

ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии		Лаборатория Диагностики и мониторинга
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00546-01
Название:	Порядок поддержания в активном состоянии бактериальных, микоплазменных и вирусных патогенов	Страница 1 из 9

Версия № 01	Дата введения: 28.03.2017
Причина пересмотра:	

Утверждение процедуры	Должность	Ф.И.О.	Подпись	Дата
Разработал	Главный научный сотрудник	Селянинов Ю.О.		«27» 03 2017 г.
Разработал	Главный научный сотрудник	Балышев В.М.		«27» 03 2017 г.
Согласовал	Заведующий ООББ НИР	Сухолейстер К.В.		«27» 03 2017 г.
Согласовал	Начальник ОСМК	Бобкова Т.Е.		«27» 03 2017 г.
Согласовал	Заместитель директора по НИР	Малоголовкин А.С.		«27» 03 2017 г.
Согласовал	Заместитель директора по производству и качеству	Луницин А.В.		«29» 03 2017 г.
Утвердил	И.о. директора ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии	Егорова И.Ю.		«27» 03 2017 г.

### 1. Цель.

Установить требования к правильному поддержанию в активном состоянии культур бактериальных, микоплазменных и вирусных патогенов, необходимые для обеспечения их жизнеспособности, максимальному сохранению стабильности таксономически важных признаков, типовых, а также определенных свойств, представляющих интерес для науки и практики.

### 2. Область применения.

Данная СОП распространяется на сотрудников отдела Государственная коллекция микроорганизмов, ответственных за музей бактериальных и вирусных патогенов, а также сотрудников других подразделений, участвующих в процессе поддержания бактериальных и вирусных патогенов в жизнеспособном состоянии.

### 3. Распределение ответственности.

Ответственность за организацию и координацию работ, связанных с поддержанием (хранением) патогенных биологических агентов, и регламентированных настоящей СОП, несёт начальник отдела Государственная коллекция микроорганизмов.

ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии		Лаборатория Диагностики и мониторинга
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		<b>СОП 00546-01</b>
Название:	Порядок поддержания в активном состоянии бактериальных, микоплазменных и вирусных патогенов	Страница 2 из 9

Ответственность за реализацию работ, регламентированных настоящей СОП, несут сотрудники отдела Государственная коллекция микроорганизмов и ответственные за музеи бактериальных и вирусных патогенов.

#### **4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ.**

При выполнении данной СОП необходимо соблюдать требования

- СП 1.2.036-95;
- СП 1.3.3185-13;
- СП 1.3.2322-08;
- СОП ВС-00070.

#### **5. Процедура.**

##### **5.1. Общие положения**

5.1.1. Хранение коллекционных бактериальных, микоплазменных и вирусных патогенов осуществляется на базе музейного комплекса Государственной коллекции микроорганизмов ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии (далее Коллекция).

5.1.2. Для поддержания жизнеспособности коллекционных патогенных агентов бактериальной, микоплазменной и вирусной природы отдел Государственная коллекция микроорганизмов составляет ежегодный план-график проверки их жизнеспособности и освежения.

5.1.3. К ежегодному план-графику может выпускаться дополнение по результатам инвентаризации коллекционного фонда в соответствии с СОП 00532 «Порядок инвентаризации фондов Государственной коллекции микроорганизмов».

5.1.4. Периодичность проверки жизнеспособности штаммов бактериальных, микоплазменных и вирусных патогенов зависит от способа консервации, температурного режима хранения и особенностей биологических свойств патогенов.

5.1.5. При закладке на долгосрочное хранение концентрация жизнеспособных клеток бактериальных патогенов должна быть не менее  $10^7$  КОЕ/см<sup>3</sup>, микоплазм –  $7 \log PE_{50}/см^3$ .

5.1.6. Плановое освежение производственных штаммов микроорганизмов проводится комиссионно на основании приказа директора.

##### **5.2. Основные принципы поддержания в активном состоянии бактериальных и микоплазменных патогенов**

5.2.1. Для обеспечения стабильности и сохранения жизнеспособности сибиреязвенных штаммов используются следующие способы консервации:

ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии		Лаборатория Диагностики и мониторинга
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00546-01
Название:	Порядок поддержания в активном состоянии бактериальных, микоплазменных и вирусных патогенов	Страница 3 из 9

- спорообразующие штаммы хранятся при температуре 2-4<sup>0</sup>С в темноте в виде суспензий спор с добавлением глицерина до 30 %;

- аспорогенные сибиреязвенные культуры хранятся в лиофильно высушенном виде при температуре 2-4<sup>0</sup>С в темноте.

С целью предотвращения утраты по различным причинам фонда сибиреязвенных штаммов по 2-3 ампулы закладки всех исходных штаммов хранят в тех же условиях в отдельном холодильнике.

5.2.2. Другие виды неспорообразующих бактерий, микоплазм, а также культуры клостридий III-IV групп опасности хранят в лиофильно высушенном виде при температуре минус (15±3)<sup>0</sup>С в темноте.

У бактериальных патогенов при указанных способах хранения жизнеспособность сохраняется в течение не менее 10 лет.

5.2.3. Для исключения возможности полной утраты жизнеспособности хранящимися бактериальными патогенами и микоплазмами периодически (не реже 1 раза в 10 лет) проводится процедура проверки стабильности сохранения концентрации микробных клеток, таксономически важных и типовых признаков, а также определенных свойств, представляющих интерес для каждого из хранящихся в Государственной коллекции микроорганизмов штамма.

5.2.4. В начале каждого года ответственными за музеи сибиреязвенного микроба и представителей рода *Bacillus* и бактериальных патогенов и микоплазм III – IV групп опасности на основании анализа форм отчетности (журналы по формам 515/у, 517/у и электронная база данных Freezer Pro), а также результатов инвентаризаций составляется список, подлежащих плановой проверке штаммов бактериальных патогенов и микоплазм, который передается начальнику отдела Государственная коллекция микроорганизмов для составления план-графика проверки жизнеспособности и сохранения основных свойств. На основании сводных данных руководителем коллекции формируется общий план-график, который согласовывается со всеми ответственными за музеи бактериальных и вирусных патогенов и утверждается директором института.

5.2.5. В перечень бактериальных патогенов и микоплазм, которые подлежат проверке включаются штаммы по следующим критериям:

- срок хранения штамма составил 10 лет после первичной закладки на хранение или после освежения;

- срок хранения штамма составил 5 лет после последнего продления срока хранения.

В перечень бактериальных патогенов и микоплазм, которые подлежат обязательному освежению, включаются штаммы, в отношении которых определена критичность закладки:

ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии		Лаборатория Диагностики и мониторинга
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00546-01
Название:	Порядок поддержания в активном состоянии бактериальных, микоплазменных и вирусных патогенов	Страница 4 из 9

- резкое снижение жизнеспособности;
- наличие в закладке 3-х и менее единиц хранения.

5.2.6. После утверждения план-графика готовится программа проверки и освежения штаммов, включающая показатели по которым в обязательном порядке должен быть проверен штамм (как правило, это жизнеспособность и соответствие паспортным данным) и ответственных исполнителей. Проверку жизнеспособности и свойств микроорганизмов проводят в соответствии с общепринятыми или разработанными в учреждении методическо-инструктивными документами.

5.2.7. В соответствии с требованиями СОП 00526 «Порядок получения патогенных биологических агентов из коллекции музейных штаммов ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии» ответственный за музей сибирезвенового микроба и представителей рода *Bacillus* или ответственный за музей бактериальных патогенов и микоплазм III – IV групп опасности передает одну единицу хранения из проверяемой закладки ответственному исполнителю - сотруднику института, специалисту по данному профилю работы, имеющему допуск к проведению работ с соответствующими бактериальными патогенами.

5.2.8. Ответственный исполнитель проводит оценку жизнеспособности и соответствия свойств паспортным данным.

По результатам изучения свойств штамма ответственным исполнителем составляется протокол испытаний, который передается руководителю коллекции.

5.2.9. В случае сохранности/неизменности биологических свойств и снижении концентрации жизнеспособных клеток не ниже, чем на 2 десятичных логарифма от исходного, принимается решение о продлении срока хранения штамма на следующие 5 лет. Данное решение оформляется Актом о продлении срока хранения.

5.2.10. В случае снижения концентрации жизнеспособных клеток более чем на 2 десятичных логарифма от исходного, принимается решение об освежении штамма.

Проводится освежение штамма в соответствии с разработанными в учреждении методическо-инструктивными документами. Освеженный штамм после его консервации проверяется на соответствие паспортным данным.

5.2.11. При соответствии всем требованиям ответственный исполнитель передает штамм на закладку с оформлением Паспорта и Акта передачи по формам 523/у или 525/у. Закладка штамма на хранение проводится в соответствии с СОП 00527 «Порядок приема и регистрации штаммов/изолятов

ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии		Лаборатория Диагностики и мониторинга
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		<b>СОП 00546-01</b>
Название:	Порядок поддержания в активном состоянии бактериальных, микоплазменных и вирусных патогенов	Страница 5 из 9

вирусных и бактериальных агентов в Коллекцию микроорганизмов ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии».

### **5.3. Основные принципы поддержания в активном состоянии вирусных патогенов**

5.3.1. Для обеспечения стабильности и сохранения биологической активности штаммов вирусных патогенов используются следующие способы консервации:

- в лиофильно высушенном виде и последующем хранении при температуре не выше минус 40-50°С.
- в отдельных случаях допускается хранение вируса в виде 20% мозговой суспензии и вирусосодержащей крови. Хранение ПБА в нативном виде осуществляют при температуре не выше минус 40-50°С.

С целью предотвращения утраты коллекционных штаммов вирусных патогенов по различным причинам по 2-3 ампулы закладки производственных и ряда штаммов вирусных патогенов обладающих уникальными свойствами хранят в тех же условиях в отдельном холодильнике.

5.3.2. Для исключения возможности полной утраты биологической активности вирусных патогенов периодически (в соответствии с паспортными данными) проводится процедура проверки биологической активности, а также определенных свойств, представляющих интерес для каждого из хранящихся в Государственной коллекции микроорганизмов штамма.

5.3.3. В начале каждого года ответственными за музей вирусных патогенов на основании анализа форм отчетности (журналы по формам 515/у, 517/у и электронная база данных Freezer Pro), а также результатов инвентаризаций составляется список, подлежащих плановой проверке штаммов вирусных патогенов, который передается начальнику отдела Государственная коллекция микроорганизмов для составления план-графика проверки биологической активности штаммов вирусных патогенов. На основании сводных данных руководителем коллекции формируется общий план-график, который согласовывается со всеми ответственными за музей бактериальных и вирусных патогенов и утверждается директором института.

5.3.4. Сроки хранения вирусных патогенов, в зависимости от вида вирусосодержащего материала и метода его консервации составляют:

- лиофилизированный культуральный материал - 10 лет;
- лиофилизированный эмбриональный материал - 15 лет;
- лиофилизированная вирусосодержащая кровь - 15 лет;
- лиофилизированный органный материал - 10-15 лет;
- нативная вирусосодержащая кровь (АЧС) - 15 лет;
- нативный органный (мозговой) материал - 10 лет;

ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии		Лаборатория Диагностики и мониторинга
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		<b>СОП 00546-01</b>
Название:	Порядок поддержания в активном состоянии бактериальных, микоплазменных и вирусных патогенов	Страница 6 из 9

В отдельных случаях сроки хранения штаммов могут корректироваться.

В перечень вирусных патогенов, которые подлежат обязательному освежению, включаются штаммы, в отношении которых определена критичность закладки:

- резкое снижение биологической активности;
- наличие в закладке 3-х и менее единиц хранения.

5.3.5. После утверждения план-графика готовится программа проверки и освежения штаммов, включающая показатели по которым в обязательном порядке должен быть проверен штамм (как правило, это биологическая активность) и ответственных исполнителей. Проверку инфекционной активности и свойств вирусных патогенов проводят в соответствии с общепринятыми или разработанными в учреждении методическо-инструктивными документами.

5.3.6. В соответствии с требованиями СОП 00526 «Порядок получения патогенных биологических агентов из коллекции музейных штаммов ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии» ответственный за музей вирусных патогенов передает 2-3 единицы хранения из проверяемой закладки ответственному исполнителю - сотруднику института, специалисту по данному профилю работы, имеющему допуск к проведению работ с соответствующими вирусными патогенами.

5.3.7. Ответственный исполнитель проводит оценку биологической активности штамма и определяет его специфичность.

По результатам изучения свойств штамма ответственным исполнителем составляется протокол испытаний в установленном порядке.

5.3.8. В случае сохранности биологической активности выше  $4,5 \text{ lg TЦД (ГАЕ, ИД, ЭЛД и др.)}_{50/\text{CM}^3}$ , принимается решение о продлении срока хранения штамма на половину от срока хранения указанного в паспорте. Данное решение оформляется Актом о продлении срока хранения.

5.3.9. В случае снижения биологической активности ниже  $4,5 \text{ lg TЦД (ГАЕ, ИД, ЭЛД и др.)}_{50/\text{CM}^3}$ , принимается решение об освежении штамма, которое проводится в соответствии с разработанными в учреждении методическо-инструктивными документами. Освеженный штамм после его консервации проверяется на соответствие паспортным данным.

5.3.10. При соответствии всем требованиям ответственный исполнитель передает штамм на закладку с оформлением Паспорта и Акта передачи по формам 523/у или 525/у. Закладка штамма на хранение проводится в соответствии с СОП 00527 «Порядок приема и регистрации штаммов/изолятов вирусных и бактериальных агентов в Коллекцию микроорганизмов ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии».

ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии		Лаборатория Диагностики и мониторинга
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		<b>СОП 00546-01</b>
Название:	Порядок поддержания в активном состоянии бактериальных, микоплазменных и вирусных патогенов	Страница 7 из 9

#### **5.4. Организация контроля**

Контроль за выполнением требований настоящей СОП осуществляет начальник отдела Государственная коллекция микроорганизмов.

#### **6. Термины и определения**

**Коллекция микроорганизмов** – библиотека штаммов/изолятов микроорганизмов для научных и производственных нужд.

**Патогенные биологические агенты** - патогенные для человека микроорганизмы (бактерии, вирусы, хламидии, риккетсии, простейшие, грибы, микоплазмы), генно-инженерно-модифицированные микроорганизмы, яды биологического происхождения (токсины), гельминты, а также материал, подозрительный на содержание перечисленных агентов (включая кровь, другие биологические жидкости и объекты окружающей среды).

#### **7. Сокращения.**

7.1 ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии – государственное научное учреждение всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии российской академии сельскохозяйственных наук

7.2. ПБА – патогенный биологический агент.

#### **8. Ссылки.**

8.1. СОП 00526-01 «Порядок получения патогенных биологических агентов из коллекции музейных штаммов ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии».

8.2. СОП 00527-01 «Порядок приема и регистрации штаммов/изолятов вирусных и бактериальных агентов в коллекцию микроорганизмов ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии».

8.3. СП 1.3.3118-13 «Безопасность работ с микроорганизмами I-II групп опасности (патогенности)».

8.4. СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

8.5. СП 1.2.036-95 «Порядок учёта, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности».

8.6. СОП ВС-00070 Инструкция о мерах ветеринарно-санитарной безопасности при выполнении работ на территории санитарной зоны.

ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии		Лаборатория Диагностики и мониторинга
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		<b>СОП 00546-01</b>
Название:	Порядок поддержания в активном состоянии бактериальных, микоплазменных и вирусных патогенов	Страница 8 из 9

## **9. Приложения.**

Приложение 1 - Лист ознакомления с требованиями СОП

## **10. История внесения изменений.**

Отсутствует.



