



Опыт длительного хранения референтного штамма С-141 возбудителя мелиоидоза (*Burkholderia pseudomallei*)

Е. А. Артемьева¹, Л. А. Мельникова², А. П. Родионов³

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), г. Казань, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-6204-6077>, e-mail: artemevaelena21@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-0159-3843>, e-mail: vnivi@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-0853-5678>, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Мелиоидоз – особо опасное инфекционное заболевание, вызываемое бактериями *Burkholderia pseudomallei*, относящимися к II группе патогенности, против которого не разработаны специфические средства профилактики и лечения. Мелиоидозом болеют как люди, так и животные. Ранее заболевание было распространено в районах Юго-Восточной Азии, в настоящее время регистрируется почти на всех континентах земного шара. Потенциальная возможность завоза возбудителя мелиоидоза на территорию Российской Федерации, а также опасность преднамеренного применения его в качестве средства биологического терроризма диктует необходимость содержания данного патогена в коллекциях микроорганизмов для проведения исследований по изучению его основных свойств, разработке и испытанию средств диагностики, индикации и идентификации. Лаборатория коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» осуществляет хранение и поддержание референтного штамма С-141 *Burkholderia pseudomallei*, полученного из ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (г. Саратов) в 1983 г., для проведения научно-исследовательских работ, а также в качестве дублирующего штамма в случае утраты его в других коллекциях. Целью работы являлось изучение сохранности биологических свойств штамма С-141 *Burkholderia pseudomallei* после 11 лет хранения в лиофилизированном виде. Установлено, что при оптимальных условиях хранения (температура от 4 до 8 °С, криопротектор – обезжиренное молоко) штамм сохранял свою жизнеспособность и биологические свойства в течение всего срока наблюдения. Штамм С-141 обладал сахаролитической, оксидазной, каталазной и протеолитической активностью, сероводород не образовывал, что соответствует биохимическим признакам возбудителя мелиоидоза. Проведено освежение штамма путем пассажа через организм золотистых хомячков, выделена культура буркхольдерий, которая была лиофилизована. Лيوфилизированный штамм С-141 *Burkholderia pseudomallei* был проверен по показателям качества, на него оформлен паспорт, штамм заложен на хранение.

Ключевые слова: особо опасные болезни, мелиоидоз, штамм, хранение, пассаж, лиофилизация

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Коллекционирование, поддержание, пополнение и хранение штаммов возбудителей особо опасных болезней (ООБ), организация их учета, проведение исследований по изучению биологических свойств и обеспечения предприятий агропромышленного комплекса штаммами возбудителей ООБ».

Для цитирования: Артемьева Е. А., Мельникова Л. А., Родионов А. П. Опыт длительного хранения референтного штамма С-141 возбудителя мелиоидоза (*Burkholderia pseudomallei*). *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 268–272. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-268-272.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Для корреспонденции: Родионов Александр Павлович, младший научный сотрудник лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок-2, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com.

Long-term storage of С-141 reference strain of melioidosis agent (*Burkholderia pseudomallei*)

Е. А. Artemeva¹, L. A. Melnikova², A. P. Rodionov³

Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety" (FSBSI "FCTRBS-ARRVI"), Kazan, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-6204-6077>, e-mail: artemevaelena21@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-0159-3843>, e-mail: vnivi@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-0853-5678>, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com

SUMMARY

Melioidosis is a highly dangerous infectious disease caused by Hazard Group II bacteria *Burkholderia pseudomallei*, against which specific prevention and treatment tools have not been developed yet. Both humans and animals suffer from the disease. Previously the disease was prevalent in Southeast Asia regions, but currently is reported almost in all continents of the globe. Potential possibility of the agent introduction to the Russian Federation as well as the risk of malevolent use of this agent as a tool of bioterrorism dictates the need for storage of this pathogen in the microorganism collections to study its properties, develop and test diagnostic, detection and identification means. Microorganism Collection Laboratory of the FSBSI "FCTRBS-ARRVI" is responsible for storage and preservation of *Burkholderia*

pseudomallei C-141 reference strain, submitted by Federal State Scientific Institution "Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" under the Rospotrebnadzor (Saratov city) for research purposes in 1983 and as a back-up strain in case of its loss by other collections. The purpose of the work was to study the preservation of biological properties of freeze-dried *Burkholderia pseudomallei* C-141 strain after 11 years of storage. It was established that under optimal storage conditions (temperature of 4–8 °C, skimmed milk as a cryoprotectant) the strain remained viable and retained its biological properties during the whole observation period. C-141 strain showed saccharolytic, oxidase, catalase and proteolytic activities, did not generate hydrogen sulphide, which is consistent with the melioidosis agent biochemical features. The strain was refreshed by passaging in golden hamsters and *Burkholderia* culture was isolated and freeze-dried. *Burkholderia pseudomallei* C-141 freeze-dried strain was tested for quality parameters, records were made and the strain was deposited.

Keywords: particularly dangerous diseases, melioidosis, strain, storage, passage, lyofilyzation

Acknowledgements: The work was carried out using the funds of the FSBSI "FCTRBS-ARRVI" within the research "Collecting, maintaining, replenishing and storing strains of highly dangerous diseases (HDD), keeping records of them, studying their biological properties and providing agro-industry companies with HDD strains".

For citation: Artemeva E. A., Melnikova L. A., Rodionov A. P. Long-term storage of C-141 reference strain of melioidosis agent (*Burkholderia pseudomallei*). *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 268–272. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-268-272.

Conflict of interests: The authors declare that there is no conflict of financial/non-financial interests associated with the paper.

For correspondence: Alexander. P. Rodionov, Junior Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", 420075, Russia, Republic of Tatarstan, Kazan, Nauchny Gorodok-2, e-mail: alexandrvtspets@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Хранение и поддержание штаммов микроорганизмов осуществляется в государственных и национальных коллекциях, существующих на базе научно-исследовательских учреждений. Фонды коллекций насчитывают от сотни до тысячи и более единиц хранения. Они формируются за счет поступления штаммов микроорганизмов из организаций, ведущих деятельность в области биологической защиты, ветеринарных, медицинских, фитосанитарных и иных учреждений, выполняющих микробиологические исследования [1, 2]. Основной задачей коллекций микроорганизмов является поддержание фонда культур в условиях, исключающих их утрату, изменение или потерю морфологических, биохимических, серологических и токсических свойств, а также чувствительности к антибиотикам при длительном хранении [3, 4]. В коллекциях они представлены резервными, музейными, эпизоотическими, референтными, эталонными и производственными штаммами и являются национальным достоянием страны, обеспечивающим ее биологическую и продовольственную безопасность [5]. Штаммы микроорганизмов, хранящиеся в коллекциях, необходимы для проведения фундаментальных и прикладных научных исследований, разработки лечебных, диагностических и профилактических препаратов, а также для создания современных индикационных систем, иммунобиологических препаратов и лекарственных средств против инфекционных болезней, регистрирующихся на территории Российской Федерации (сибирская язва, бруцеллез и др.), а также против заболеваний, имеющих потенциальную вероятность заноса в страну из благополучных регионов [6]. Представителем последней категории инфекций является особо опасное заболевание мелиоидоз, которое повсеместно распространено на территории Юго-Восточной Азии, эндемичной по данному заболеванию [7]. В связи с этим нельзя исключать угрозы завоза данного зооноза на территорию нашей страны, а также опасности диверсионных действий с применением *Burkholderia pseudomallei* в качестве агента биологического терроризма. Это создает необходимость хранения штаммов данного микроорганизма в коллекциях, поддержания и изучения биологических свойств возбудителя [8]. Лаборатория коллекции штам-

мов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» выполняет работу по ведению фонда штаммов *B. pseudomallei* как потенциально опасного биологического агента.

Целью данного исследования явилось изучение сохранности биологических свойств штамма C-141 *B. pseudomallei* после 11 лет хранения в лиофилизированном виде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биологическая безопасность. Работа проведена в лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в соответствии с СанПиН 3.3686-21¹.

Штаммы. Для работы взят референтный штамм C-141 *B. pseudomallei* (выделен из крови больного в 1948 г. в г. Сайгоне), полученный в лиофилизированном виде в установленном порядке из ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (г. Саратов) в 1983 г.

Питательные среды. Для восстановления лиофилизированной культуры исследуемого штамма и изучения сохранности его морфологических свойств использовали мясо-пептонный глицериновый агар (МПГА) и мясо-пептонный глицериновый бульон (МПГБ).

Для определения образования сероводорода использовали МПГБ с 4% глицерина, при изучении катализной активности – МПГА с 4% глицерина. Вышеперечисленные питательные среды произведены в ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Определение биохимических свойств проводили на средах Гисса (АО «НПО «Микроген», Россия).

Лабораторные животные. Для проведения пассажа исследуемого штамма использовали 5 голов золотистых хомячков. Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации,

¹ СанПиН 3.3686-21 Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных заболеваний: утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4. Режим доступа: http://vniipchi.rospotrebнадzor.ru/s/203/files/ND/safety/95493_64.pdf.

а также согласно требованиям Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123, г. Страсбург, 18.03.1986).

Оборудование. Лиофилизацию культуры проводили на установке LZ-9.2 (Frigera, Чехия).

Методы исследований. Определив жизнеспособность штамма и получив посредством пересевов культуру второй генерации, изучали ее биологические свойства на соответствие паспортным данным согласно МУ 4.2.2787-10 «Лабораторная диагностика мелиоидоза» [9]. Для изучения культуральных признаков проводили посев штамма на МПГА и МПГБ. Тинкториально-микробиологические свойства определяли посредством микроскопии препаратов, приготовленных из 2-суточной культуры, фиксированных в смеси Никифорова и окрашенных по Граму. Подвижность бактериальных клеток устанавливали при микроскопическом исследовании нативных препаратов, приготовленных методом висячей капли. Образование сахаролитических ферментов определяли на средах Гисса. Протеолитические свойства проверяли путем посева культуры уколом бактериологической петли в 12%-й желатин, а также вносили 2–3 капли культуры в физиологическом растворе в обезжиренное молоко, учет результатов проводили в течение 3 дней. Образование сероводорода определяли на МПГБ с помещенной в пробирку индикаторной бумагой, пропитанной ацетатом свинца. Оксидазную активность изучали посредством нанесения на поверхность выращенной на МПГА культуры 1%-го раствора перекиси водорода. Окончательный учет результатов проводили на 7–10-й день.

После проверки основных свойств штамма *C-141 B. pseudomallei* проводили пассаж через организм золотистых хомячков путем подкожного введения суспензии 2-суточной агаровой культуры. Наблюдение за животными вели в течение 5–6 дней. Павших особей вскрывали и осуществляли бактериологические посе- вы из печени, селезенки, легких, места введения, крови из сердца на МПГА и МПГБ, которые культивировали при 37 °С в течение 3–4 сут [10].

Чистую культуру штамма *C-141 B. pseudomallei* лиофилизировали, используя в качестве криопротектора обезжиренное молоко. Режим сублимационной сушки был рассчитан для данного вида возбудителя.

Лиофилизированную культуру проверяли на жизнеспособность, изучали основные свойства, используя полученные данные, оформляли паспорт на штамм, заполняли формы учета, по окончании этих работ ампулы со штаммом заложили на хранение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пополнение фонда лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» штаммом *C-141 B. pseudomallei* было продиктовано необходимостью разработки методов дифференциальной диагностики сапа и мелиоидоза, так как возбудители этих особо опасных инфекционных заболеваний близкородственны в антигенном отношении. Кроме того, данный штамм помещен в коллекцию в качестве дублирующего на случай его утраты в других коллекциях. В течение 38 лет штамм хранится в нативном виде на МПГА (рабочие культуры) и лиофилизированном виде с периодическим контролем жизнеспособности и сохранности биологических свойств. Культура штамма,

хранящаяся в нативном виде, пересеивается на МПГА каждые 3 месяца и один раз в год проверяется по основным свойствам. Лиофилизированные культуры проверяются один раз в 5 лет.

