

DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-16-23

УДК 616.98:579.61-069.4

И.В. Грачева, А.В. Осин, В.В. Кутырев

**ПРИНЦИПЫ ФОРМИРОВАНИЯ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ФОНДОВ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ***ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация*

**Целью** работы является рассмотрение принципов и критериев формирования фондов сервисных микробиологических коллекций и специализированной Государственной коллекции патогенных бактерий (ГКПБ) ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Быстрые темпы описания, изучения, использования микробного разнообразия делают актуальной задачу разработки критериев отбора микроорганизмов для постоянного хранения в коллекциях. Количество и форма этих критериев определяются задачами, стоящими перед коллекционными центрами разного уровня и специализации. Сервисные коллекции формируют свои фонды посредством депонирования или приобретения типовых, референтных, учебных штаммов. В последние годы признана целесообразность расширения спектра штаммов, депонирование которых желательно в сервисных коллекциях. Это штаммы, характеризующиеся филогенетической, геномной, метаболической, экологической уникальностью; с полностью секвенированным геномом; известные и новые патогены растений, животных и человека, вызвавшие вспышки заболеваний; использованные в международных исследовательских проектах; имеющие биотехнологическое и экономическое значение. Главная задача ГКПБ как специализированной государственной коллекции патогенных бактерий I–II групп состоит в сохранении штаммов, характеризующих внутривидовое разнообразие и популяции патогенов, циркулирующих в природных очагах или на определенных территориях Российской Федерации, выделенные в период эпизоотий, локальных или эпидемических вспышек. Критериями отбора штаммов для постоянного хранения являются их экологические, фенотипические, генетические особенности. Сохранение такой коллекции важно для будущих исследований с использованием новых технологий и прослеживания эволюции патогенных бактерий – возбудителей особо опасных инфекционных заболеваний.

**Ключевые слова:** коллекционные фонды, критерии депонирования, сервисные коллекции, специализированные коллекции, патогенные бактерии, типовой штамм, референтный штамм.

*Корреспондирующий автор:* Грачева Ирина Васильевна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

*Для цитирования:* Грачева И.В., Осин А.В., Кутырев В.В. Принципы формирования коллекционных фондов штаммов микроорганизмов. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; 2:16–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-16-23

*Поступила 22.12.2020. Принята к публ. 01.02.2021.*

**I.V. Gracheva, A.V. Osin, V.V. Kutyrev****Principles of Formation of Collection Funds of Microorganism Strains***Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation*

**Abstract.** The aim of the review was to consider the principles and criteria for the formation of funds of service microbiological collections and the specialized State collection of pathogenic bacteria (SCPБ) at the RusRAPI “Microbe”. The rapid pace of characterization, study, and use of microbial diversity makes the development of criteria for the selection of microorganisms for permanent storage in collections particularly relevant. The number and format of these criteria are determined by the tasks the collection centers of different levels and specialization are facing. Service collections form their funds by depositing or acquiring type, reference, educational strains. In recent years, the practicability of expanding the range of strains, the deposition of which is desirable in service collections, has been recognized. These are strains characterized by phylogenetic, genomic, metabolic, ecological uniqueness; with a fully sequenced genome; known and emerging plant, animal and human pathogens that caused disease outbreaks; used in international research projects; having biotechnological and economic significance. The main task of the SCPБ as a specialized state collection of pathogenic bacteria of groups I–II is to preserve strains characterizing the intraspecific diversity and populations of pathogens circulating in natural foci or in certain territories of the Russian Federation, isolated during epizootics, local or epidemic outbreaks. The selection criteria for strains for permanent storage are their ecological, phenotypic, and genetic peculiarities. The preservation of such a collection is important for future research using new technologies and tracking the evolution of pathogenic bacteria – causative agents of particularly dangerous infectious diseases.

**Key words:** collection funds, deposit criteria, service collections, specialized collections, pathogenic bacteria, type strain, reference strain.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

*Corresponding author:* Irina V. Gracheva, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

*Citation:* Gracheva I.V., Osin A.V., Kutyrev V.V. Principles of Formation of Collection Funds of Microorganism Strains. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; 2:16–23. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-16-23

*Received 22.12.2020. Revised Accepted 01.02.2021.*

Gracheva I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6757-6977>

Osin A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5308-0022>

Kutyrev V.V., ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

Основной задачей коллекционных центров, осуществляющих деятельность в области использования микроорганизмов, является формирование коллекционного фонда на основе включения в него штаммов, целевой состав которых определяется в зависимости от выполняемых этим центром функций.

В Международном центре данных по микроорганизмам (WDCM) на декабрь 2020 г. зарегистрировано 802 микробиологические коллекции, в которых поддерживается 3272954 штамма прокариот, из них более 1429816 штаммов бактерий и архей [1]. Общее число коллекций и поддерживаемых в них микроорганизмов значительно больше. Ежегодно культуры известных и новых видов микроорганизмов выделяют при выполнении диагностических и исследовательских работ, новые штаммы создают в лабораториях. Лишь часть выделяемых культур оставляется на постоянное хранение в коллекциях в виде штаммов. Вместе с тем только 47 крупнейших коллекций мира ежегодно включают в свои фонды около 20 тыс. новых штаммов [2].

Быстрые темпы описания и изучения микробного разнообразия делают актуальной задачу разработки критериев отбора микроорганизмов для постоянного хранения в коллекционных центрах. Критерии отбора определяются поставленными перед конкретной коллекцией задачами, интересами и запросами ее пользователей, требованиями редакций научных журналов, зависят от типа коллекции и специализации. Следование этим критериям позволяет избежать перегрузки фондов и сосредоточиться на работе по сохранению жизнеспособности и аутентичности наиболее важных и востребованных штаммов.

Функционирующие в мире коллекции очень гетерогенны. Некоторые коллекции поддерживают ограниченное количество штаммов большинства известных видов, в основном типовых, референтных, контрольных, востребованных в таксономических и других научных работах, диагностических исследованиях, учебных программах. Например, в Американской коллекции типовых культур поддерживается более 18 тыс. бактериальных штаммов, относящихся к 750 родам, из них 3600 типовых [3]. Открытый каталожный фонд крупнейшей российской сервисной коллекции – Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) – содержит более 7500 штаммов, из них более 2500 типовых [4]. Такие коллекции относят к категории сервисных или общественных. Многие коллекции этой группы в последние годы преобразованы в многофункциональные биологические ресурсные центры (БРЦ).

В специализированных коллекциях поддерживается большое количество штаммов ограниченного числа видов. Перед ними ставится задача сохранения внутривидового разнообразия определенных видов или групп микроорганизмов (бактерии, грибы), например имеющих сельскохозяйственное, медицинское, ветеринарное значение, морские, почвенные микроорганизмы.

**Целью** работы является рассмотрение принципов и критериев формирования фондов сервисных микробиологических коллекций и специализированной Государственной коллекции патогенных бактерий (ГКПБ) ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб».

Вначале хотелось бы остановиться на специфической терминологии, которая часто используется при рассмотрении классификации штаммов коллекционных фондов с точки зрения их целевого использования и назначения. Ряд этих бактериологических терминов, используемых в научной литературе, могут неоднозначно трактоваться в разных работах, что затрудняет восприятие материала, а иногда, из-за некорректных формулировок, дает ложное представление об описываемом предмете. Все это указывает на необходимость конкретизировать некоторые термины, используемые в работе, относящиеся к определению «штамм» как единице хранения в бактериологических коллекциях.

Под термином «штамм» понимают потомков чистой бактериальной культуры, выделенной из определенного объекта в определенное время [5].

Однозначное и четкое определение термина «типовой штамм» дано в Кодексе номенклатуры прокариот – своде правил по составлению, предложению и использованию научных названий видов прокариот [6]. Согласно Кодексу типовой штамм – это штамм или один из штаммов, на основании которого исследователь описал новый вид микроорганизма. Типовой штамм может не обладать типичными для вида свойствами, он является номенклатурным типом вида, т.е. элементом таксона, с которым постоянно связано название вида. Если какие-либо штаммы, первоначально включенные в один вид, в дальнейшем будут выделены в новый, то старое видовое название сохраняется за типовым штаммом и родственными ему.

Если штамм, на котором основано первоначальное описание вида, утрачен или не может быть найден, предлагается неотиповой штамм, обладающий свойствами, максимально сходными с таковыми типового штамма. Некоторые виды бактерий были описаны на основании морфологических особенностей клетки без выделения чистой культуры. Например, холерный вибрион описан F. Pacini в 1854 г. в период III пандемии холеры [7]. Только в 1965 г. Юридическая комиссия Международного комитета бактериологической номенклатуры опубликовала таксономическое мнение № 31, согласно которому штамм классического биовара *V. cholerae* NCNC 8021 Национальной коллекции типовых культур (номер штамма в Американской коллекции типовых культур ATCC 14035) обозначен в качестве неотипового вида *Vibrio cholerae* Pacini 1854 [8].

Референтный штамм – это штамм, предлагаемый в качестве образца сравнения для таксономических, диагностических или иных исследований [6]. В отечественной литературе часто встречается термин «эталонный штамм» (reference strain), которым

обозначают образец для сравнения и который является синонимом понятия «референтный».

Термином «тест-штаммы» чаще всего обозначают штаммы для оценки качества питательных сред, иногда их называют контрольными. Как и референтные, контрольные штаммы хорошо охарактеризованы по свойствам, поддерживаются в коллекциях методами долгосрочного хранения. Они используются при проведении контроля качества лабораторных исследований, включающего комплекс мероприятий, в том числе определение качества питательных сред, препаратов, подтверждение правильности лабораторных методов, интерпретации результатов исследований и других работ, требующих стандартизации.

Референтные, контрольные, тест-штаммы – это штаммы с известными свойствами, обладающие комплексом признаков, позволяющих рекомендовать их для использования в тех или иных процедурах контроля в качестве микробиологических стандартов. Несмотря на некоторые различия в трактовках, эти термины чаще всего являются взаимозаменяемыми [9]. Референтные штаммы должны быть получены из надежных источников – специализированных коллекций. Получение штамма из коллекции гарантирует, что он поддерживается адекватными методами и прошел проверку подлинности, являющуюся частью стандартных операционных процедур коллекции.

#### **Критерии депонирования штаммов микроорганизмов в общественных коллекциях и БРЦ.**

Коллекционные фонды формируются посредством обмена, покупки штаммов в других коллекциях, передачи фондов «исчезающих» коллекций, депонирования, собственных исследовательских работ. Анализ результатов анкетирования 119 сервисных коллекций, приведенный в работе T. Dedeurwaerdere, показал, что в среднем 20 % образцов, включаемых в фонд, коллекции получают из других аналогичных организаций [10]. Это в основном типовые, референтные штаммы, наиболее востребованные пользователями коллекций. По оценкам экспертов, один и тот же типовой штамм поддерживается в трех различных коллекциях [2, 10]. Согласно каталогу референтных штаммов, используемых в пищевой и санитарной микробиологии, размещенному на сайте WDCM, и другим информационным ресурсам, для референтных и некоторых типовых штаммов этот показатель существенно выше [11, 12]. Культуры одного штамма в разных коллекциях считаются эквивалентными, и коллекционный обмен позволяет исследователям разных стран использовать в таксономических, диагностических и экспериментальных работах аутентичные образцы микроорганизмов.

До 45 % включаемых в фонд штаммов собираются усилиями сотрудников коллекций, более 30 % составляют депозиты исследователей университетских, госпитальных и иных лабораторий и коллекций, связанные, как правило, с публикациями науч-

ных статей [10]. Этот материал, в основном, является уникальным и не дублируется в других коллекциях.

Таким образом, депонирование является важным источником формирования фондов сервисных коллекций. Под депонированием в данной работе мы понимаем передачу в коллекцию образцов штаммов в соответствии с установленной процедурой и сохранением авторских прав. В случае депонирования для открытого доступа (хранение) депозитор передает штамм в доверительное управление коллекции, которая получает право на его хранение, репликацию, изучение и перераспределение [13].

Все сервисные коллекции принимают на хранение типовые штаммы. В прокариотической систематике сложилась уникальная система предложения новых видов, важнейшим элементом которой является депонирование типовых штаммов в сервисных коллекциях и БРЦ. С 2001 г. депонирование типовых штаммов новых прокариотических видов в двух международно признанных общественных коллекциях или БРЦ, находящихся в разных странах и входящих во Всемирную федерацию коллекций культур, является обязательной составляющей процедуры валидации их научных названий [14, 15].

Вторая группа штаммов, депонирование которых в коллекциях обязательно, – это штаммы, необходимые для осуществления изобретений (патентное депонирование). В случае патентного депонирования обязательства коллекции по хранению, предоставлению образцов штаммов и информации о них строго регулируются патентным законодательством. Что касается критериев, предъявляемых к штаммам для патентного депонирования, то они определяются общепринятыми правилами, обязывающими коллекцию, имеющую статус национального или международного депозитария, принять на патентное депонирование любой микроорганизм, соответствующий ее профилю [16].

Для других категорий микроорганизмов депонирование не является обязательным. Исследователям лишь рекомендовано передавать в коллекции для постоянного хранения штаммы, на которых выполнены научные исследования, чтобы другие могли их подтвердить, опровергнуть, повторить или расширить с помощью новых технологий. Депонирование является наиболее надежным механизмом доступа к микроорганизмам.

В 2001 г. N. Ward *et al.* рекомендовали стандарты для научного сообщества в связи с реализацией проектов по полногеномному секвенированию микроорганизмов [17]. В частности, депозиторы полногеномных нуклеотидных последовательностей должны указывать номер штамма и коллекцию, из которой он получен. Если штамм находится в собственности депозитора, его необходимо, по аналогии с типовыми штаммами, депонировать в двух известных коллекциях со стабильным и устойчивым финансированием. Депонирование позволяет связать известные геномные последовательности с конкретным штаммом



микроорганизма.

В последние годы обсуждался вопрос о расширении спектра штаммов, депонирование которых желательно в сервисных коллекциях [18, 19]. По данным Т. Coenye и Р. Vandamme, на 2004 г. только 55,5 % бактериальных штаммов, геном которых полностью секвенирован, можно получить из коллекций [20]. Согласно исследованию Е. Stackebrandt, из 22200 штаммов прокариот, описанных в статьях восьми европейских микробиологических журналов в 2008 г., менее 1 % переданы на хранение в коллекции [18].

Публичные обсуждения сложившейся ситуации позволили прийти к соглашению, что депонирование в сервисных коллекциях всех нетиповых штаммов, описанных в научных работах, часто обладающих однотипными свойствами, нецелесообразно и коллекции не готовы к их принятию [19]. Вместе с тем большинство опрошенных микробиологов считают, что необходимо улучшить доступ к микробным ресурсам, описанным в научных публикациях, например, сделав депонирование «ключевых» штаммов частью процесса публикации статей. Кроме того, депонирование в коллекциях только типовых штаммов недостаточно для решения задачи сохранения естественного микробного разнообразия, учитывая внутривидовую гетерогенность и изменчивость микроорганизмов.

Результатом совместного обсуждения кураторами коллекций, исследователями, редакторами научных журналов данной проблемы стали критерии «ключевых» штаммов, депонирование которых в сервисных коллекциях желательно [2, 19]. Для прокариот это:

- филогенетически уникальные изоляты, сходство генов 16S rRNA которых с наиболее близкими видами  $\leq 98$  %;
- штаммы с полностью секвенированным геномом;
- штаммы, отличающиеся от типового штамма вида фенотипическими, экологическими характеристиками или размером генома;
- референтные и тест-штаммы;
- использованные в крупномасштабных международных исследованиях;
- известные патогены, вызвавшие вспышки;
- штаммы, ассоциируемые с новыми заболеваниями человека, животных, растений;
- штаммы, выделенные из новых объектов окружающей среды или из источников с экстремальными условиями;
- представители видов, для которых известен только типовой штамм.

По экспертным оценкам, около 5 тыс. штаммов из числа ежегодно выделяемых будут соответствовать хотя бы одному из вышеуказанных критериев и, соответственно, должны быть депонированы в коллекциях [2].

Среди других критериев, которым должен соот-

ветствовать депозит, коллекции указывают использование его в национальных или международных процедурах контроля, важных исследовательских проектах, биотехнологическое, экономическое значение, описание в публикациях и наличие большого объема научной информации, необходимость для текущих исследований коллекции и другие [21–23].

Перечень и количество штаммов для депонирования – это всегда предмет обсуждения депозитора и кураторов коллекции. Критерии «ключевых» штаммов полезны для определения приоритетов приобретения коллекциями новых депозитов для постоянного хранения. Критерии могут меняться в связи с расширением представлений о микробном разнообразии. Кроме того, проблемные вопросы, с которыми сталкиваются коллекции в своей работе, должны решаться в соответствии с требованиями современной биотехнологии и науки.

Сегодня микроорганизмы являются основой биотехнологических производств, и отдельные природные штаммы имеют потенциальную экономическую ценность. Эксперты считают, что потенциальные продуценты новых биологически активных соединений для разных отраслей биотехнологической промышленности могут быть выявлены среди представителей недостаточно исследованных филумов, наименее представленных в коллекциях. Чтобы стимулировать исследователей передавать в коллекцию штаммы с потенциальной коммерческой ценностью и гарантировать защиту их коммерческих и некоммерческих интересов в будущем, предлагается разделить депонирование микроорганизмов для научных целей и коммерческого использования [2]. В случае депонирования для научных целей образцы штаммов и информация о них должны быть доступны для государственных, исследовательских, коммерческих организаций без ограничений. Депонирование штаммов для коммерческих исследований может осуществляться в специализированных закрытых коллекциях с особыми условиями доступа к материалу и информации для лиц и организаций, занимающихся поиском штаммов с биотехнологическим потенциалом.

**Принципы и критерии отбора штаммов для включения в фонд Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб».** Государственная коллекция патогенных бактерий (ранее музей живых культур) относится к категории специализированных коллекций. ГКПБ создана в 1955 г. как подразделение научно-исследовательского противочумного института «Микроб» с целью сбора и сохранения природного генофонда бактерий I–II групп патогенности.

Коллекционный фонд ГКПБ формируется посредством депонирования, включения штаммов, выделенных специализированными лабораториями, проводящими на территории РФ мониторинговые исследования на наличие патогенных бактерий I–II групп, межколлекционного обмена штаммами.

ГКПБ осуществляет депонирование бактерий I–II групп патогенности по формам «авторское» и «патентное». Депонированные штаммы составляют 10–12 % (в зависимости от вида) от общего коллекционного фонда. Незначительный вклад депозитов в формирование коллекционного фонда связан с действующей в Российской Федерации нормативной базой, регулирующей обращение высокопатогенных для человека микроорганизмов и определяющей практическую деятельность коллекций, порядок взаимодействия диагностических лабораторий, коллекций и исследователей (приказ Роспотребнадзора от 01.12.2017 № 1116 «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации»). Коллекционные штаммы, первоначально охарактеризованные по диагностическим признакам, составляют материальную базу исследований в профильных лабораториях с использованием методов, не применяющихся на этапах диагностики. Даже если у коллекционного штамма в результате исследований выявлены ранее неизвестные или уникальные свойства, его депонирование в коллекции не имеет практического смысла.

Основным источником формирования коллекционного фонда ГКПБ являются культуры возбудителей чумы, холеры, туляремии, сибирской язвы, бруцеллеза, выделенные специализированными диагностическими лабораториями и поступающие в коллекцию в соответствии с вышеуказанным приказом. Несмотря на то, что внутривидовое разнообразие патогенных видов, включая бактерии I–II групп, хорошо представлено в коллекциях, задача ГКПБ как специализированной коллекции состоит в сохранении штаммов, выделенных в период зарегистрированных на территории Российской Федерации эпизоотий, вспышек, даже если в предыдущие годы были выделены аналогичные по свойствам культуры. С другой стороны, перед коллекцией не ставилась задача постоянного хранения всех выделенных культур. Необходимо сохранить минимальный, но репрезентативный набор штаммов, характеризующих популяцию патогена, вызвавшую локальную или эпидемическую вспышку, эпизоотию.

Первые критерии отбора штаммов чумного микроба и холерного вибриона для включения в коллекцию были разработаны к 1977 г. по результатам совещания работников музеев живых культур противочумной системы после вспышек холеры заносного характера в Поволжье и на Украине, в течение которых выделено несколько тысяч штаммов. На основании этих критериев сформирована основная часть коллекционного фонда. Следует отметить, что коллекционный фонд ГКПБ, как и коллекций других противочумных институтов, изначально формировался по территориальному признаку и сегодня в значительной степени представлен штаммами, выделенными на курируемых территориях.

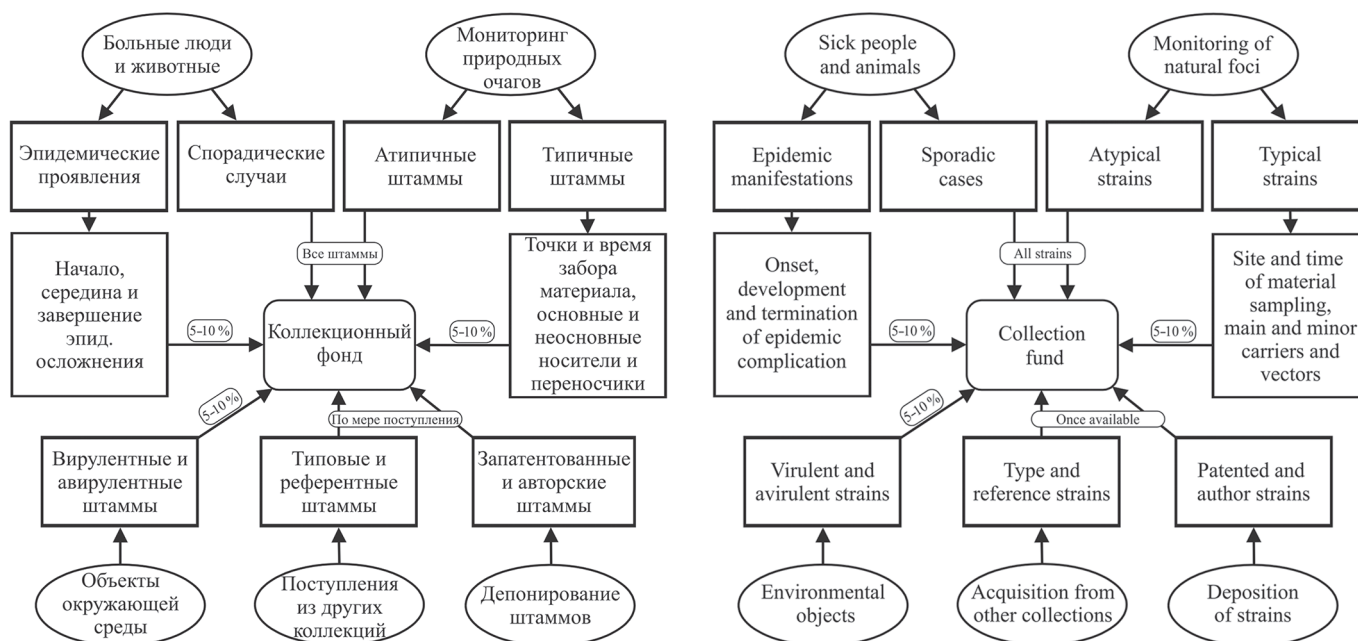
Сформулировать универсальные критерии отбо-

ра штаммов для постоянного хранения в коллекции, учитывающие все возможные ситуации, сложно. Поэтому они периодически пересматриваются при сохранении базовых позиций.

Выбор штаммов для включения в коллекционный фонд проводится на основании анализа экологических особенностей (место, время, объект выделения), фено- и генотипических диагностических свойств, внесенных в паспорт. Использование дополнительных характеристик, выходящих за рамки базовых диагностических, всегда повышает репрезентативность выборки штаммов, закладываемой на постоянное хранение. Это определяет постоянную актуальность задачи выбора уже разработанных современных методов исследования в качестве скрининговых (общих или индивидуальных для каждого вида) для отбора штаммов в коллекционный фонд. Использование дополнительных тестов особенно важно для штаммов, выделенных при плановых мониторинговых обследованиях территорий, когда циркулирующая популяция патогенного микроорганизма может быть неоднородной, в отличие от вспышек, при которых все изоляты, как правило, имеют клональное происхождение.

Общие принципы отбора штаммов для постоянного хранения в ГКПБ представлены на рисунке. Из штаммов, выделенных в период эпидемических или локальных вспышек, эпизоотий, выбирают образцы, характеризующие начало, середину и конец эпидемии или эпизоотии, выделенные из разных источников (больные, основные и неосновные носители, переносчики, окружающая среда), отличающиеся географической локализацией мест их выделения. Отбирают штаммы с типичными для данной вспышки или природного очага характеристиками и отличающиеся по свойствам от большинства штаммов. Как правило, культуры, выделенные в период одной вспышки или эпизоотии, имеют клональное происхождение. Тем не менее сохраняют несколько штаммов с разной экологической характеристикой, даже если их свойства однотипны. Использование новых технологий в будущем может выявить гетерогенность популяции, ранее считающейся однородной. Общее количество вводимых в фонд штаммов зависит от их количества и свойств, длительности вспышки. При единичных случаях заболевания людей или животных сохраняют, как правило, все выделенные штаммы.

Ежегодно на территории Российской Федерации проводят мониторинговые исследования природных очагов, объектов окружающей среды на наличие возбудителей инфекционных заболеваний I–II групп. При бактериологических исследованиях воды открытых водоемов на наличие возбудителя холеры, как правило, выделяют нетоксигенных представителей вида *Vibrio cholerae*, которые считаются естественными обитателями водных экосистем. Хотя нетоксигенные штаммы не способны вызывать типичную холеру с эпидемическим характером рас-



Алгоритм формирования коллекционного фонда Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»

Algorithm for the formation of the collection fund of the State collection of pathogenic bacteria at the RusRAPI “Microbe”

пространения, они характеризуют внутривидовое разнообразие холерных вибрионов и востребованы в научных исследованиях. При поступлении в коллекцию единичных культур с территорий с периодичным выделением представителей вида *V. cholerae* все они включаются в коллекционный фонд. В случае выделения большого количества штаммов на территориях с ежегодной изоляцией холерных вибрионов, оставляют по 3–5 штаммов, отличающихся географической локализацией, временем выделения и свойствами.

Коллекционный фонд, сформированный на основании указанных критериев, дает представление об особенностях циркуляции патогенных видов бактерий I–II групп в период вспышек, эпизоотий на определенной территории, их свойствах, а также позволяет оценить эволюционные тенденции в развитии популяций поддерживаемых видов бактерий. Анализ востребованности коллекционного фонда ГКПБ позволяет сделать вывод о правильности данного подхода. Лишь часть штаммов, характеризующих конкретную вспышку и отобранных для постоянного хранения, востребована при проведении научных или иных работ.

Как отмечено выше, ГКПБ осуществляет депонирование бактерий I–II групп патогенности по двум формам – «авторское» и «патентное». В первой редакции правил депонирования авторских штаммов в ГКПБ указано, что «депонированию подлежат штаммы или мутанты возбудителей особо опасных инфекций с выявленными новыми свойствами, имеющие научно-практическое или теоретическое значение, заслуживающие освещение в печати, но не представляющие предмет изобретения».

Критерии, предъявляемые к депозитам, и спектр включаемых в коллекцию штаммов меняются в связи с появлением новых приоритетных направлений научных исследований. Первые депонированные в коллекции штаммы были ауксотрофные мутанты, в том числе неидентифицированные, штаммы, устойчивые к антибиотикам, с разным набором собственных плазмид, фагов, донорные штаммы. В последнее десятилетие наблюдается тенденция увеличения среди депозитов доли генетически модифицированных, генно-инженерных штаммов, созданных, например, на основе коммерческих непатогенных штаммов и содержащих фрагменты генома бактерий I–II групп патогенности. Штаммы предлагаются в качестве референтных при проведении диагностических и научных исследований, для контроля диагностических препаратов, получения биологически активных продуктов или фрагментов ДНК патогенных бактерий. Культивирование таких штаммов, в том числе в технологических процессах, не требует соблюдения специальных условий работы с патогенными микроорганизмами.

ГКПБ принимает на депонирование штаммы, предлагаемые в качестве референтных, при проведении научных, диагностических, биотехнологических работ с бактериями I–II групп патогенности, указанные в методических документах федерального, регионального или учрежденческого уровня; обладающие ранее неизвестными или уникальными свойствами, выделенные из новых объектов или на территории, где ранее не было отмечено выделение возбудителя; продуценты биологически активных веществ, перспективные для использования в производстве иммунобиологических препаратов; вос-



требуемые в текущих исследованиях, полученные из зарубежных коллекций; бактериальные штаммы I–II групп патогенности, характеризующие эпидемические и эпизоотические проявления инфекций на всей территории Российской Федерации.

Таким образом, ГКПБ принимает на депонирование как природные, так и генетически модифицированные штаммы патогенных бактерий. Общее требование – отсутствие штамма в доступном фонде коллекции и полноценная характеристика на современном методическом уровне. Исключения могут быть сделаны для штаммов, предлагаемых в качестве референтных, если они указаны в методических или нормативных документах. В этом случае, даже если штамм поддерживается в коллекции, необходимо его депонирование, предоставление образцов и документальное подтверждение наличия у них необходимого набора признаков. Это, на наш взгляд, исключит вероятность распространения и использования, в первую очередь при диагностических работах, неаутентичного биологического материала.

Кроме того, ГКПБ имеет статус депозитария патогенных бактерий I–II групп для целей национальной патентной процедуры и принимает на патентное депонирование все штаммы, соответствующие профилю коллекции [24]. Депонирование штаммов в авторизованной коллекции является обязательным условием при подаче заявки на патент и регламентируется приказом Министерства экономического развития Российской Федерации от 25 мая 2016 г. № 316.

Подводя итог вышеизложенному, следует отметить, что современный подход к формированию коллекционного фонда ГКПБ ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» определяет достаточно четкую систему включения в свой состав штаммов, как по количественным, так и по качественным критериям (рисунк). Обеспечивается выполнение основной цели данного алгоритма, ориентированного на сохранение разнообразия выделяемых штаммов, в рамках специализированной деятельности ГКПБ, с формированием положительного экономического эффекта, который достигается путем экономии средств на осуществление процедуры долгосрочной консервации и хранения ограниченного числа из идентифицируемых в течение года микроорганизмов.

В микробиологии, в том числе медицинской, не ставится задача постоянного хранения в коллекционных центрах всех выделяемых культур микроорганизмов или созданных штаммов. Каждая коллекция определяет свои критерии для депозитов, которые зависят от ее специализации и решаемых задач. Сервисные коллекции формируют свой фонд посредством депонирования или покупки типовых, неотиповых, референтных, контрольных, учебных штаммов, востребованных в таксономических и других научных исследованиях, биотехнологических, диагностических работах, учебном процессе. В последние годы признана целесообразность расширения спектра штаммов для депонирования в сервис-

ных коллекциях. Предложены критерии «ключевых» штаммов для определения приоритетов при приобретении сервисными коллекциями новых депозитов.

ГКПБ при формировании коллекционного фонда решает задачу сохранения штаммов, характеризующих внутривидовое разнообразие бактерий I–II групп патогенности, бактериальные популяции возбудителей, вызвавших эпизоотические или эпидемические проявления, природные очаги или территории в определенный промежуток времени, а также необходимых для выполнения научных или прикладных работ. Создание и сохранение такой коллекции важно для будущих исследований с использованием новых технологий, а также для прослеживания эволюции патогенных бактерий – возбудителей особо опасных инфекционных болезней.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

#### Список литературы

1. Culture Collections Information Worldwide. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.wfcc.info/ccinfo> (дата обращения 02.12.2020).
2. Overmann J. Significance and future role of microbial resource centers. *Syst. Appl. Microbiol.* 2015; 38(4):258–65. DOI: 10.1016/j.syapm.2015.02.008.
3. Microbiology Collections – ATCC. [Электронный ресурс]. URL: [http://www.atcc.org/en/Products/Cells\\_and\\_Microorganisms.aspx](http://www.atcc.org/en/Products/Cells_and_Microorganisms.aspx) (дата обращения 02.12.2020).
4. Сайт Всероссийской коллекции микроорганизмов – ВКМ. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.vkm.ru/rus/> (дата обращения 02.12.2020).
5. Dijkshoorn L., Ursing B.M., Ursing J.B. Strain, clone and species: comments on three basic concepts of bacteriology. *J. Med. Microbiol.* 2000; 49(5):397–401. DOI: 10.1099/0022-1317-49-5-397.
6. Lapage S.P., Sneath P.H.A., Lessel E.F., Skerman V.B.D., Seeliger H.P.R., Clark W.A., editors. International code of nomenclature of bacteria: bacteriological code, 1990 Revision. Washington (DC): ASM Press; 1992.
7. Lippi D., Gotuzzo E. The greatest steps towards the discovery of *Vibrio cholerae*. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20(3):191–5. DOI:10.1111/1469-0691.12390.
8. Judicial Commission of the International Committee on Bacteriological Nomenclature. Opinion 31. Conservation of *Vibrio* Pacini 1854 as a bacterial generic name, conservation of *Vibrio cholerae* Pacini 1854 as the nomenclatural type species of the bacterial genus *Vibrio*, and designation of neo-type strain of *Vibrio cholerae* Pacini. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 1965; 15(3):185–6. DOI: 10.1099/00207713-15-3-185.
9. Reference strains: How many passages are too many? *Tech. Bulletin* № 6. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.atcc.org/~media/PDFs/Technical%20Bulletins/tb06.ashx> (дата обращения 02.12.2020).
10. Dedeurwaerdere T. Global microbial commons: institutional challenges for the global exchange and distribution of microorganisms in the life sciences. *Res. Microbiol.* 2010; 161(6):414–21. DOI:10.1016/j.resmic.2010.04.012.
11. Catalogue of microorganisms. German Collection of Microorganism (GCM). [Электронный ресурс]. URL: <https://www.dsmz.de/catalogues/catalogue-microorganisms.html> (дата обращения 02.12.2020).
12. Reference strain catalogue pertaining to organisms for performance testing culture media. 29th version. [Электронный ресурс]. URL: [http://refs.wdcm.org/pdf/WDCM%20Catalogue%20Version\\_V29.pdf](http://refs.wdcm.org/pdf/WDCM%20Catalogue%20Version_V29.pdf) (дата обращения 02.12.2020).
13. Tindall B.J., Garrity G.M. Proposals to clarify how type strains are deposited and made available to the scientific community for the purpose of systematic research. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2008; 58:1987–90. DOI: 10.1099/ijs.0.2008/006155-0.
14. De Vos P., Truper H.G. Judicial Commission of the International Committee on Systematic Bacteriology. IXth International (IUMS) Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Minutes of the meetings, 14, 15 and 18 August 1999, Sydney, Australia. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2000; 50(6):2239–44. DOI: 10.1099/00207713-50-6-2239.

15. Tindall B.J., Kampfer P., Euzéby J.P., Oren A. Valid publication of names of prokaryotes according to the rules of nomenclature: past history and current practice. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2006; 56(Pt 11):2715–20. DOI: 10.1099/ijs.0.64780-0.

16. Будапештский договор: практический кодекс для международных органов по депонированию. *Микробиология.* 1999; 68(3):423–30.

17. Ward N., Eisen, J., Fraser C., Stackebrandt E. Sequenced strains must be saved from extinction. *Nature.* 2001; 414(6860):148. DOI: 10.1038/35102737.

18. Stackebrandt E. Deposition of microbial strains in public resource centres: safeguarding valuable resources for academic and applied research. *Res. Microbiol.* 2012; 163(8):487–9. DOI: org/10.1016/j.resmic.2012.07.003.

19. Stackebrandt E., Smith D., Casaregola S., Varese G.C., Verkleij G., Lima N., Bridge P. Deposit of microbial strains in public service collections as part of the publication process to underpin good practice in science. *SpringerPlus.* 2014; 3:208. DOI: 10.1186/2193-1801-3-208.

20. Coenye T., Vandamme P. Bacterial whole-genome sequences: minimal information and strain availability. *Microbiology (Reading).* 2004; 150(Pt 7):2017–8. DOI: 10.1099/mic.0.27307-0.

21. Accession criteria of the CBS for new deposits of microorganisms. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.cabri.org/guidelines/micro-organisms/M200Ap22.html> (дата обращения 02.12.2020).

22. Accession criteria of the DSMZ for new deposits of microorganisms. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.cabri.org/guidelines/micro-organisms/M200Ap23.html> (дата обращения 02.12.2020).

23. BCCM Accession criteria for new deposits of microorganisms. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.cabri.org/guidelines/micro-organisms/M200Ap21.html> (дата обращения 02.12.2020).

24. Уткина Е.А., Гаврилова Е.Б. Депонирование микроорганизмов для целей национальной патентной процедуры. *Патенты и лицензии.* 2011; 2:34–9.

## References

1. Culture Collections Information Worldwide. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <http://www.wfcc.info/ccinfo>.

2. Overmann J. Significance and future role of microbial resource centers. *Syst. Appl. Microbiol.* 2015; 38(4):258–65. DOI: 10.1016/j.syapm.2015.02.008.

3. Microbiology Collections - ATCC. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: [http://www.atcc.org/en/Products/Cells\\_and\\_Microorganisms.aspx](http://www.atcc.org/en/Products/Cells_and_Microorganisms.aspx).

4. [WebSite of the All-Russian collection of microorganisms - ARCM]. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <http://www.vkm.ru/rus/>.

5. Dijkshoorn L., Ursing B.M., Ursing J.B. Strain, clone and species: comments on three basic concepts of bacteriology. *J. Med. Microbiol.* 2000; 49(5):397–401. DOI: 10.1099/0022-1317-49-5-397.

6. Lapage S.P., Sneath P.H.A., Lessel E.F., Skerman V.B.D., Seeliger H.P.R., Clark W.A., editors. International code of nomenclature of bacteria: bacteriological code, 1990 Revision. Washington (DC): ASM Press; 1992.

7. Lippi D., Gotuzzo E. The greatest steps towards the discovery of *Vibrio cholerae*. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20(3):191–5. DOI:10.1111/1469-0691.12390.

8. Judicial Commission of the International Committee on Bacteriological Nomenclature. Opinion 31. Conservation of *Vibrio* Pacini 1854 as a bacterial generic name, conservation of *Vibrio cholerae* Pacini 1854 as the nomenclatural type species of the bacterial genus *Vibrio*, and designation of neo-type strain of *Vibrio cholerae* Pacini. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 1965; 15(3):185–6. DOI: 10.1099/00207713-15-3-185.

9. Reference strains: How many passages are too many? *Tech.*

Bulletin No. 6. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <https://www.atcc.org/~media/PDFs/Technical%20Bulletins/tb06.ashx>.

10. Dedeurwaerdere T. Global microbial commons: institutional challenges for the global exchange and distribution of microorganisms in the life sciences. *Res. Microbiol.* 2010; 161(6):414–21. DOI:10.1016/j.resmic.2010.04.012.

11. Catalog of microorganisms. German Collection of Microorganism (GCM). (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <https://www.dsmz.de/catalogues/catalogue-microorganisms.html>.

12. Reference strain catalog pertaining to organisms for performance testing culture media. 29th version. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: [http://refs.wdcm.org/pdf/WDCM%20Catalogue%20Version\\_V29.pdf](http://refs.wdcm.org/pdf/WDCM%20Catalogue%20Version_V29.pdf).

13. Tindall B.J., Garrity G.M. Proposals to clarify how type strains are deposited and made available to the scientific community for the purpose of systematic research. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2008; 58:1987–90. DOI: 10.1099/ijs.0.2008/006155-0.

14. De Vos P., Truper H.G. Judicial Commission of the International Committee on Systematic Bacteriology. IXth International (IUMS) Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Minutes of the meetings, 14, 15 and 18 August 1999, Sydney, Australia. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2000; 50(6):2239–44. DOI: 10.1099/00207713-50-6-2239.

15. Tindall B.J., Kampfer P., Euzéby J.P., Oren A. Valid publication of names of prokaryotes according to the rules of nomenclature: past history and current practice. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2006; 56(Pt 11):2715–20. DOI: 10.1099/ijs.0.64780-0.

16. [The Budapest Treaty: Code of Practice for IDAs]. *Mikrobiologiya [Microbiology]*. 1999; 68(3):423–30.

17. Ward N., Eisen, J., Fraser C., Stackebrandt E. Sequenced strains must be saved from extinction. *Nature.* 2001; 414(6860):148. DOI: 10.1038/35102737.

18. Stackebrandt E. Deposition of microbial strains in public resource centres: safeguarding valuable resources for academic and applied research. *Res. Microbiol.* 2012; 163(8):487–9. DOI: org/10.1016/j.resmic.2012.07.003.

19. Stackebrandt E., Smith D., Casaregola S., Varese G.C., Verkleij G., Lima N., Bridge P. Deposit of microbial strains in public service collections as part of the publication process to underpin good practice in science. *SpringerPlus.* 2014; 3:208. DOI: 10.1186/2193-1801-3-208.

20. Coenye T., Vandamme P. Bacterial whole-genome sequences: minimal information and strain availability. *Microbiology (Reading).* 2004; 150(Pt 7):2017–8. DOI: 10.1099/mic.0.27307-0.

21. Accession criteria of the CBS for new deposits of microorganisms. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <http://www.cabri.org/guidelines/micro-organisms/M200Ap22.html>.

22. Accession criteria of the DSMZ for new deposits of microorganisms. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <http://www.cabri.org/guidelines/micro-organisms/M200Ap23.html>.

23. BCCM Accession criteria for new deposits of microorganisms. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <http://www.cabri.org/guidelines/micro-organisms/M200Ap21.html>.

24. Уткина Е.А., Гаврилова Е.Б. [Deposit of microorganisms for the purposes of national patent procedure]. *Patenty i Litsenzii. [Patents and licenses]*. 2011; 2:34–9.

## Authors:

Грачева И.В., Осин А.В., Кутырев В.В. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru).

## Об авторах:

Грачева И.В., Осин А.В., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru).