депонирования, принимаемых на хранение штаммов, включающие ряд требований: свободное хранение, когда информация о поступивших штаммах общедоступна, а их выдача осуществляется по заявкам заинтересованных лиц без получения разрешения от депозитора; гарантированное хранение, обеспечивающее сохранность информации о поступивших штаммах, и их выдача возможна только по письменному разрешению депозитора; патентное депонирование, осуществляемое в уполномоченных коллекциях, когда на депонируемый штамм планируется подать заявку на оформление патента, включающее национальное и международное патентное депонирование. Депонирование для целей патентной процедуры считается осуществленным, если штамм, линия клеток или консорциум помещены в международный орган по депонированию, предусмотренный Будапештским договором о международном признании депонирования для целей патентной процедуры [2], или в уполномоченную на их депонирование российскую коллекцию, гарантирующую поддержание жизнеспособности объекта в течение, по меньшей мере, срока действия патента и удовлетворяющую другим установленным требованиям к коллекциям, осуществляющих депонирование для целей патентной процедуры [6]. Согласно последним данным, опубликованным Федеральным институтом промышленной собственности (ФИПС), в Российской Федерации к коллекциям, уполномоченным осуществлять депонирование патогенных для человека микроорганизмов, относятся: Государственная коллекция патогенных бактерий при ФГУЗ РосНИПЧИ «Микроб», коллекция микроорганизмов Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» и коллекция ФГУН ГИСК им. Л.А.Тарасевича [8].

Подводя итог обзору коллекционной деятельности, связанной с использованием патогенных для человека микроорганизмов, следует отметить основные перспективные направления развития ведущих коллекций возбудителей инфекционных болезней, требующих государственной поддержки. Во-первых, это разработка и введение единого положения о коллекционной деятельности, связанной с использованием микроорганизмов I–II группы патогенности (опасности) в Российской Федерации, формирование перечня коллекций с нормативно закрепленным статусом «Государственная» и правом по осуществлению охраноспособного депонирования с целью осуществления национальной патентной процедуры. Во-вторых, создание комплексных унифицированных и нормативно

закрепленных алгоритмов анализа штаммов патогенных микроорганизмов и внедрение молекулярно-генетической паспортизации штаммов возбудителей инфекционных болезней с использованием современных методов исследований. И, наконец, модернизация материально-технической базы «Государственных» коллекций с целью совершенствования существующих методов консервации, разработки и внедрения новых технологий, направленных на сохранение коллекционных штаммов в жизнеспособном и исходном состоянии и применение современных информационных подходов каталогизации, паспортизации и учета движения патогенных штаммов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ахлынин Д.С., Гальченко В.Ф. Микробиологическая база данных UNIQEM: проблемы и перспективы. Микробиол. 2000; 69:574–80.
2. Будапештский договор о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры. Будапешт; 1977.
3. Инструкция по лиофильному высушиванию возбудителей инфекционных заболеваний I–IV групп на коллекторном аппарате системы К.Е.Долинова от 21 марта 1979 г. МЗ СССР, 1979.
4. Маркин В.А. Коллекции патогенных вирусов в решении общебиологических проблем. Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол. 2007; 6: 84–93.
5. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. М.: Медицина; 2009. 470 с.
6. О правилах составления, подачи и рассмотрения заявки на выдачу патента на изобретение: Приказ российского агентства по патентам и товарным знакам № 82 от 06.06.2003. Рос. газ. 08.10.2003; № 202. С. 8.
7. Озерская С.М., Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Запретова К.М., Еремина С.С., Князева Е.В. Состояние коллекций микроорганизмов в России. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. 2006; 2; 3:51–61.
8. Уткина Е., Гаврилова Е., Скородумова О. Депонирование штаммов микроорганизмов для целей национальной патентной процедуры и предоставления к ним доступа третьим лицам. Интеллектуальная собственность. Промышленная собственность. 2008; 10:17–23.
9. Achtman M., Morelli G., Zhu P., Wirth T., Diehl I., Kusecek B. et al. Microevolution and history of the plague bacillus, *Yersinia pestis*. PNAS. 2004; 101:17837–42.
10. Ashwood-Smith M.J. Low temperature preservation in medicine and biology. Tunbridge Wells: Pitman Medical. 1980. 323 p.
11. Farlow J., Smith K. L., Wong J., Abrams M., Lytle M., Keim P. *Francisella tularensis* strain typing using multiple-locus, variable-number tandem repeat analysis. J. Clin. Microbiol. 2001; 39:3186–92.
12. Ghosh R., Nair G.B., Tang L., Morris J.G., Sharma N.C., Ballal M. et al. Epidemiological study of *Vibrio cholerae* using variable number of tandem repeats. FEMS Microbiol. Letters. 2008; 288:196–01.
13. Gibson L.F., Houry J.T. Storage and survival of bacteria by ultra-freeze. Lett. Appl. Microbiol. 1986; 3:127–9.
14. Helgason E., Tourasse N. J., Meisal R., Caugant D. A., Kolsto A. Multilocus sequence typing scheme for bacteria of the *Bacillus cereus* group. Appl. Environ. Microbiol. 2004; 70:191–01.
15. [http://www.dsmz.de/identification/main.php?menu\\_id=2](http://www.dsmz.de/identification/main.php?menu_id=2) (методы идентификации различных культур в коллекции DSMZ).
16. [http://www.dsmz.de/microorganisms/bacteria\\_catalogue.php](http://www.dsmz.de/microorganisms/bacteria_catalogue.php) (Каталог бактериальных штаммов Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур DSMZ)
17. <http://www.genetika.ru/vkpm/index.htm> (сайт Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов)
18. <http://www.hpacultures.org.uk/products/bacteria/search.jsp> (Каталог бактериальных штаммов Национальной коллекции типовых культур NCTC)
19. <http://www.hpacultures.org.uk/services/celllineidentity-verification/celllineidentityverification.jsp> (методы идентификации и верификации микроорганизмов в коллекции NCTC).
20. <http://www.lgcstandards-atcc.org/ATCCScience/CollectionsResearchandDevelopment/Microbiology/tabid/1259/Default.aspx> (сайт ATCC, работы, проводимые в микробиологической коллекции).

21. <http://www.sevin.ru/collections/microcoll/consolidated.html> (Объединенный каталог Российских коллекций немедицинского профиля)
22. <http://www.vkm.ru> (сайт Всероссийской коллекции микроорганизмов).
23. Hubálek Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. Cryobiology. 2003; 46:205–29.
24. Keim P., Price L.B., Klevytska A.M., Smith K.L., Schupp J.M., Okinaka R. et al. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. J. Bacteriol. 2000; 182:2928–36.
25. Kingston J.J., Tuteja U., Kapil M., Murali H.S., Batra H.V. Genotyping of Indian *Yersinia pestis* strains by MLVA and repetitive DNA sequence based PCRs. Antonie van Leeuwenhoek. 2009; 96:303–12.
26. Le Flèche P., Jacques I., Grayon M., Al Dahouk S., Bouchon P., Denoed F. et al. Evaluation and selection of tandem repeat loci for a *Brucella* MLVA typing assay. BMC Microbiol. 2006; 6:1–14.
27. Mohapatra S.S., Ramachandran D., Mantri C.K., Colwell R.R., Singh D.V. Determination of relationships among non-toxicogenic *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains from housekeeping gene sequences and ribotype patterns. Res. Microbiol. 2009; 160:57–62.
28. Popovic T., Bopp C., Olsvik O., Wachsmuth K. Epidemiologic application of a standardized ribotype scheme for *Vibrio cholerae* O1. J. Clin. Microbiol. 1993; 31:2474–82.
29. Porter J.R. The role of culture collections in the era molecular biology. ATCC 50th Anniversary Symposium, American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1976:62–72.
30. Scholz H.C., Hubálek Z., Sedláček I., Vergnaud G., Tomaso H., Al Dahouk S. et al. *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2008; 58:375–82.
31. Seeliger H.P.R. The Medical Culture Collection. Impact of science on society. 1990; 158:167–74.
32. Svensson K., Larsson P., Johansson D., Bystrom M., Forsman M., Johansson A. Evolution of subspecies of *Francisella tularensis*. J. Bacteriol. 2005; 187:3903–8.
33. Traeger M.S., Wiersma S.T., Rosenstein N.E., Malecki J.M., Shepard C.W., Raghunathan P.L. et al. First case of bioterrorism-related inhalational anthrax in the United States, Palm Beach County, Florida, 2001. Emerg. Infect. Dis. 2002; 8:1029–34.
34. Tsunematsu Y. Japanese Federation of Culture Collections. Proc. Int. Conference on Culture Collections. 1970:79–83.
35. *Vibrio cholerae*: Genomics and Molecular Biology. Edited by: Faruque S.M., Nair G.B. Norfolk, UK: Caster Academic Press; 2008. 220 p.

G.G.Onishenko, V.V.Kutyrev, A.V.Toporkov, A.V.Ossin

### Current State of Collection Activity Relative to the Use of Infectious Agents of I–II Pathogenicity Groups

Federal Service of Surveillance in the Sphere of Consumer's Rights Protection and Human Welfare, Moscow;  
Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov.

Subject of present survey is the regulatory background specifying collection activity relative to the use of infectious agents of I–II pathogenicity group. Revised are the preferred activities which are to be realized by the leading collections of pathogenic microorganisms. Suggested are promising approaches for the improvement of the work of collection centers that are to be solved at the modern organizational, legal, technical and scientific-methodological level.

**Key words:** collections of pathogenic microorganisms, strains of microorganisms, storage technology, taxonomy, molecular biology, passportization of strains, catalogues of microorganisms.

#### Об авторах:

Онищенко Г.Г. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Москва.  
Кутырев В.В., Топорков А.В., Осин А.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: [microbe@san.ru](mailto:microbe@san.ru)

#### Authors:

Onishenko G.G. Federal Service for Supervision in the Sphere of Consumer's Rights Protection and Human Welfare. Moscow.  
Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Ossin A.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: [microbe@san.ru](mailto:microbe@san.ru)

Поступила 27.01.10.