В настоящее время хранение штамма *C-141 B. pseudomallei* в коллекции и проводимая с ним работа продиктованы происходящей глобализацией во всех сферах деятельности человека, развитием туризма, особенно в зонах с тропическим климатом, международными связями в области торговли, спорта и т. д., создающими риск заноса экзотических и не регистрирующихся на территории нашего государства инфекций, включая мелиоидоз. Являясь агентом бактериологического оружия, *B. pseudomallei* создает потенциальную угрозу преднамеренного ее применения как средства биологического терроризма. Постановлением Правительства РФ от 1 декабря 2004 г. № 715 «Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих»² мелиоидоз включен в перечень социально значимых заболеваний, представляющих опасность для окружающих.

На первом этапе работы изучали культуральные свойства штамма *C-141 B. pseudomallei*, хранящегося в течение 11 лет в лиофилизированном виде. На МПГА через 24 ч культивирования при температуре 37 °С выросли мелкие, полупрозрачные, выпуклые колонии сероватого цвета с ровными краями и гладкой поверхностью (рис. А). Через 48–72 ч инкубации появлялись признаки диссоциации культуры: одни колонии были прозрачными, другие – со складчатой поверхностью (рис. В). На МПГБ через сутки регистрировали рост в виде легкого помутнения, в последующие дни мутность усиливалась, образовывался осадок и поверхностная пленка, которая спустя 4–5 сут становилась складчатой, меняя цвет с серо-желтого на коричневый.

При микроскопии мазков-препаратов, приготовленных из 2-суточной агаровой культуры штамма, фиксированных в смеси Никифорова и окрашенных по Граму, в поле зрения наблюдали мелкие, грамотрицательные, располагающиеся одиночно, попарно и короткими цепочками клетки с характерным биполярным окрашиванием (рис. С). При просмотре под микроскопом препарата «висячая капля», изготовленного из культуры буркхольдерий, регистрировали прямолинейное движение бактерий.

Исследование биохимических свойств штамма *C-141 B. pseudomallei* показало, что он обладал сахаролитической активностью: окислял глюкозу с изменением цвета индикатора и питательной среды. При посеве на МПГБ образования сероводорода не происходило: индикаторная бумага, пропитанная уксусноокислым свинцом, не окрасилась в черный цвет. Штамм обладал оксидазной, каталазной (при нанесении 1 мл 1%-го раствора перекиси водорода на культуру буркхольдерий, выросшую на МПГА, появились пузырьки газа) и протеолитической (свертывал и пептонизировал молоко, разжижал 12%-й желатин) активностью (табл.).

Результаты исследования показали, что биохимические свойства штамма *C-141* соответствуют видовым признакам *B. pseudomallei*, указанным в определителе бактерий Берджи [11]. Данный факт позволяет конста-

² Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих: утв. постановлением Правительства РФ от 01.12.2004 № 715. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/901916651>.

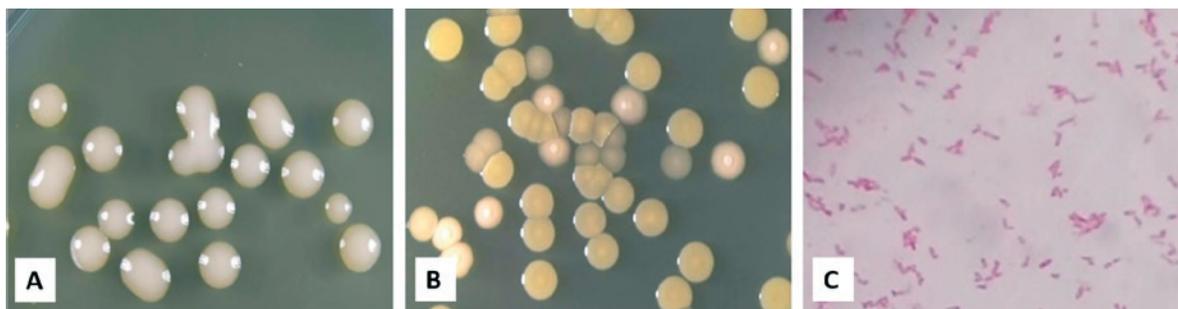


Рис. Культурально-морфологические свойства штамма C-141 *B. pseudomallei*: А – суточная культура, выращенная на МПГА; В – диссоциация культуры через 48–72 ч инкубации; С – мазок исследуемой культуры, окрашенный по Граму

Fig. Cultural and morphological properties of *B. pseudomallei* C-141 strain: A – day-old culture, grown on meat peptone agar; B – dissociated culture in 48–72 hours of incubation; C – Gram stained smear of the tested culture

тировать, что создание оптимальных условий хранения штамма и работа, проводимая с ним в течение 38 лет, способствовали сохранности его жизнеспособности без утраты биологических свойств.

Для стабильности основных свойств при длительном хранении штаммов требуется проведение их через организм чувствительных моделей [12]. Для возбудителя мелиоидоза такими моделями являются золотистые хомячки, белые мыши и морские свинки. В данной работе были использованы золотистые хомячки. Болезнь у этих животных протекает в острой форме, гибель наступает в течение 3–5 сут в зависимости от штамма и вводимой дозы, к тому же они удобны в содержании и уходе. Пассажи штамма C-141 *B. pseudomallei* проводили путем подкожного введения золотистым хомячкам живой культуры в дозе 10^9 живых микробных клеток в 1 см^3 , суспензированной в физиологическом растворе, с последующим наблюдением за их состоянием. У животных регистрировали угнетенное состояние, вялость, отказ от корма, гибель на 4–6-е сут. При патолого-анатомическом вскрытии на печени, селезенке, легких обнаружены некротические узелки диаметром до 2–3 мм. При бактериологическом исследовании проб внутренних органов и крови из сердца выделена культура с характерными для *B. pseudomallei* биологическими свойствами.

Первостепенной задачей коллекций микроорганизмов является сохранение штаммов в неизменном состоянии в течение длительного времени. При этом чаще всего применяют метод сублимации [13]. Выделенную культуру штамма C-141 *B. pseudomallei* лиофилизировали для обеспечения сохранности основных свойств в течение длительного времени. В качестве криопротектора использовали обезжиренное молоко, которое эффективно используют при сублимационном высушивании штаммов возбудителя сапа [14].

Лиофилизацию проводили по ранее отработанному режиму:

1. Замораживание материала в течение 18 ч до минус 40°C в морозильной камере.
2. Перенос материала в лиофильную установку, охлаждение плиты до минус 52°C .
3. Включение вакуума.
4. Лиофилизация в автоматическом режиме в течение 12 ч.
5. Включение обогрева (р) через 17 ч с момента загрузки материала при следующих параметрах: температура плиты 10°C , температура среды 0°C .

б. Включение обогрева (р + 1) через 18 ч при следующих параметрах: температура плиты 20°C , температура среды 5°C , вакуум 0,5 trr.

7. Часовой диапазон 24 ч: температура плиты 32°C , температура среды 25°C , вакуум 0,05 trr.

Процесс сушки завершали при относительной влажности материала в пределах от 2 до 3,5% [15]. Проверка штамма C-141 *B. pseudomallei* после лиофилизации показала его жизнеспособность и сохранность основных свойств.

После освежения штамма путем пассирования через организм чувствительных моделей, лиофилизации и контроля показателей качества в соответствии с СанПиН 3.3686-21 был оформлен паспорт и внесены соответствующие записи в форму учета № 517/у «Карта индивидуального учета коллекционного патогенного биологического агента», после чего штамм был заложен на хранение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показали, что при оптимальных условиях хранения (температура от 4 до 8°C , криопротектор – обезжиренное молоко) лиофилизированный штамм C-141 *B. pseudomallei* сохранял свою жизнеспособность и биологические свойства в течение 11 лет хранения (срок наблюдения). Штамм обладал сахаролитической, оксидазной, каталазной и протеолитической активностью, сероводород не образовывал, что соответствует биохимическим признакам вида *B. pseudomallei*.

Таблица
Биохимические свойства штамма C-141 *B. pseudomallei*

Table
C-141 *B. pseudomallei* biochemical properties

№ п/п	Показатель	Значение показателя для исследуемого штамма	Значение показателя по определителю Берджи
1	Окисление глюкозы	+	+
2	Образование сероводорода	–	–
3	Оксидазная активность	+	+
4	Свертывание молока	+	+
5	Разжижение 12%-го желатина	+	+

Освежение штамма путем пассажа через организм чувствительных моделей (золотистых хомячков) и консервация методом лиофилизации обеспечат поддержание его в рабочем состоянии и сохранность основных свойств в течение длительного периода времени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Онищенко Г. Г., Кутырев В. В., Топорков А. В., Осин А. В. Современное состояние коллекционной деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных болезней I-II групп патогенности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2010; 1 (103): 5–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-1(103)-5-10.
2. Дятлов И. А. Коллекции патогенных микроорганизмов – значение и проблемы. *Бактериология*. 2018; 3 (1): 5–6. eLIBRARY ID: 35598142.
3. Артемьева Е. А., Мельникова Л. А., Родионов А. П. Особенности подготовки и выдачи производственного штамма 5584 *Burkholderia mallei* в соответствии с требованиями биологической безопасности. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 243–247. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-243-247.
4. Мельникова Л. А., Иванова С. В., Галиуллин А. К., Макаев Х. Н. Определение жизнеспособности и сохранность биологических свойств штаммов возбудителя сапа при длительном хранении. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2018; 234 (2): 137–141. eLIBRARY ID: 35094225.
5. Озерская С. М., Кочкина Г. А., Иванушкина Н. Е., Запрометова 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. eLIBRARY ID: 12830842.
6. Молчанова Е. В., Лопастейская Я. А., Незнамова А. В., Кузютина Ю. А., Агеева Н. П., Захарова И. Б. и др. Особенности идентификации *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei* с помощью микробиологического анализатора Vitek 2 Compact 30. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 3: 57–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-57-61.
7. Захарова И. Б., Топорков А. В., Виктор Д. В. Мелиоидоз и сап: современное состояние проблемы и актуальные вопросы эпидемиологического надзора. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; 6: 103–109. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-103-109.
8. Онищенко Г. Г., Пальцев М. А., Зверев В. В., Иванов А. А., Киселев В. И., Нетесов С. В. и др. Биологическая безопасность. М.: Медицина; 2006. 304 с.
9. МУ 4.2.2787-10 Лабораторная диагностика мелиоидоза: методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2011. 32 с. Режим доступа: <https://base.garant.ru/70519336>.
10. Ряпис Л. А., Илюхин В. И., Сенина Т. В., Шубникова Е. В., Будченко А. А., Куликова А. С. Сравнительная характеристика бурхольдерий группы *pseudomallei*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 1: 3–8. eLIBRARY ID: 19052685.
11. Краткий определитель бактерий Берги. Под ред. Дж. Холта. М.: Мир; 1980. 495 с.
12. Охупкина В. Ю., Пяткова Н. В., Барамзина Г. В., Фоменков О. О., Федотов А. К. Опыт длительного хранения штаммов возбудителя туляремии. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 4: 69–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-69-74.
13. Похиленко В. Д., Баранов А. М., Детушев К. В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. 2009; 4 (12): 99–121. Режим доступа: [https://izvuz_mn.pnzgu.ru/files/izvuz_mn.pnzgu.ru/13409.pdf](https://izvuz.mn.pnzgu.ru/files/izvuz_mn.pnzgu.ru/13409.pdf).
14. Ветеринарные препараты: справочник. Под ред. Д. Ф. Осидзе. М.: Колос; 1981. 448 с.
15. Мельникова Л. А., Иванова С. В., Макаев Х. Н., Букова Н. К. Влияние сред высушивания на устойчивость возбудителя сапа в процессе

лиофилизации и дальнейшем хранении. *Ветеринарный врач*. 2017; 3: 17–20. eLIBRARY ID: 29331324.

REFERENCES

1. Onishenko G. G., Kutyrev V. V., Toporkov A. V., Ossin A. V. Current state of collection activity relative to the use of infectious agents of I-II pathogenicity groups. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2010; 1 (103): 5–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-1(103)-5-10. (in Russ.)
2. Dyatlov I. A. Problems of pathogenic microorganisms collections. *Bacteriology*. 2018; 3 (1): 5–6. eLIBRARY ID: 35598142. (in Russ.)
3. Artemeva E. A., Melnikova L. A., Rodionov A. P. Preparation and transfer of *Burkholderia mallei* production strain 5584 in accordance with the biosafety requirements. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 243–247. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-243-247.
4. Melnikova L. A., Ivanova S. V., Galiullin A. K., Makaanov Kh. N. The determination of the viability and safety of biological properties of strains of the glanders agent during long-term storage. *Scientific Notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine*. 2018; 234 (2): 137–141. eLIBRARY ID: 35094225. (in Russ.)
5. Ozerskaja S. M., Kochkina G. A., Ivanushkina N. E., Zaprometova K. M., Eremina S. S., Knyazeva E. V. The state of collections of microorganisms in Russia. *Ovchinnikov Bulletin of Biotechnology and Physical and Chemical Biology*. 2006; 2 (3): 51–61. eLIBRARY ID: 12830842. (in Russ.)
6. Molchanova E. V., Lopasteiskaya Ya. A., Neznamova A. V., Kuziyutina Yu. A., Ageeva N. P., Zakharova I. B., et al. Peculiarities of *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei* identification using microbiological analyzer Vitek 2 Compact 30. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016; 3: 57–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-57-61. (in Russ.)
7. Zakharova I. B., Toporkov A. V., Viktorov D. V. Melioidosis and glanders: current state and actual issues of epidemiological surveillance. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018; 6: 103–109. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-103-109. (in Russ.)
8. Onishchenko G. G., Pal'tsev M. A., Zverev V. V., Ivanov A. A., Kiselev V. I., Netesov S. V., et al. Biological Safety. Moscow: Meditsina; 2006. 304 p. (in Russ.)
9. МУ 4.2.2787-10 Laboratory diagnosis of melioidosis: guidelines. M.: Federal Centre of Hygiene and Epidemiology of the Rosпотребнадзор, 2011. 32 p. Available at: <https://base.garant.ru/70519336>. (in Russ.)
10. Ryapis L. A., Ilyukhin V. I., Senina T. V., Shubnikova E. V., Budchenko A. A., Kulikova A. S. Comparative characteristic of *Burkholderia pseudomallei* group. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2013; 1: 3–8. eLIBRARY ID: 19052685. (in Russ.)
11. The Shorter Bergey's Manual of Determinative bacteriology. Ed. by J. G. Holt. 8th ed. Baltimore: The William & Wilkins Co.; 1977. 356 p.
12. Okhapkina V. Yu., Pyatkova N. V., Baramzina G. V., Fomenkov O. O., Fedotov A. K. Long-term storage of tularemia agent strains. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2018; 4: 69–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-69-74. (in Russ.)
13. Pokhilenko V. D., Baranov A. M., Detushev K. V. Metody dlitel'nogo hranenija kollekcionnyh kul'tur mikroorganizmov i tendencii razvitiya = Methods of long-term storage of collection microorganism cultures and development trends. *University proceedings. Volga region. Medical sciences*. 2009; 4 (12): 99–121. Available at: https://izvuz_mn.pnzgu.ru/files/izvuz_mn.pnzgu.ru/13409.pdf. (in Russ.)
14. Veterinary medicinal products: Formulary. Ed by D. F. Osidze. Moscow: Kolos; 1981. 448 p. (in Russ.)
15. Melnikova L. A., Ivanova S. V., Makaanov Kh. N., Bukova N. K. The influence of media on drying stability of the causative agent of glanders in the process of lyophilization and subsequent storage. *Veterinarian*. 2017; 3: 17–20. eLIBRARY ID: 29331324. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 25.03.2022

Поступила после рецензирования / Revised 13.05.2022

Принята к публикации / Accepted 20.06.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Артемьева Елена Александровна, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Мельникова Лилия Арсентьевна, кандидат ветеринарных наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Родионов Александр Павлович, младший научный сотрудник лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Elena A. Artemeva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia.

Lilia A. Melnikova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia.

Alexander P. Rodionov, Junior Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia.