

Роль биобанкирования в организации крупномасштабных эпидемиологических исследований

Покровская М.С.¹, Борисова А.А.¹, Метельская В.А.¹, Ефимова И.А.¹, Долудин Ю.В.¹, Козлова В.А.¹, Серебрянская З.З.¹, Баланова Ю.А.¹, Мешков А.Н.¹, Пустеленин А.В.², Имаева А.Э.¹, Шальнова С.А.¹, Концевая А.В.¹, Драпкина О.М.¹

¹ФГБУ “Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины” Минздрава России. Москва; ²ФГБУ “Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии” Минздрава России. Москва, Россия

Успех и качество проведения крупномасштабных эпидемиологических исследований полностью зависят от качества используемого биоматериала. Поэтому повышенное внимание при организации исследования ЭССЕ-РФ-3 (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации. Третье исследование) было уделено разработке методологии сбора, обработки и дальнейшей транспортировки биологических образцов и ассоциированных с ними клинических и антропометрических данных участников из региональных пунктов сбора в Биобанк.

Цель. Разработка методологии сбора биоматериала высокого качества в рамках проведения беспрецедентного крупномасштабного эпидемиологического исследования, предполагающего взятие, обработку, замораживание образцов крови и ее производных (сыворотка, плазма) в регионах, транспортировку полученных биобразцов и их размещение на ответственное хранение в Биобанк ФГБУ “НМИЦ ТПМ” Минздрава России.

Материал и методы. Для проведения исследования ЭССЕ-РФ-3 разработан дизайн исследования, согласно которому во всех участвующих регионах запланирован сбор образцов венозной крови в суммарном объеме 29,5 мл от каждого участника с целью получения и хранения образцов цельной крови, сыворотки и двух видов плазмы крови.

Результаты. На основе международных стандартов биобанкирования, этических норм, опыта проведения проектов ЭССЕ-РФ, ЭССЕ-РФ-2 и анализа данных литературы разработан протокол биобанкирования образцов крови и ее производных. Определены тип и количество получаемых в результате обработки крови аликвот сыворотки и плазмы, необходимый стандартный набор технических средств и расходных материалов, требования к логистике

биоматериала; разработаны обучающие материалы для исполнителей в регионах и необходимое программное обеспечение. К началу августа 2021г по проекту ЭССЕ-РФ-3 в соответствии с разработанной методологией (регламентом) собрано, обработано и помещено на хранение 180 тыс. образцов цельной крови, сыворотки и плазмы крови от более чем 23 тыс. участников из 28 регионов РФ.

Заключение. Проведенная работа позволила оценить и подтвердить соответствие разработанного протокола биобанкирования требованиям в отношении качества получаемых биобразцов и ассоциированных с ними данных, однако в связи с пандемией новой коронавирусной инфекции к августу 2021г работа Биобанка не достигла максимальной производительности, прогнозируемой для проекта ЭССЕ-РФ-3.

Ключевые слова: биобанк, биобанкирование, эпидемиологические исследования, ЭССЕ-РФ-3.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 21/06-2021

Рецензия получена 21/07-2021

Принята к публикации 05/08-2021



Для цитирования: Покровская М.С., Борисова А.А., Метельская В.А., Ефимова И.А., Долудин Ю.В., Козлова В.А., Серебрянская З.З., Баланова Ю.А., Мешков А.Н., Пустеленин А.В., Имаева А.Э., Шальнова С.А., Концевая А.В., Драпкина О.М. Роль биобанкирования в организации крупномасштабных эпидемиологических исследований. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2021;20(5):2958. doi:10.15829/1728-8800-2021-2958

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: mpokrovskaya@gnicpm.ru

Тел.: +7 (965) 225-55-27

[Покровская М.С.* — в.н.с., руководитель лаборатории “Банк биологического материала”, ORCID: 0000-0001-6985-7131, Борисова А.А. — ведущий инженер лаборатории “Банк биологического материала”, ORCID: 0000-0003-4020-6647, Метельская В.А. — д.б.н., профессор, г.н.с., руководитель отдела изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0001-8665-9129, Ефимова И.А. — ведущий эксперт лаборатории “Банк биологического материала”, ORCID: 0000-0002-3081-8415, Долудин Ю.В. — н.с. лаборатории “Банк биологического материала”, ORCID: 0000-0002-0554-9911, Козлова В.А. — м.н.с. “Банк биологического материала”, ORCID: 0000-0002-3843-6980, Серебрянская З.З. — лаборант лаборатории “Банк биологического материала”, ORCID: 0000-0002-8691-1395, Баланова Ю.А. — в.н.с. отдела эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний, к.м.н., ORCID: 0000-0001-8011-2798, Мешков А.Н. — к.м.н., руководитель лаборатории молекулярной генетики, ORCID: 0000-0001-5989-6233, Пустеленин А.В. — начальник отдела информационных технологий и связи, ORCID: 0000-0003-3150-5194, Имаева А.Э. — к.м.н., с.н.с. отдела эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0002-9332-0622, Шальнова С.А. — д.м.н., профессор, г.н.с., руководитель отдела эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0003-2087-6483, Концевая А.В. — д.м.н., доцент, заместитель директора по научной и аналитической работе, ORCID: 0000-0003-2062-1536, Драпкина О.М. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, директор, ORCID: 0000-0002-4453-8430].

Role of biobanking in managing large-scale epidemiological studies

Pokrovskaya M. S.¹, Borisova A. L.¹, Metelskaya V. A.¹, Efimova I. A.¹, Doludin Yu. V.¹, Kozlova V. A.¹, Serebryanskaya Z. Z.¹, Balanova Yu. A.¹, Meshkov A. N.¹, Pustelenin A. V.², Imaeva A. E.¹, Shalnova S. A.¹, Kontsevaya A. V.¹, Drapkina O. M.¹

¹National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow; ²National Medical Research Center of Cardiology. Moscow, Russia

The success and quality of large-scale epidemiological studies depends entirely on biomaterial quality. Therefore, when arranging the third Epidemiology of Cardiovascular Diseases and their Risk Factors in Regions of Russian Federation (ESSE-RF-3) study, increased attention was paid to specifics of collection, processing and further transportation of biological samples and related clinical and anthropometric data of participants from regional collection centers to Biobank.

Aim. To develop a methodology for collection of high-quality biomaterials within the large-scale epidemiological study, involving the sampling, processing, freezing of blood and its derivatives (serum, plasma) in the regions, followed by transportation and storage of obtained biomaterial in the Biobank of National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine (Moscow).

Material and methods. To conduct the ESSE-RF-3 study, a design was developed, according to which the collection of venous blood samples in a total volume of 29,5 ml from each participant is planned in all participating regions in order to obtain and store samples of whole blood, serum and two types of plasma.

Results. On the basis of international biobanking standards, ethical norms, experience from ESSE-RF and ESSE-RF-2, and literature data, a protocol for biobanking of blood and its derivatives was developed. The type and number of serum and plasma aliquots obtained, the required standard technical means and consumables, as well as logistic biomaterial requirements were determined. Training programs for regional participants were developed. By the beginning of August 2021, 180 thousand samples of whole blood, serum and plasma from more than 23 thousand participants from 28 Russian regions were collected, processed and stored.

Conclusion. The presented work made it possible to assess and confirm the compliance of developed biobanking protocol with

quality requirements. However, due to the coronavirus disease 2019 pandemic, by August 2021, the Biobank did not reach the maximum effectiveness predicted for the ESSE-RF-3 project.

Keywords: biobank, biobanking, epidemiological studies, ESSE-RF-3.

Relationships and Activities: none.

Pokrovskaya M. S.* ORCID: 0000-0001-6985-7131, Borisova A. L. ORCID: 0000-0003-4020-6647, Metelskaya V. A. ORCID: 0000-0001-8665-9129, Efimova I. A. ORCID: 0000-0002-3081-8415, Doludin Yu. V. ORCID: 0000-0002-0554-9911, Kozlova V. A. ORCID: 0000-0002-3843-6980, Serebryanskaya Z. Z. ORCID: 0000-0002-8691-1395, Balanova Yu. A. ORCID: 0000-0001-8011-2798, Meshkov A. N. ORCID: 0000-0001-5989-6233, Pustelenin A. V. ORCID: 0000-0003-3150-5194, Imaeva A. E. ORCID: 0000-0002-9332-0622, Shalnova S. A. ORCID: 0000-0003-2087-6483, Kontsevaya A. V. ORCID: 0000-0003-2062-1536, Drapkina O. M. ORCID: 0000-0002-4453-8430.

*Corresponding author: mpokrovskaya@gnicpm.ru

Received: 21/06-2021

Revision Received: 21/07-2021

Accepted: 05/08-2021

For citation: Pokrovskaya M. S., Borisova A. L., Metelskaya V. A., Efimova I. A., Doludin Yu. V., Kozlova V. A., Serebryanskaya Z. Z., Balanova Yu. A., Meshkov A. N., Pustelenin A. V., Imaeva A. E., Shalnova S. A., Kontsevaya A. V., Drapkina O. M. Role of biobanking in managing large-scale epidemiological studies. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(5):2958. (In Russ.) doi:10.15829/1728-8800-2021-2958

ЛПУ — лечебно-профилактическое учреждение, СОП — стандартная операционная процедура, ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота, HbA_{1c} — гликированный гемоглобин, НМИЦ ТПМ — Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Министерства здравоохранения Российской Федерации, ЭССЕ-РФ — Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации.

Введение

Исследование ЭССЕ-РФ-3 (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации. Третье исследование) — третий этап уникального крупномасштабного исследовательского проекта, посвященного изучению распространенности сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в различных регионах РФ [1]. В рамках этого этапа проекта запланировано и выполняется обследование представительных выборок мужчин и женщин 25–64 лет (n=60 тыс.), проживающих в 30 регионах РФ с различными климато-географическими характеристиками. Формирование выборок осуществлялось по территориальному принципу на базе региональных лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) по методу Киша [2].

ЭССЕ-РФ-3 — эпидемиологическое исследование, изучающее распространенность факторов

риска хронических неинфекционных заболеваний в масштабе страны. Такие исследования, выполняемые на регулярной основе, позволяют создать систему мониторинга состояния здоровья населения РФ.

Исследование ЭССЕ-РФ-3 состоит из 3 этапов: 1) заполнение вопросника, 2) проведение инструментальных исследований и 3) выполнение лабораторных измерений. Включение в исследование ряда биохимических показателей позволяет проанализировать их ассоциации с социально-демографическими и клиническими характеристиками обследованных лиц. Лабораторные исследования запланировано выполнять централизованно в клинко-диагностической лаборатории ФГБУ "НМИЦ терапии и профилактической медицины" Минздрава России (НМИЦ ТПМ). Для этого было необходимо провести взятие крови и пробоподго-

товку в регионах, а затем транспортировать биобразцы в Биобанк НМИЦ ТПМ. Очевидно, что успех подобного масштабного научного исследования полностью зависит от качества используемого биоматериала. Поэтому повышенное внимание при организации третьего этапа исследования было уделено разработке методологии проведения сбора, обработки и дальнейшей транспортировки биологических образцов и ассоциированных с ними клинических и антропометрических данных участников из региональных пунктов сбора в Биобанк НМИЦ ТПМ.

Биобанком называется коллекция биологического материала и сопутствующей информации, хранящаяся в организованной системе, которая может быть использована в популяционных и клинических исследованиях в настоящий момент или в будущем [3, 4]. Ключевым отличием биобанка от исследовательских коллекций является обеспечение ответственного безопасного хранения биоматериала, строгое соблюдение этических требований и стандартов проведения процедур сбора, обработки, транспортировки и хранения биологических образцов, а также наличие ассоциированных с ними данных пациентов/доноров.

Роль биобанка в организации эпидемиологических исследований трудно переоценить. Использование в научно-исследовательской деятельности биоматериала, собранного, обработанного и хранящегося по единым правилам и стандартам, является гарантией достоверности, воспроизводимости и высокого качества получаемых результатов в текущих и будущих научно-медицинских исследованиях [5, 6].

Наиболее известным и ярким примером организации и проведения крупномасштабного сбора и долгосрочного хранения биообразцов и ассоциированных с ними данных является биобанк Великобритании (UK Biobank) [7, 8], собравший в течение 4-х лет образцы крови, мочи и слюны от 500 тыс. британцев в возрасте 40-69 лет. Уникальность проекта заключается в максимальной полноте и доступности данных, ассоциированных с биообразцами, для ученых по всему миру.

Биобанк НМИЦ ТПМ. Для проведения запланированных лабораторных исследований в рамках проекта ЭССЕ-РФ-3, а также для долгосрочного ответственного хранения и обеспечения высокого качества биообразцов и ассоциированных с ними данных, собранных в региональных пунктах, биоматериал транспортируют в Биобанк НМИЦ ТПМ, организованный и функционирующий согласно требованиям международных стандартов.

Образованный в 2014г Биобанк НМИЦ ТПМ является центром систематического сбора и ответственного хранения коллекций биологических образцов высокого качества и ассоциированной

с ними клинической и лабораторной информации для обеспечения ведения научной работы в рамках крупномасштабных эпидемиологических проектов, а также других исследовательских проектов, проводимых научными подразделениями НМИЦ ТПМ. Качество получаемых и хранимых биообразцов и ассоциированных с ними данных подтверждается международным сертификатом качества по стандарту ISO 9001:2015, полученным нашим Биобанком. К началу проведения ЭССЕ-РФ-3 в Биобанке уже хранился собранный в ходе первого и второго этапов эпидемиологического исследования ЭССЕ-РФ биоматериал (>20 тыс. чел.) из 12 регионов РФ, а также образцы цельной крови, сыворотки и плазмы крови из 33 исследовательских проектов научных подразделений НМИЦ ТПМ. На август 2021г общее количество биообразцов составляет >459 тыс.

Сотрудниками Биобанка накоплен большой опыт организации биобанкирования образцов крови и ее производных в рамках проведения масштабных эпидемиологических исследований (ЭССЕ-РФ, ЭССЕ-РФ-2), что позволило в кратчайшие сроки разработать усовершенствованную методологию сбора и транспортировки биоматериала для гораздо более крупномасштабного этапа проекта.

Безопасное хранение полученных биообразцов в Биобанке обеспечивается современным оборудованием, включающим низкотемпературные морозильные камеры, автоматизированную систему непрерывного мониторинга параметров среды, бесперебойное электроснабжение, программное обеспечение, позволяющее систематизировано и безопасно хранить большой объем данных, ассоциированных с биообразцами. Качество получаемых и хранимых биообразцов и ассоциированных с ними данных подтверждается международным сертификатом качества по стандарту ISO 9001:2015 “Quality management systems — Requirements”.

В рамках подготовки к исследованию ЭССЕ-РФ-3 проведено проектирование и ввод в эксплуатацию новых помещений Биобанка, предназначенных для хранения биоматериала и организованных в соответствии с передовым мировым опытом в этой области.

Соблюдение этических требований достигается путем подписания участником исследования добровольного информированного согласия, утвержденного Этическим комитетом НМИЦ ТПМ, и деперсонализации личных данных.

Цель исследования — разработка методологии сбора биоматериала высокого качества в рамках проведения беспрецедентного крупномасштабного эпидемиологического исследования, предполагающего взятие, обработку, замораживание образцов крови и ее производных (сыворотка, плазма) в регионах, транспортировку полученных биообразцов

Таблица 1

Тип и количество алиquot, получаемых в ЭССЕ-РФ-3

№ п/п	Вариант алиquotирования	Вид биоматериала Наименование и количество первичных пробирок с кровью от одного участника для биобанкирования	Количество и объем алиquot от одного участника
1	8 алиquot	Сыворотка крови (S)	2 алиquotы по 1,0 мл +
		1 пробирка с желтой крышкой 8,0 мл	2 алиquotы по 0,5 мл
		Плазма крови цитратная (РК)	2 алиquotы по 1,0 мл
		1 пробирка с голубой крышкой 4,5 мл	
		Плазма крови с ЭДТА (РЕ)	1 алиquota 1,0 мл +
		2 пробирки с фиолетовой крышкой 4,0 мл	1 алиquota 0,5 мл Клеточный осадок
2	8 алиquot + алиquota для определения HbA _{1c}	Цельная кровь (К)	1 алиquota для выделения ДНК
		1 пробирка с фиолетовой крышкой 9,0 мл	
		Сыворотка крови (S)	2 алиquotы по 1,0 мл +
		1 пробирка с желтой крышкой 8,0 мл	2 алиquotы по 0,5 мл
		Плазма крови цитратная (РК)	2 алиquotы по 1,0 мл
		1 пробирка с голубой крышкой 4,5 мл	
3	12 алиquot	Плазма крови с ЭДТА (РЕ)	1 алиquota 1,0 мл +
		2 пробирки с фиолетовой крышкой 4,0 мл	1 алиquota 0,5 мл Клеточный осадок
		Цельная кровь (К)	1 алиquota для выделения ДНК
		1 пробирка с фиолетовой крышкой 9,0 мл	
		Цельная кровь (К)	1 алиquota для определения HbA _{1c}
		1 пробирка с фиолетовой крышкой 2,0 мл	
		Сыворотка крови (S)	6 алиquot по 0,5 мл
		1 пробирка с желтой крышкой 8,0 мл	
		Плазма крови цитратная (РК)	1 алиquota 1,0 мл +
		1 пробирка с голубой крышкой 4,5 мл	2 алиquotы по 0,5 мл
		Плазма крови с ЭДТА (РЕ)	3 алиquotы по 0,5 мл
		2 пробирки с фиолетовой крышкой 4,0 мл	Клеточный осадок
		Цельная кровь (К)	1 алиquota для выделения ДНК
		1 пробирка с фиолетовой крышкой 9,0 мл	

Примечание: ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота, HbA_{1c} — гликированный гемоглобин.

и их размещение на ответственное хранение в Биобанк НМИЦ ТПМ.

Материал и методы

Для проведения сбора биоматериала согласно протоколу исследования ЭССЕ-РФ-3 на основе международных стандартов биобанкирования, этических норм, опыта проведения проектов ЭССЕ-РФ, ЭССЕ-РФ-2 и анализа литературных данных [9-13] сотрудниками Биобанка НМИЦ ТПМ разработан дизайн сбора образцов венозной крови в суммарном объеме 29,5 мл от каждого участника с целью получения и хранения образцов цельной крови, сыворотки и двух видов плазмы крови во всех участвующих в исследовании регионах по единому регламенту.

В дизайне определены тип и количество получаемых в результате обработки крови алиquot сыворотки и плазмы (таблица 1); расчет был проведен таким образом, чтобы охватить как можно более широкий спектр потенциальных исследований на этом биоматериале в настоящих и будущих проектах. Количество алиquot от каждого участника исследования определяли, исходя из вида и количества запланированных анализов, а также из необходимости соблюдения условия однократного использования биообразца без повторения циклов замораживания/оттаивания. Дополнительно в двенадцати из

тридцати регионов ЭССЕ-РФ-3 в дизайн исследования было включено проведение в регионах анализа уровня гликированного гемоглобина (HbA_{1c}).

Для безопасного ответственного хранения биоматериала и информационного сопровождения используются морозильные камеры Биобанка и программа FreezerPRO.

Информированные согласия с идентификационным номером участника вместо персональных данных, подписанные всеми участниками ЭССЕ-РФ-3 в двух экземплярах, хранятся в специальном хранилище Биобанка.

Результаты и обсуждение

Согласно дизайну исследования, разработана методология (пакет протоколов) проведения сбора, обработки, транспортировки и хранения биологических образцов. Стандартные операционные процедуры (СОП), подробно описывают процессы сбора, обработки биоматериала, регистрацию в программе ввода данных, температурные режимы и сроки выдержки биообразцов до обработки и во время хранения, подготовки биоматериала к транспортировке в Биобанк, а также процессы экспорта данных из программы и формы, которые необходимо заполнять с целью формирования базы данных. Созданы платформа и программа для регистрации

биообразцов и формирования базы данных. Строгое соблюдение данного регламента и использование разработанного программного обеспечения соответствует стандартам биобанкирования и обеспечивает высокое качество получаемого биоматериала и информационного сопровождения.

Для всех регионов, принимающих участие в исследовании, был определен стандартный набор оборудования и расходных материалов, необходимых для получения биообразцов. Применение такого подхода снижает риски влияния технических характеристик и настроек различного оборудования на качество биообразцов. Например, при использовании морозильных камер разного температурного режима может различаться время замораживания образца, тогда как использование единого набора оборудования и расходных материалов позволяет организовать работу по единому стандарту, включающему СОП по каждому из этапов и видеоинструкции.

Стандартный набор оборудования и расходных материалов для каждого пункта сбора, обработки и временного хранения биообразцов от участников исследования включает: центрифугу лабораторную (среднескоростную с охлаждением), морозильную камеру с температурой хранения -25°C , компьютер с предустановленным программным обеспечением и доступом к сети Интернет, сканер для считывания штрихкодов, дозаторы переменного объема с одноразовыми наконечниками, вакуумные системы для забора крови, штативы и криопробирки с 2D-штрихкодами.

Ключевым фактором, влияющим на качество биообразцов, наличие, полноту и достоверность сопровождающих его данных, является точность выполнения инструкций. Сотрудниками Биобанка был разработан пакет демонстрационных материалов, включающий инструкцию, презентацию и видеофильм, подробно описывающие все действия сотрудников региональных ЛПУ, начиная с процедуры получения образцов крови от участников исследования и заканчивая подготовкой биоматериала и сопровождающей документации к транспортировке. В каждом регионе проведено обучение исполнителей проекта с использованием этих материалов. Кроме того, продолжается оперативное регулярное в режиме онлайн консультирование региональных исполнителей по всем возникающим вопросам сбора, пробоподготовки и транспортировки биоматериала по стандартам биобанкирования.

Основные этапы биобанкирования

Процедура сбора биоматериала. К работе с вакуумными системами забора крови допускается только сертифицированный медицинский персонал. Образцы периферической (венозной) крови долж-



Рис. 1 Набор этикеток для первичных пробирок и направления для одного участника.

Рис. 2 Форма направления.

ны собираться в асептических условиях, с использованием стерильных игл и переходников, в маркированные уникальными индексами образцов пробирки типа “BD Vacutainer”.

Участникам исследования необходимо соблюдать ряд общих рекомендаций: накануне взятия крови исключить физические нагрузки, стрессовые ситуации, физиотерапевтические процедуры; прием лекарственных средств (решение об отмене медикаментозного лечения принимает лечащий врач), оральных контрацептивов; употребление спиртных напитков и жирной пищи. Не курить непосредственно перед исследованием в течение 1 ч. В процедурном кабинете ЛПУ осуществляют стандартное взятие крови утром натощак (не менее чем через 12 ч после последнего приема пищи) в условиях физиологического покоя, из локтевой вены.

Перед процедурой забора крови медицинская сестра подготавливает все необходимое:

1. Отделяет от рулона этикеток этикетки с 6-значным порядковым номером очередного участника (рисунок 1), на которых содержится следующая информация: верхняя строка — название региона, нижняя строка — 6-значный номер участника XXNNNN (XX — номер региона согласно общероссийскому классификатору объектов административно-территориального деления, NNNN — порядковый номер участника) и тип биологического образца, который должен быть получен из данной пробирки (S, PK, K) (таблица 1, рисунок 1).

В набор этикеток для одного участника также входит этикетка для маркировки направления с обозначением BEG.

2. Заполняет направление (рисунок 2): ФИО участника и присвоенный ему уникальный 8-значный идентификационный номер, наклеивает этикетку с 6-значным порядковым номером, записывает время взятия крови.



Рис. 3 Набор первичных пробирок для взятия крови от одного участника исследования.

Уникальный 8-значный идентификационный номер присваивается каждому участнику на начальной стадии исследования при формировании выборки с использованием метода Киша. Однако использование в работе только этого кода создает ряд трудностей в работе медицинских работников ЛПУ, поскольку часть респондентов, попавших в выборку, может отказаться от участия в исследовании, кроме того, участники приходят на сдачу крови непоследовательно по присвоенным идентификационным номерам, что приводит к затруднениям в поиске необходимых этикеток для маркировки пробирок. Чтобы упростить работу медицинских работников дополнительно была введена система 6-значных последовательных номеров, присваиваемых каждому участнику, пришедшему в ЛПУ.

3. Наклеивает этикетки на пробирки для взятия крови: одна пробирка с желтой крышкой на 8,0 мл для получения сыворотки крови (маркировка S), одна — с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) с фиолетовой крышкой на 9,0 мл для получения цельной крови (маркировка K), две — с ЭДТА с фиолетовой крышкой на 4,0 мл для получения цельной крови и плазмы с ЭДТА (маркировка K), одна — с цитратом натрия с голубой крышкой на 4,5 мл для получения плазмы с цитратом натрия (маркировка PK) (рисунок 3).

Этические требования, регламентирующие процесс биобанкирования, не допускают нанесения на пробирки персональных данных участников (ФИО). 8-значный идентификационный номер участника с информационно-регистрационной карты вносится в направление, а на пробирки наклеивают этикетки с 6-значным номером, соответствующим порядковому номеру очередного участника. Порядковый 6-значный номер участника связывается с идентификационным 8-значным в компьютерной программе, используемой

для регистрации биообразцов. Таким образом осуществляется деперсонализация данных. Врачами, ведущими прием участников исследования, заполняются так называемые “переводные таблицы”, в которых содержатся персональные данные участников и соответствующие им идентификационные номера. Ни сотрудники, осуществляющие пробоподготовку биоматериала, ни сотрудники НМИЦ ТПМ, доступа к персональным данным участников не имеют.

Большое значение имеет последовательность забора биоматериала: первыми наполняют пробирки с желтой крышкой, затем — с голубой, и в конце — с фиолетовой. Сразу после взятия крови содержимое пробирок с фиолетовой и голубой крышками осторожно перемешивают, плавно переворачивая пять раз, и ставят в штатив в вертикальном положении. Встряхивание пробирок недопустимо, поскольку может привести к гемолизу образца. Содержимое пробирок с желтыми крышками (не содержащими антикоагулянта) не перемешивают.

По окончании процедуры медсестра проверяет заполненное направление и передает пробирки и направление лаборанту для проведения пробоподготовки.

Пробоподготовка — обработка биологического материала после взятия крови. Процедура пробоподготовки состоит из этапов центрифугирования крови и аликвотирования образцов. Все пробирки центрифугируют через 30 мин после взятия крови. Важно не увеличивать время перед центрифугированием для пробирок с цитратом натрия (с голубыми крышками) для получения плазмы крови для коагулологических исследований. Время до центрифугирования пробирок с желтыми и фиолетовыми крышками может составлять до 1 ч. Пробирки с фиолетовой крышкой объемом 9,0 мл и 4,0 мл, предназначенные для замораживания цельной крови, не центрифугируют.

Пробирки центрифугируют при температуре +4° С со скоростью 1900 g (3260 (об./мин) в течение 15 мин. По окончании процедуры необходимо убедиться, что сыворотка/плазма четко отделена от клеточных компонентов, нет клеточных компонентов над осадком, нет гемолиза или хилеза. При возникновении проблем с отделением сыворотки/плазмы или образованием сгустка проводят повторное центрифугирование. В случае гемолизированной или хилезной сыворотки/плазмы процедуру взятия крови необходимо провести повторно.

Полученные образцы сыворотки и плазмы крови аликвотируют в криопробирки, содержащие заводские уникальные линейные штрих-коды на боковой части и 2D-штрих-коды на дне (рисунок 4). Этот штрих-код криопробирки соединяется с уже введенным в базу данных 8-значным иденти-



Рис. 4 Криопровирки с уникальным 2D-штрихкодом для длительного хранения образцов сыворотки и плазмы крови.

ИНФОРМАЦИЯ О БИООБРАЗЦАХ

ДАТА ЗАБОРА _____ НАЗВАНИЕ РЕГИОНА _____

Номер участника (восьмизначный и шестизначный номера, указанные на «бегунке»)	Время забора крови	Время центри- фугиро- вания	Время заморозки	Цельная кровь (кол-во пробирок)	Осадок (кол-во пробирок)	S (кол-во пробирок)	РЕ (кол-во пробирок)	РК (кол-во пробирок)	Примечание

Ответственный исполнитель _____ / _____
ФИО Подпись

Рис. 5 Форма информационного листа “Информация о биообразцах”.
Примечание: S — сыворотка крови, РЕ — плазма крови с ЭДТА, РК — плазма крови цитратная.

фикационным номером соответствующего участника при сканировании в программу ввода данных по биообразцам “ЭССЕ-РФ-3”. В этих пробирках сыворотка и плазма крови транспортируется и хранится.

Аликвотирование биообразцов из пробирок с желтой, голубой и фиолетовой крышками производится автоматическим дозатором с использованием одноразовых наконечников объемом 100-1000 мкл. При отборе сыворотки и плазмы важно забирать только чистую сыворотку и плазму, не смешивая её с кровяным сгустком и не дотрагиваясь кончиком наконечника до слоя осадка. После аликвотирования каждого типа биообразца наконечник необходимо менять.

При аликвотировании плазмы с ЭДТА из пробирок с фиолетовой крышкой, объемом 4,0 мл, следует оставить над осадком в пробирке слой плазмы

в 1 мм. Эту пробирку с клеточным осадком следует заморозить наряду с двумя другими пробирками с фиолетовой крышкой, содержащими цельную кровь с ЭДТА. Эти биообразцы будут использоваться для проведения генетических исследований.

В процессе пробоподготовки важно фиксировать время начала центрифугирования и аликвотирования, а также количество и объем полученных аликвот в листе “Информация о биообразцах” (форма информационного листа представлена на рисунке 5). Благодаря заполнению этой табличной формы повышается точность дальнейшей работы с программой, а необходимая информация дублируется на бумажном носителе.

Программа ввода данных. Информация о собранном биоматериале вводится и хранится в базе данных проекта ЭССЕ-РФ-3. Ввод информации о биообразцах осуществляется с помощью специ-

Код	Штрихкоды пробирок					Дата комплектации	Статус	Готов к отправке
	S	PK	PE	K	G			
25040101	0	0	0	0	0	08-07-2020	☆	<input type="checkbox"/>
25040102	4	3	1	2	1	28-06-2020	☆	<input type="checkbox"/>
25040103	6	3	3	3	1	28-06-2020	★	<input type="checkbox"/>
25040201	6	3	3	3	1	30-06-2020	★	<input type="checkbox"/>
25040202	0	0	0	0	0	08-07-2020	☆	<input type="checkbox"/>
25040401	0	0	0	0	0	08-07-2020	☆	<input type="checkbox"/>
25040402	0	0	0	0	0	08-07-2020	☆	<input type="checkbox"/>

Рис. 6 Интерфейс программы ввода и хранения данных, ассоциированных с биообразцами.

Рис. 7 Окно для ввода информации, закодированной в штрих-кодах криопробирок.

альной программы “ЭССЕ-РФ-3”. Разработанная IT-платформа еще при выполнении проекта ЭССЕ-РФ-2 была существенно усовершенствована для проведения ЭССЕ-РФ-3. Она позволяет регистрировать и отслеживать информацию по процессингу биообразцов и ассоциированных с ними данных в режиме онлайн. Это явилось важным этапом подготовки к проведению исследования. Программа предусматривает использование так называемой маски ввода (рисунок 6). В программу вводится информация: 8-значный идентификационный номер участника при первичной его регистрации, затем отсканированные штрих-коды всех полученных типов образцов, название и номер региона, ФИО сотрудника, осуществляющего пробоподготовку, дата и время взятия крови, время начала центрифугирования, время заморозки и статус отправки из региона в Биобанк. Данные хранятся в деперсонализированном виде, что отвечает всем этическим требованиям к проведению подобных исследований и регламенту биобанкирования.

Информация о виде биообразца вводится путем сканирования штрих-кодов, расположенных на криопробирках и на этикетках вакутейнеров с цельной кровью и клеточным осадком, в соответствующую ячейку программы ввода данных — К для образцов цельной крови, S — для сыворотки, PK — для цитратной плазмы, PE — для плазмы с ЭДТА (рисунок 7).

Дополнительно программа позволяет генерировать списки биообразцов в виде таблиц в формате Excel.

Замораживание. После ввода данных в программу “ЭССЕ-РФ-3” криостативы с криопробирками и пробирки с цельной кровью и клеточным осадком в штативе для замораживания помещают в морозильную камеру с температурой хранения -25°C . При указанной температуре допустимо хранить пробы не >3 нед., поскольку, согласно данным многочисленных исследований, хранение сыворотки крови в течение этого временного периода не оказывает существенного влияния на ее

качество [14, 15]. Далее биообразцы следует транспортировать в Биобанк для хранения при -70°C .

В конце каждого рабочего дня замороженные пробирки с фиолетовыми крышками собирают в зип-пакет, маркированный текущей датой. В этот же зип-пакет закладывают “Информационный лист” текущего дня.

Передача образцов в Биобанк. Транспортировка образцов из региональных пунктов сбора, пробоподготовки и замораживания биоматериала в Биобанк осуществляется транспортной компанией один раз в 3 нед. в контейнерах с сухим льдом при температуре от -50 до -70°C с использованием датчиков контроля температуры (температурных логгеров), позволяющих непрерывно мониторировать температуру внутри транспортировочного бокса на всех этапах перевозки.

Биообразцы при транспортировке сопровождаются пакетом документов:

- заполненными листами “Информация о биообразцах”;
- информированными согласиями, подписанными участниками исследования (2 экземпляра);
- актом приема/передачи биоматериала, содержащим информацию о виде и количестве передаваемых биообразцов.

Порядок действий при подготовке к отправке биоматериала из регионального пункта сбора в Биобанк. Организацией транспортировки биоматериала из региональных центров сбора в Биобанк занимается специалист-менеджер Биобанка, в обязанности которого входит: отслеживание сроков хранения биообразцов в ЛПУ, соблюдение временных интервалов отгрузок партий биоматериала с момента начала сбора образцов и далее каждые 3 нед., связь с региональным исполнителем, получение информации о количестве готового к отправке биоматериала, согласование с транспортной компанией объема поставки, времени отправки из пункта сбора биоматериала, а также времени прибытия в Биобанк. Параллельно региональный исполнитель проекта готовит файл со списком номеров готовых к отправке биообразцов из программы ввода данных и пересылает его по электронной почте в Биобанк.

В согласованный день и время исполнители проекта в регионе вместе с курьером транспортной компании перемещают биообразцы, находящиеся в штативах, из морозильной камеры в транспортировочный пакет и в транспортный контейнер в толщу сухого льда, там же размещают температурный логгер и зип-пакеты с пробирками, содержащими цельную кровь и клеточный осадок.

Листы “Информация о биообразцах”, информированные согласия и акты приема-передачи упаковывают в отдельный пакет.

Транспортировка биоматериала в Биобанк осуществляется с соблюдением сроков и температур-

ных режимов с учетом контроля холодовой цепи (сухой лед, температура не выше -50°C).

Перемещение биологических образцов внутри региона. В случае, если пункт, где осуществляется сбор и пробоподготовка биоматериала, а также ввод данных в программу, находится вне прямого доступа к морозильной камере на -25°C , биоматериал после пробоподготовки по инструкции без предварительной заморозки доставляют при температуре от $+4$ до $+8^{\circ}\text{C}$ к морозильной камере. Время выдерживания при данной температуре до замораживания в морозильной камере на -25°C не должно превышать 3-х ч с момента центрифугирования. Для транспортировки используют сумку-холодильник с заранее подготовленными холодоэлементами.

Прием биоматериала, поступающего из регионов, в Биобанк. В Биобанке регистрация биоматериала, транспортируемого из регионов, осуществляется следующим образом:

- 1) сканирование штативов с образцами сыворотки и плазмы, а также пробирок с цельной кровью и клеточным осадком;
- 2) экспорт файлов в CSV-формате (табличный файл), содержащих информацию о биообразцах;
- 3) проверка и редактирование полученных файлов с введением информации о размещении принятых биообразцов для длительного ответственного хранения в морозильных камерах: цельная кровь и клеточный осадок при -30°C , сыворотка и плазма крови при -70°C ;
- 4) внесение отредактированных файлов в программу FreezerPRO.

Для проведения запланированных по проекту лабораторных исследований с определенной согласованной периодичностью Биобанк передает образцы сыворотки в клинико-диагностическую лабораторию НМИЦ ТПМ. Результаты исследований автоматически попадают в базу данных ЭССЕ-РФ-3 и становятся доступными в регионах для выдачи участникам. При необходимости проведения дополнительных исследований с использованием сохраняемых биообразцов Биобанк осуществляет выдачу аликвот биоматериала по определенному регламенту, включающему согласование с руководителями исследования ЭССЕ-РФ-3.

К началу августа 2021г по проекту ЭССЕ-РФ-3 в соответствии с разработанной методологией было собрано, обработано и помещено на ответственное хранение 180 тыс. образцов цельной крови, сыворотки и плазмы крови от более чем 23 тыс. участников из 28 регионов РФ. Значительное негативное влияние на скорость реализации проекта оказала пандемия новой коронавирусной инфекции COVID-19, повлекшая замедление темпа сбора биоматериала в регионах. В связи с этим в настоящее время работа Биобанка НМИЦ ТПМ не достигла максимальной производительности,

прогнозируемой для проекта ЭССЕ-РФ-3, однако проведенная работа уже позволила оценить и подтвердить соответствие разработанного протокола биобанкирования требованиям в отношении качества получаемых биообразцов и ассоциированных с ними данных.

Стоит отметить и важность влияния человеческого фактора на проведение исследования. В рамках действующей в Биобанке НМИЦ ТПМ системы менеджмента качества по стандарту ISO 9001:2015 “Quality management systems — Requirements” пристальное внимание уделяется процессу управления несоответствиями. Их своевременное выявление и информирование сотрудников региональных ЛПУ позволяют оперативно разрабатывать корректирующие мероприятия, контролировать выполнение каждого их этапов процесса биобанкирования, снизить вероятность повторного возникновения ошибок и, как следствие, значительно повышать качество получаемых биообразцов и ассоциированных с ними данных [3, 16].

Таким образом, разработанную и реализованную методологию сбора, пробоподготовки, транспортировки и хранения биообразцов в рамках проведения ЭССЕ-РФ-3 по своему масштабу, превышающему все предыдущие эпидемиологические исследования в России, можно рассматривать в качестве универсального инструмента для получения и хранения высококачественного биологического материала человека.

Заключение

В заключение следует отметить, что успешное проведение крупномасштабных эпидемиологических проектов, предполагающих сбор, обработку, транспортировку и долгосрочное ответственное хранение большого количества биоматериала и данных из многочисленных регионов России, требует тщательного планирования и комплексного подхода к организации, включая создание пакета протоколов проведения всех этапов работы по единому стандарту:

- определение типа и количества собираемого биоматериала;
- подбор оборудования и расходных материалов, позволяющих гарантировать высокое качество и безопасность получения и хранения биообразцов на всех этапах проекта, в т.ч. в течение длительного времени;
- разработку форм и СОП для проведения всех этапов сбора, пробоподготовки и транспортировки биоматериала из регионов в Биобанк;

— разработку программного обеспечения и баз данных для ввода, передачи и долгосрочного хранения информации, ассоциированной с биообразцами;

— подбор надежной логистической компании, способной обеспечить и документально подтвердить соблюдение необходимых временных и температурных режимов транспортировки;

— личное и дистанционное обучение исполнителей проекта в регионах с использованием разработанных инструкций и подготовленных презентационных материалов, в т.ч. в формате видеозаписи всех процессов, связанных с взятием крови, обработкой биообразцов, их замораживанием и подготовкой к транспортировке.

Очевидно, что при организации крупномасштабных эпидемиологических исследований на современном этапе Биобанк является необходимым центральным звеном. Именно регламент биобанкирования и централизованное управление процессом сбора биоматериала обеспечивает высокое качество собранного биоматериала, необходимое для получения достоверных и воспроизводимых результатов исследований. Благодаря единому регламенту в Биобанке собирается уникальная структурированная коллекция биоматериала от представительной выборки населения из 30 регионов РФ для исследований в рамках ЭССЕ-РФ-3 и для будущих научных проектов.

На основе международных стандартов биобанкирования, этических норм, опыта проведения проектов ЭССЕ-РФ, ЭССЕ-РФ-2 и анализа литературных данных разработан протокол биобанкирования образцов крови и ее производных, который может использоваться при организации и выполнении крупномасштабных исследовательских проектов.

Несмотря на то, что в настоящее время работа Биобанка НМИЦ ТПМ не достигла пиковой производительности, прогнозируемой для проекта ЭССЕ-РФ-3, что связано с пандемией новой коронавирусной инфекции, проведенная работа позволила оценить и подтвердить соответствие разработанного протокола биобанкирования требованиям в отношении качества получаемых биообразцов и ассоциированных с ними данных.

Собираемый в рамках исследования биоматериал потенциально дает возможность проводить в будущем широкий круг метаболомных, протеомных и геномных исследований.

Отношения и деятельность: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

1. Scientific Organizing Committee of the ESSE-RF. Epidemiology of cardiovascular diseases in different regions of Russia (ESSE-RF). The rationale for and design of the study. *Profilakticheskaya Meditsina*. 2013;16(6):25-34. (In Russ.) Научно-организационный комитет проекта ЭССЕ-РФ. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России (ЭССЕ-РФ). Обоснование и дизайн исследования. *Профилактическая медицина*. 2013;16(6):25-34.
2. Kish L. *Survey Sampling*. New York: John Wiley and Sons, 1965. 643 p. ISBN: 047148900X (ISBN13: 9780471489009).
3. Pokrovskaya MS, Borisova AL, Sivakova OV, et al. Quality management in biobank. World tendencies and experience of biobank of FSI "NMRC for Preventive Medicine" of the Ministry of Healthcare of Russia. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Russian Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2019;64(6):380-4. (In Russ.) Покровская М.С., Борисова А.Л., Сивакова О.В. и др. Управление качеством в биобанке. Мировые тенденции и опыт биобанка ФГБУ "НМИЦ профилактической медицины" Минздрава России. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019;64(6):380-4. doi:10.18821/0869-2084-2019-64-6-380-384
4. Reznik ON, Kuzmin DO, Skvortsov AE, et al. Biobanks are an essential tool for transplantation. History, current state, perspectives. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2016;18(4):123-32. (In Russ.) Резник О.Н., Кузьмин Д.О., Скворцов А.Е. и др. Биобанки — неоценимый ресурс трансплантации. История, современное состояние, перспективы. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016;18(4):123-32. doi:10.15825/1995-1191-2016-4-123-132.
5. Prinz F, Schlange T, Asadullah K. Believe it or not: how much can we rely on published data on potential drug targets? *Nature Reviews Drug Discovery*. 2011;10(9):712. doi:10.1038/nrd3439-c1.
6. Problems with scientific research: How science goes wrong. *The Economist*. 2013;Oct, 19th. <https://www.economist.com/leaders/2013/10/21/how-science-goes-wrong>.
7. Elliott P, Peakman TC. The UK Biobank sample handling and storage protocol for the collection, processing and archiving of human blood and urine. *International J Epidemiol*. 2008;37(2):234-44. doi:10.1093/ije/dym276.
8. Sudlow C, Gallacher J, Allen N, et al. UK biobank: an open access resource for identifying the causes of a wide range of complex diseases of middle and old age. *PloS Med*. 2015;12(3):e1001779. doi:10.1371/journal.pmed.1001779.
9. Anisimov SV, Glotov AS, Granstrem OK, et al. Biobanks and biomedical progress. Saint-Petersburg: Svoe izdatel'stvo. 2018, 86 p. (In Russ.) Анисимов С.В., Глотов А.С., Гранстрем О.К. и др. Биобанки и прогресс биомедицины: сб. научн. тр. п/ред. С.В. Анисимова. Санкт-Петербург: Свое издательство, 2018, 86 с. ISBN: 978-5-4386-1648-1.
10. Doludin YV, Borisova AL, Pokrovskaya MS, et al. Current best practices and biobanking recommendations. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Russian Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2019;64(12):769-76. (In Russ.) Долудин Ю.В., Борисова А.Л., Покровская М.С. и др. Современные переводные практики и рекомендации по биобанкированию. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64(12):769-76. doi:10.18821/0869-2084-2019-64-12-769-776.
11. Pokrovskaya MS, Sivakova OV, Meshkov AN, et al. Organization of biobanking of biological samples within the second stage of epidemiological study of cardiovascular risk factors and diseases in the regions of the Russian Federation (ESSE-RF2). *The Russian Journal of Preventive Medicine*. 2018;21(2-2):44-5. (In Russ.) Покровская М.С., Сивакова О.В., Мешков А.Н. и др. Организация биобанкирования биообразцов в рамках второго этапа эпидемиологического исследования сердечно-сосудистых факторов риска и заболеваний в регионах Российской Федерации (ЭССЕ-РФ2). *Профилактическая медицина*. 2018;21(2-2):44-5.
12. Iacoviello L, Curtis AD, Donati MB, et al. Biobanks for cardiovascular epidemiology and prevention. *Future Cardiol*. 2014;10(2):243-54. doi:10.2217/fca.13.110.
13. ISO 20387:2018 Biotechnology — Biobanking — General requirements for biobanking. <https://www.iso.org/standard/67888.html>.
14. Kozlova VA, Metelskaya VA, Pokrovskaya MS, et al. Stability of serum biochemical markers during standard long-term storage and with a single thawing. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(6):2736. (In Russ.) Козлова В.А., Метельская В.А., Покровская М.С. и др. Изучение стабильности биохимических маркеров при непрерывном длительном хранении сыворотки крови и при однократном размораживании. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(6):2736. doi:10.15829/1728-8800-2020-2736.
15. Sivakova OV, Pokrovskaya MS, Efimova IA, et al. Quality control of serum and plasma samples for scientific research. *The Russian Journal of Preventive medicine*. 2019;22(5):91-7. (In Russ.) Сивакова О.В., Покровская М.С., Ефимова И.А. и др. Контроль качества образцов сыворотки и плазмы крови для научных исследований. *Профилактическая медицина*. 2019;22(5):91-7. doi:10.17116/profmed20192205191.
16. ISO 9001:2015 Quality management systems — Requirements. <https://www.iso.org/standard/62085.html>.