

© Жилченко Е.Б., Жаринова Н.В., Сердюк Н.С., Коняева О.А., Гаврилова О.Н., 2019

УДК 579.61:616-092

ОБЕСПЕЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ЛИОФИЛИЗАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ I-II ГРУПП ПАТОГЕННОСТИ

Е.Б. Жилченко, Н.В. Жаринова, Н.С. Сердюк, О.А. Коняева, О.Н. Гаврилова

ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора,
ул. Советская, д. 13–15, г. Ставрополь, 355035, Россия

Показано наличие единичных клеток патогенов высушиваемого образца в смывах, взятых с поверхностей камеры сублимационных установок после завершения лиофилизации, что может повлечь за собой возможность выброса в виде аэрозоля жизнеспособных клеток лиофилизируемых микроорганизмов и привести к созданию аварийной ситуации, опасной для персонала. Предложено использовать дополнительное изолирующее оборудование – ламинарное укрытие, оснащенное HEPA-фильтрами класса H14, назначением которого является обеспечение защиты оператора и окружающей среды при работе с патогенными биологическими агентами. Смывы, сделанные с внутренних поверхностей ламинарного укрытия и лиофильных установок по окончании работы, давали отрицательные результаты, что сводило до минимума риск образования аэрозоля в помещении бактериологического бокса. Подобраны средства индивидуальной защиты, дезинфектанты для обработки оборудования и конечного продукта, разработан алгоритм действий персонала, что позволило существенно повысить уровень защиты от патогенов сотрудников лабораторий и окружающей среды.

Ключевые слова: лиофилизация, штаммы микроорганизмов, биологическая безопасность, технологии хранения, сублимационные установки камерного типа, ламинарное укрытие, дезинфектанты.

E.B. Zhilchenko, N.V. Zharinova, N.S. Serdyuk, O.A. Konyayeva, O.N. Gavrilova □ **ENSURING BIOLOGICAL SAFETY DURING LYOPHILIZATION FOR MICROORGANISMS OF I-II PATHOGENICITY GROUPS** □ Stavropol Antiplague Institute of Rospotrebnadzor, 13-15 Sovetskaya Str., Stavropol, 355035, Russia.

The article shows the presence of pathogen single cells of a dried sample in swabs taken from the camera surfaces of sublimation machines after lyophilization is completed, which may entail the possibility of release in the form of aerosol of viable cells of lyophilized microorganisms and lead to the creation of dangerous to personnel emergency situation. We proposed the use of additional isolation equipment - laminar box equipped with H14 class HEPA filters, the purpose of which is to protect the operator and the environment when working with pathogenic biological agents. The swabs taken from the internal surfaces of the laminar box and lyophilic machines at the end of the process gave negative results, which minimized the aerosol formation risk in room of the bacteriological box. We selected personal protective equipment, disinfectants for processing equipment and the final product, developed an algorithm for personnel actions, which made it possible to significantly increase the level of protection against pathogens of laboratory staff and the environment.

Key words: lyophilization, microorganism strains, biological safety, storage technologies, chamber-type sublimation machines, laminar box, disinfectants.

Коллекционная деятельность направлена на сохранение и рациональное использование биологического разнообразия микроорганизмов – возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных в течение максимально возможного времени. Для решения этих задач используют различные методы долгосрочной консервации штаммов [8–10, 15]. Одним из основных регламентированных способов консервации патогенных бактерий является метод лиофилизации, заключающийся в высушивании культур под вакуумом при низких температурах. Известно, что метод лиофильного высушивания способствует сохранению жизнеспособности различных микроорганизмов в течение длительного времени. Многие известные бактериальные виды сохраняют жизнеспособность после 50 лет хранения в высушенном состоянии при температуре 4 °C [4, 5, 14]. Кроме того, лиофилизированные культуры способны выдерживать без особых последствий и более высокие температуры, что позволяет транспортировать штам-

мы на большие расстояния без потери жизнеспособности и заявленных свойств с минимальными затратами [11, 12, 18].

В соответствии с нормативным правовым актом [1], работы по лиофилизации микроорганизмов относят к категории, связанной с возможным образованием бактериальных аэрозолей в воздухе, поэтому особую значимость и актуальность приобретают вопросы обеспечения требований биологической безопасности, регламентирующие организацию и проведение данного вида работ с микроорганизмами I–II групп патогенности.

Наиболее распространенными способами подготовки культур к хранению являются их сушка в ампулах на коллекторных аппаратах и во флаконах на лиофильных установках камерного типа [7, 19]. В настоящее время высушивание возбудителей инфекционных заболеваний I–IV групп патогенности чаще всего осуществляется в современных аппаратах камерного типа, позволяющих проводить весь процесс замораживания–высушивания микроорга-

низмов непосредственно на полках, расположенных внутри изолированной камеры лиофильной установки, по заранее разработанной программе без участия оператора. Процесс лиофилизации в камерных сушилках во флаконах является экономически выгодным и удобным в отличие от сушилок коллекторного типа, т. к. дает возможность получать за один цикл большое количество готовых препаратов каждой культуры, обеспечивая тем самым пополнение и сохранность коллекционного фонда. Хранение коллекционного фонда патогенных биологических агентов (ПБА) во флаконах обеспечивает большую безопасность в связи с повышенной по сравнению с ампулами прочностью стекла флаконов. Также необходимо отметить эргономичность процесса вскрытия флакона по сравнению с ампулами при работе с лиофилизированными культурами [6, 16].

Экспериментальные работы по лиофилизации бактериальных культур на сублимационных установках камерного типа с использованием модельных штаммов показали наличие единичных клеток высушиваемого образца в смывах, взятых с поверхностей камеры после завершения процесса лиофилизации. Данный факт может повлечь за собой возможность выброса в виде аэрозоля жизнеспособных клеток лиофилизируемых микроорганизмов в помещение бактериологического бокса при открытии двери камеры по окончании процесса сушки и, соответственно, создание аварийной ситуации [6, 16]. В связи с этим необходимо определить условия применения вышеназванных аппаратов при лиофилизации штаммов микроорганизмов I–II групп патогенности.

Цель исследования – разработка мер обеспечения биологической безопасности процесса консервации коллекционных штаммов I–II групп патогенности в лиофильных установках камерного типа *Free Zone Triad Freeze Dry System 7400030 Labconco* и *Martin Christ Epsilon 2-6D*.

Материалы и методы. В работе были использованы тест-штаммы *Serratia marcescens* ATCC13880, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; вакцинные штаммы возбудителей особо опасных инфекций *Yersinia pestis* EB, *Brucella abortus* 19 BA, *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ; *Vibrio cholerae* eltor O1.

Сублимацию культур проводили в установках *Free Zone Triad Freeze Dry System* модель 7400030 *Labconco* и *Martin Christ Epsilon 2-6D*, лиофилизация в которых происходила в изолированных камерах в ручном или автоматическом режиме по заранее разработанной программе.

Подготовку патогенных микроорганизмов к лиофилизации (пересев, смыв бактериальной массы и розлив микробной взвеси во флаконы) проводили сотрудники в боксах микробиологической безопасности (БМБ) II класса защиты с использованием СИЗ, регламентированных для каждого вида ПБА [1].

Результаты исследования. В зависимости от характера выполняемой работы, степени ее опасности использовали определенные типы средств индивидуальной защиты (СИЗ).

При работе с возбудителями инфекционных заболеваний I–II групп патогенности (чума, бруцеллез, туляремия) использовали I тип СИЗ, обеспечивающий защиту кожных покровов рук, поверхности тела, лица, органов дыхания, органов зрения, включающий комбинезон (противочумный халат), капюшон, высокие бахилы с защитой от промокания, полнолицевую маску со сменными фильтрующими элементами или фильтрующий противогаз с противоаэрозольной коробкой, резиновые перчатки; при работе с возбудителем холеры – II тип СИЗ (комбинезон (противочумный халат), капюшон, высокие бахилы, респиратор с фильтрующими элементами класса защиты FFP3, резиновые перчатки). Для персонала, выполняющего работы по лиофилизации ПБА I–IV групп, была апробирована защитная одежда производства ЗАО «Ламинарные системы», выполненная из микрофиламентной полиэфирной ткани со специальной отделкой, которая способствует защите от биологических загрязнений и препятствует проникновению инфекционных агентов. Конструкция одежды обеспечивает прилегание к телу в критических местах (по овалу лица, на запястьях и щиколотках), обеспечивая при этом свободу движения. Экспериментально было показано, что вышеназванная защитная одежда устойчива к различным дезинфектантам, подлежит автоклавированию, в том числе и в споровом режиме, и обеспечивает необходимый уровень защиты персонала от патогенов.

В связи с тем, что в сушилках камерного типа пробки флаконов находятся в приоткрытом состоянии, необходимым для обеспечения сублимации воды, существует вероятность попадания клеток высушиваемых образцов в пространство лиофильной камеры. Образование аэрозоля в момент открывания камеры после завершения сушки приводит к аварийной ситуации, существенному риску для персонала и возможности внутрилабораторного заражения.

С целью обнаружения жизнеспособных клеток сразу после окончания лиофилизации тест-штаммов (*Serratia marcescens* ATCC13880, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) были сделаны смывы с поверхности камер. При работе установки *Free Zone Triad Freeze Dry System 7400030 Labconco* в штатном режиме (без сбоя программы) отмечено отсутствие жизнеспособных клеток высушиваемого образца. При высеве на агаровые пластины смывов с разных точек поверхности камеры аппарата *Martin Christ Epsilon 2-6D* выросло от 5 до 11 колоний *Serratia marcescens* ATCC13880 и от 2 до 6 колоний *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Было предложено использовать дополнительное изолирующее оборудование, препятствующее попаданию патогенных агентов в окружающую среду.

С этой целью подготовлено техническое задание на разработку ламинарного укрытия для лиофильной установки для сушки ПБА I–II групп патогенности (бокса с системой полного удаления и очистки воздуха из рабочей камеры). Специалистами ЗАО «Ламинарные системы» изготовлено по индивидуальному заказу изделие «БМБ-I-«Ламинар-С» (код 180.150.01)», назначением которого является обеспечение защиты оператора и окружающей среды при работе с патогенными биологическими агентами.

Стеклянные боковые и передние панели давали возможность специалистам, проводящим лиофилизацию, визуально контролировать работу лиофильного аппарата, а по завершении процесса встроенные перчаточные порты позволяли безопасно открывать дверцы лиофильных аппаратов без риска образования аэрозоля в помещении бактериологического бокса. Класс чистоты воздуха на выходе из ламинарного укрытия по ГОСТу [13] – А, по ГОСТу [17] – 5 ИСО.

Основными характеристиками бокса являются: восходящий воздушный поток в рабочей камере бокса в рабочем режиме со средней скоростью 0,25–0,45 м/с, двухступенчатая система фильтрации на выходе (класс установ-

ленного HEPA-фильтра по ГОСТу [2] – H14, класс предварительного фильтра по ГОСТу [3] – G4), микропроцессорная система управления с шильд-панелью и ЖК-дисплеем, блокировка открытия двери при включенном вентиляторе, наличие встроенного бактерицидного облучателя.

Все манипуляции по загрузке, выемке флаконов с ПБА и обработке лиофильной камеры проводились под защитой ламинарного укрытия (рис. 1).

Сублимационные устройства *Martin Christ Epsilon 2-6D* и *Free Zone Triad Freeze Dry System модель 7400030 Labconco* поочередно помещали в укрытие и проводили высушивание тест-штаммов.

При работающем ламинарном укрытии по окончании процесса лиофилизации с помощью двух встроенных перчаточных портов в передней двери осуществляли сброс вакуума в камере, закупорку флаконов и открытие дверцы лиофильного аппарата. Смывы, сделанные с внутренних поверхностей ламинарного укрытия и лиофильных установок по окончании работы «БМБ-I-«Ламинар-С», давали отрицательные результаты. Таким образом, риск образования аэрозоля в помещении бактериологического бокса сводился до минимума.



Рис. 1. Размещение аппарата для лиофилизации ПБА I–IV групп в ламинарном укрытии «БМБ-I-«Ламинар-С»

Fig. 1. Placement of the machine for the lyophilization of PBA I–IV groups in the laminar box «BMS-I-«Laminar-S»

С целью предупреждения возможных аварий при лиофилизации микроорганизмов I–IV групп патогенности нами были смоделированы нештатные ситуации, например, перебои в электропитании, которые могут привести к остановке программы и прекращению процесса высушивания при работе аппарата *Free Zone Triad Freeze Dry System 7400030 Labconco*. Проведены эксперименты с принудительным выключением электроэнергии. При дальнейшем восстановлении электроснабжения установлено, что запрограммированный цикл сушки восстанавливается, и процесс лиофилизации продолжается с этапа остановки. Однако при остановке процесса на некоторых циклах программы существует вероятность попадания клеток высушиваемых образцов в пространство лиофильной камеры. При высеве смывов с внутренней поверхности камеры было выявлено наличие единичных клеток (5–10 КОЕ) *Serratia marcescens 20-10*. Смывы с поверхностей сушильного аппарата при включенном ламинарном укрытии давали отрицательные результаты.

Следовательно, при работе сублимационной системы *Labconco Free Zone Triad 7400030* необходимо учитывать вероятность обсеменения флаконов и внутренней поверхности камеры. Поэтому для обеспечения биологической безопасности разработан алгоритм действий по окончании процесса высушивания. После закупорки флаконов под вакуумом, автоматически происходящей внутри камеры, выключения лиофильного аппарата, сброса вакуума в камере дверцы лиофильной сушилки оставляли открытыми при работающем ламинарном укрытии в течение 20–30 минут для удаления взвешенных частиц, затем флаконы с лиофилизированными микроорганизмами обрабатывали методом полного погружения в дезинфектанты, регламентированные для определенного вида микроорганизмов, например: «Биодез-экстра», «Эффект-Форте» – для возбудителей чумы, холеры, туляремии; «Лайна-Мед» – чумы и холеры, Хлорамин Б – чумы, холеры, туляремии и бруцеллеза. Все внутренние и внешние поверхности лиофильной камеры и ламинарного укрытия после окончания процесса лиофилизации обрабатывали 70%-м этиловым спиртом, затем открытую камеру аппарата обрабатывали с помощью передвижного облучателя-рециркулятора, помещение бактериологического бокса облучали ультрафиолетом.

Для исключения возможности сбоя в электроснабжении целесообразно дополнить сушилку блоком бесперебойного питания достаточной мощности, не входящим в состав комплекта сублимационных систем.

Заключение. Таким образом, меры биологической безопасности при лиофилизации возбудителей инфекционных заболеваний I–II групп патогенности, заключающиеся в использовании дополнительного защитного оборудования, средств индивидуальной защиты высокого качества, алгоритмов действий персонала,

позволяют существенно повысить уровень защиты от патогенов сотрудников лабораторий и окружающей среды.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 18–19 см. References)

1. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасность): СП 1.3.3118–13. М., 2013.
2. Высокоэффективные фильтры очистки воздуха (HEPA и ULPA): ГОСТ Р ЕН 1822–2–2010. Часть 1. Классификация, методы испытания, маркировка. Введены в действие от 01.12.2011. М.: Стандартинформ, 2011. 19 с.
3. Высокоэффективные фильтры очистки воздуха HEPA, HEPA и ULPA: ГОСТ Р ЕН 1822–3–2012. Часть 3. Испытания плоского фильтрующего материала. Введены в действие от 01.12.2013. М.: Стандартинформ, 2014. 33 с.
4. Грачева И.В., Осин А.В. Механизмы повреждения бактерий при лиофилизации и протективное действие защитных сред // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. № 3. С. 5–12.
5. Гришина Т.А., Тимофеева Е.В., Спиридонова В.А. Оценка результатов хранения музейных штаммов возбудителей сапа в течение длительного периода // Проблемы особо опасных инфекций. 2004. № 1. С. 40–42.
6. Жилченко Е.Б., Жаринова Н.В., Сердюк Н.С., Коняева О.А., Гаврилова О.Н., Звягинцева М.А., Осипов О.А. О необходимости использования дополнительного защитного оборудования при лиофилизации возбудителей инфекционных заболеваний I–II групп патогенности // Материалы II Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных», 5–6 апреля 2017 г. Ставрополь, 2017. С. 311–313.
7. Куплетская М.Б., Нетрусов А.И. Жизнеспособность лиофилизированных микроорганизмов после 50 лет хранения // Микробиология. 2011. Т. 80. № 6. С. 842–846.
8. Матвеева Е.В. Сохранение генофонда фитопатогенных бактерий методом лиофилизации. М.: АГРО XXI, 2007. № 10–12. С. 28–30.
9. Озерская С.М., Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Запрометова К.М., Еремичева С.С., Князева Е.В. Состояние коллекций микроорганизмов в России // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2006. Т. 2. № 3. С. 51–61.
10. Ошницено Г.Г., Кутырев В.В., Топорков А.В., Осин А.В. Современное состояние коллекции коллекционной деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности // Проблемы особо опасных инфекций. 2010. № 103. С. 5–10.
11. Осин А.В., Червякова Н.С., Валова Т.В. Лيوфилизация штаммов патогенных микроорганизмов на сублимационных установках разного типа и оценка качества полученных препаратов // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. № 3. С. 66–70.
12. Похилченко В.Д., Баранов А.М., Детушев К.В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденция развития // Известия ВУЗов. Поволжский регион. Медицинские науки. 2009. № 4. С. 99–121.
13. Правила производства и контроля качества лекарственных средств: ГОСТ Р 52249–2009. Введены в действие от 20 мая 2009 г. № 159-ст.
14. Саяпина Л.В., Соловьев Е.А., Горяев А.А., Бондарев В.П. Изучение иммунобиологических свойств вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ в условиях длительного хранения // Проблемы особо опасных инфекций. 2015. № 2. С. 87–91.
15. Червякова Н.С. Оптимизация подходов к установлению аутентичности и консервации коллекционных штаммов патогенных микроорганизмов: автореф. дис. канд. биол. наук. Саратов, 2017. 177 с.
16. Червякова Н.С., Валова Т.В., Осин А.В. Использование лиофильных аппаратов камерного типа в коллекциях патогенных микроорганизмов // Проблемы особо опасных инфекций. 2014. № 3. С. 65–68.
17. Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды: ГОСТ Р ИСО 14644–1–2017. Часть 1. Клас-

сификация чистоты воздуха по концентрации частиц. Введены в действие от 12.01.2018. 30 с.

REFERENCES

1. Bezopasnost' raboty s mikroorganizmami I-II grupp patogennosti (opasnost'): SP 1.3.3118-13 [Work safety with microorganisms of I-II pathogenicity groups (danger): SP 1.3.3118-13]. Moscow, 2013. (In Russ.)
2. Vysokoeffektivnye fil'try ochistki vozdukh (HEPA i ULPA): GOST R EN 1822-2-2010 [Highly efficient air purification filters (HEPA and ULPA): GOST R EN 1822-2-2010]. Chast' 1. Klassifikatsiya, metody ispytaniya, markirovka. Vvedeny v deistvie ot 01.12.2011. Moscow: Standartinform Publ., 2011, 19 p. (In Russ.)
3. Vysokoeffektivnye fil'try ochistki vozdukh ERA, HEPA i ULPA: GOST R EN 1822-3-2012 [Highly efficient air purification filters EPA, HEPA and ULPA: GOST R EN 1822-3-2012]. Chast' 3. Ispytaniya ploskogo fil'truyushchego materiala. Vvedeny v deistvie ot 01.12.2013. Moscow: Standartinform Publ., 2014, 33 p. (In Russ.)
4. Gracheva I.V., Osin A.V. Mekhanizmy povrezhdeniya bakterii pri liofilizatsii i protektivnoe deistvie zashchitnykh sred [Mechanisms of bacteria damage during lyophilization and the protective effect of protective media]. *Problemy osobo opasnykh infektsii*, 2016, no. 3, pp. 5-12. (In Russ.)
5. Grishina T.A., Timofeeva E.V., Spiridonova V.A. Otsenka rezul'tatov khraneniya muzeinykh shtammov vozbuditelei sapa v techenie dlitel'nogo perioda [Assessment of storage results of museum strains for the causative agents of glanders over a long period]. *Problemy osobo opasnykh infektsii*, 2004, no. 1, pp. 40-42. (In Russ.)
6. Zhilchenko E.B., Zharinova N.V., Serdyuk N.S., Kon'yayeva O.A., Gavrilova O.N., Zvyagintseva M.A., Osipov O.A. O neobkhodimosti ispol'zovaniya dopolnitel'nogo zashchitnogo oborudovaniya pri liofilizatsii vozbuditelei infektsionnykh zabolevaniy I-II grupp patogennosti [On the need to use additional protective equipment during the lyophilization of infectious diseases pathogens of I-II pathogenicity groups]. Materialy II Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Aktual'nye problemy boleznei, obshchikh dlya cheloveka i zhivotnykh», 5-6 aprelya 2017. Stavropol', 2017, pp. 311-313. (In Russ.)
7. Kupletskaya M.B., Netrusov A.I. Zhiznesposobnost' liofilizirovannykh mikroorganizmov posle 50 let khraneniya [Viability of lyophilized microorganisms after 50 years of storage.]. *Mikrobiologiya*, 2011, vol. 80, no. 6, pp. 842-846. (In Russ.)
8. Matveeva E.V. Sokhraneniye genofonda fitopatogennykh bakterii metodom liofilizatsii [Gene pool preservation of phytopathogenic bacteria by lyophilization method]. Moscow: AGRO XXI Publ., 2007, no. 10-12, pp. 28-30. (In Russ.)
9. Ozerskaya S.M., Kochkina G.A., Ivanushkina N.E., Zaprometova K.M., Eremina S.S., Knyazeva E.V. Sostoyaniye kolleksii mikroorganizmov v Rossii [State of microorganisms collections in Russia]. *Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoi biologii imeni Yu.A. Ovchinnikova*, 2006, vol. 2, no. 3, pp. 51-61. (In Russ.)
10. Onishchenko G.G., Kutryev V.V., Toporkov A.V., Osin A.V. Sovremennoye sostoyaniye kolleksionnoi deyatelnosti, svyazannoi s ispol'zovaniem vozbuditelei infektsionnykh boleznei I-II grupp patogennosti [Current state of collection activities related to the use of infectious diseases pathogens of I-II pathogenicity groups]. *Problemy osobo opasnykh infektsii*, 2010, no. 103, pp. 5-10. (In Russ.)
11. Osin A.V., Chervyakova N.S., Valova T.V. Liofilizatsiya shtammov patogennykh mikroorganizmov na sublimatsionnykh ustanovkakh raznogo tipa i otsenka kachestva poluchennykh preparatov [Lyophilization of pathogenic microorganism strains on sublimation machines of various types and quality evaluation of the preparations obtained]. *Problemy osobo opasnykh infektsii*, 2016, no. 3, pp. 66-70. (In Russ.)
12. Pokhilenko V.D., Baranov A.M., Detushev K.V. Metody dlitel'nogo khraneniya kolleksionnykh kul'tur mikroorganizmov i tendentsiya razvitiya [Methods of long-term storage of collection cultures of microorganisms and the trend of development]. *Izvestiya VUZov. Povolzhskii region. Meditsinskie nauki*, 2009, no. 4, pp. 99-121. (In Russ.)
13. Pravila proizvodstva i kontrolya kachestva lekarstvennykh sredstv: GOST R 52249-2009 [Production rules and quality control of medicines: GOST R 52249-2009]. Vvedeny v deistvie ot 20 maya 2009 g. no. 159-st. (In Russ.)
14. Sayapina L.V., Solov'ev E.A., Goryaev A.A., Bondarev V.P. Izuchenie immunobiologicheskikh svoystv vaktsinnogo shtamma FRANCISELLA TULARENSIS 15 NIEG v usloviyakh dlitel'nogo khraneniya [Study of the immunobiological properties of Francisella tularensis vaccine strain by 15 Research Institutes of Epidemiology and Hygiene under long-term storage]. *Problemy osobo opasnykh infektsii*, 2015, no. 2, pp. 87-91. (In Russ.)
15. Chervyakova N.S. Optimizatsiya podkhodov k ustanovleniyu autentichnosti i konservatsii kolleksionnykh shtammov patogennykh mikroorganizmov [Optimization of approaches to the identification and preservation of collection strains of pathogenic microorganisms]. Extended abstract of Candidate of Biological Sciences thesis. Saratov, 2017, 177 p. (In Russ.)
16. Chervyakova N.S., Valova T.V., Osin A.V. Ispol'zovaniye liofil'nykh apparatov kamernogo tipa v kolleksiyakh patogennykh mikroorganizmov [Use of lyophilic chamber-type machines in the collections of pathogenic microorganisms]. *Problemy osobo opasnykh infektsii*, 2014, no. 3, pp. 65-68. (In Russ.)
17. Chistye pomeshcheniya i svyazannyye s nimi kontroliruemyye sredy: GOST R ISO 14644-1-2017 [Clean rooms and associated controlled environments: GOST R ISO 14644-1-2017]. Chast' 1. Klassifikatsiya chistoty vozdukh po kontsentratsii chastits; vvedeny v deistvie ot 12.01.2018, 30 p. (In Russ.)
18. Ashwood-Smith M.J. Low temperature preservation in medicine and biology. Tunbridge Wells: Pitman Medical. 1980. 323 p.
19. Donev T. Methods for Conservation of Industrial Microorganisms. Sofia, 2001. 93 p.

Контактная информация:

Жилченко Елена Борисовна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора
e-mail: e.zhilchenko@mail.ru

Contact information:

Zhilchenko Elena Borisovna, Candidate of Biological Sciences, Head at the laboratory of Collection of pathogenic microorganisms of Stavropol Anti plague Institute of Rospotrebnadzor
e-mail: e.zhilchenko@mail.ru