

Формирование биобанка в структуре научных и лечебно-диагностических учреждений и перспективы межрегиональной интеграции

Калинин Р. С.^{1,2,3}, Голева О. В.¹, Илларионов Р. А.^{2,3}, Цай В. В.^{1,2}, Мукомолова А. Л.¹, Константинова Ю. Е.¹, Маркин И. В.¹, Крылов А. В.¹, Рогозина Н. В.¹, Бехтерева М. К.¹, Тянь Н. С.¹, Орлова Е. Д.¹, Донников М. Ю.³, Коваленко Л. В.³, Колбасин Л. Н.^{3,4}, Глотов А. С.², Глотов О. С.^{1,2}

¹ФГБУ "Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства". Санкт-Петербург; ²ФГБНУ "Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта". Санкт-Петербург; ³БУ ВО ХМАО-Югры "Сургутский государственный университет". Сургут, Ханты-Мансийский автономный округ — Югра; ⁴БУ ХМАО-Югры "Сургутский окружной клинический центр охраны материнства и детства", Сургут, Ханты-Мансийский автономный округ — Югра, Россия

Формирование биобанков в структуре научных и лечебно-диагностических учреждений с перспективами межрегиональной интеграции является основополагающим звеном мониторинга и прогнозирования заболеваний различного генеза, создания и испытания высокоэффективной диагностики, разработки новых терапевтических средств.

Цель. Описание стандартных операционных процедур и принципов формирования биоресурсных коллекций (БРК) в медицинских учреждениях с организованным биобанкированием и возможности межструктурных взаимодействий.

Материал и методы. Представлены данные научно-практических биомедицинских проектов, использующих БРК, полученные от пациентов с наследственными, мультифакторными и инфекционными заболеваниями в г. Санкт-Петербурге и г. Сургуте. На сентябрь 2022г БРК, собранная на базе ФГБУ "Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства" (г. Санкт-Петербург), включает биообразцы от 1619, а БРК, собранная на базе Медицинского института Сургутского государственного университета (г. Сургут), включает биообразцы от 450 пациентов и условно здоровых лиц разного пола и возраста. Отбор биообразцов от условно здоровых лиц и пациентов с различными заболеваниями и развившимися патологиями может послужить стратегически значимым ресурсом для будущих исследований в плане этиологии, эпидемиологии, формирования нормативных баз и шкал, инноваций в развитии диа-

гностических подходов и лечении народонаселения Российской Федерации.

Ключевые слова: биобанк, биоресурсная коллекция, популяционный биобанк, население, инфекционные болезни, наследственные заболевания, вирусология, генетика, стандартизация.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2022-05-02 и № 2022-05-04.

Поступила 12/09-2022

Рецензия получена 15/10-2022

Принята к публикации 02/11-2022



Для цитирования: Калинин Р. С., Голева О. В., Илларионов Р. А., Цай В. В., Мукомолова А. Л., Константинова Ю. Е., Маркин И. В., Крылов А. В., Рогозина Н. В., Бехтерева М. К., Тянь Н. С., Орлова Е. Д., Донников М. Ю., Коваленко Л. В., Колбасин Л. Н., Глотов А. С., Глотов О. С. Формирование биобанка в структуре научных и лечебно-диагностических учреждений и перспективы межрегиональной интеграции. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3401. doi:10.15829/1728-8800-2022-3401. EDN MYGKEL

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: pancu43@gmail.com

[Калинин Р. С.* — магистр биологических наук, м.н.с. НИО экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга, ORCID: 0000-0003-1791-7045, Голева О. В. — к.б.н., с.н.с. НИО экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга, ORCID: 0000-0003-3285-9699, Илларионов Р. А. — инженер-исследователь биобанка "Генофонд", м.н.с., ORCID: 0000-0003-2711-748X, Цай В. В. — м.н.с. НИО экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга, м.н.с. отдела геномной медицины, ORCID: 0000-0001-6488-8369, Мукомолова А. Л. — к.м.н., н.с. НИО экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга, ORCID: 0000-0003-2544-3265, Константинова Ю. Е. — м.н.с. НИО вакцинопрофилактики и поствакцинальной патологии, ORCID: 0000-0002-0422-2060, Маркин И. В. — аспирант НИО врожденных инфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0001-9922-401X, Крылов А. В. — к.б.н., с.н.с. НИО экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга, ORCID: 0000-0001-5952-8430, Рогозина Н. В. — к.м.н., с.н.с. НИО врожденных инфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0003-0968-6291, Бехтерева М. К. — к.м.н., с.н.с. НИО кишечных инфекций, ORCID: 0000-0003-2923-1630, Тянь Н. С. — м.н.с. НИО капельных инфекций, ORCID: 0000-0002-9799-5280, Орлова Е. Д. — м.н.с. НИО капельных инфекций, ORCID: 0000-0003-3971-0117, Донников М. Ю. — к.м.н., врач-лабораторный генетик, в.н.с. научного-образовательного центра медицинского института, ORCID: 0000-0003-0120-4163, Коваленко Л. В. — д.м.н., директор медицинского института, зав. кафедрой патофизиологии и общей патологии, ORCID: 0000-0002-0918-7129, Колбасин Л. Н. — к.м.н., зав. медико-генетической консультацией, доцент кафедры кардиологии медицинского института, ORCID: 0000-0002-2721-0150, Глотов А. С. — д.б.н., руководитель отдела геномной медицины, ORCID: 0000-0002-7465-4504, Глотов О. С. — к.б.н., руководитель НИО экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга, с.н.с. отдела геномной медицины, ORCID: 0000-0002-0091-2224].

Development of a biobank in the structure of scientific and diagnostic and treatment institutions and prospects for interregional integration

Kalinin R. S.^{1,2,3}, Goleva O. V.¹, Illarionov R. A.^{2,3}, Tsai V. V.^{1,2}, Mukomolova A. L.¹, Konstantinova Yu. E.¹, Markin I. V.¹, Krylov A. V.¹, Rogozina N. V.¹, Bekhtereva M. K.¹, Tyan N. S.¹, Orlova E. D.¹, Donnikov M. Yu.³, Kovalenko L. V.³, Kolbasin L. N.^{3,4}, Glotov A. S.², Glotov O. S.^{1,2}

¹Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical and Biological Agency. Saint-Petersburg;

²D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology. Saint-Petersburg; ³Surgut State University. Surgut, Khanty-Mansi Autonomous Okrug — Yugra; ⁴BU KhMAO-Yugra "Surgut District Clinical Center for Maternal and Childhood Health, Surgut, Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug — Yugra, Russia

The formation of biobanks in the structure of scientific and treatment and diagnostic institutions with prospects for interregional integration is a fundamental link in monitoring and predicting diseases of various origins, creating and testing highly effective diagnostics, and developing novel therapeutic agents.

Aim. To describe standard operating procedures and principles for the formation of biobank collections (BRC) in medical institutions with biobanking.

Material and methods. The data of scientific and practical biomedical projects using BRC obtained from patients with genetic, multifactorial and infectious diseases in St. Petersburg and Surgut are presented. As of September 2022, the BRC collected on the basis of the Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical and Biological Agency includes biosamples from 1619 patients, and the BRC collected in the Medical Institute of Surgut State University includes biosamples from 450 patients and healthy individuals of different sex and age. The selection of biosamples from apparently healthy individuals and patients with various diseases can serve as a strategically important resource for future research in terms of etiology, epidemiology, the development of regulatory environment and scales, innovations in the development of diagnostic approaches and treatment of the Russian population.

Keywords: biobank, biobank collection, population biobank, population, infectious diseases, genetic diseases, virology, genetics, standardization.

Relationships and Activities. The study was financially supported by the Fund for Scientific and Technological Development of Yugra within the research project № 2022-05-02 and № 2022-05-04.

Kalinin R. S.* ORCID: 0000-0003-1791-7045, Goleva O. V. ORCID: 0000-0003-3285-9699, Illarionov R. A. ORCID: 0000-0003-2711-748X, Tsai V. V. ORCID: 0000-0001-6488-8369, Mukomolova A. L. ORCID: 0000-0003-2544-3265, Konstantinova Yu. E. ORCID: 0000-0002-0422-2060, Markin I. V. ORCID: 0000-0001-9922-401X, Krylov A. V. ORCID: 0000-0001-5952-8430, Rogozina N. V. ORCID: 0000-0003-0968-6291, Bekhtereva M. K. ORCID: 0000-0003-2923-1630, Tyan N. S. ORCID: 0000-0002-9799-5280, Orlova E. D. ORCID: 0000-0003-3971-0117, Donnikov M. Yu. ORCID: 0000-0003-0120-4163, Kovalenko L. V. ORCID: 0000-0002-0918-7129, Kolbasin L. N. ORCID: 0000-0002-2721-0150, Glotov A. S. ORCID: 0000-0002-7465-4504, Glotov O. S. ORCID: 0000-0002-0091-2224.

*Corresponding author:
pancu43@gmail.com

Received: 12/09-2022

Revision Received: 15/10-2022

Accepted: 02/11-2022

For citation: Kalinin R. S., Goleva O. V., Illarionov R. A., Tsai V. V., Mukomolova A. L., Konstantinova Yu. E., Markin I. V., Krylov A. V., Rogozina N. V., Bekhtereva M. K., Tyan N. S., Orlova E. D., Donnikov M. Yu., Kovalenko L. V., Kolbasin L. N., Glotov A. S., Glotov O. S. Development of a biobank in the structure of scientific and diagnostic and treatment institutions and prospects for interregional integration. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3401. doi:10.15829/1728-8800-2022-3401. EDN MYGKEL

БРК — биоресурсная коллекция, ГОСТ Р ИСО — система стандартизации в РФ, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, РНК — рибонуклеиновая кислота, СОП — стандартная операционная процедура(-ы), БУ ВО ХМАО-Югры "СурГУ" — бюджетное учреждение высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа — Югры "Сургутский государственный университет", СурГУ — Сургутский государственный университет, ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России — ФГБУ "Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства", ФГБНУ "НИИ АГР им. Д. О. Отта" — ФГБНУ "Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта", ХМАО-Югры — Ханты-Мансийский автономный округ — Югра, ISO — International Organization for Standardization (международная организация по стандартизации), NGS — next generation sequencing (секвенирование нового поколения).

Введение

Для современных исследований, затрагивающих такие области биомедицины, как генетика, эмбриология, репродуктология, патофизиология и другие, необходимы высокие требования к качеству исследуемого биоматериала, используемого как в научных, так и для практических целей. В связи с этим создание биобанков, как структурных подразделений научно-исследовательских и клинических медицинских центров, становится общемировой тенденцией, целью которой является создание ресурсов для развития различных направлений в области здравоохранения, в т.ч. персонализированной медицины.

Под термином "Биобанк" подразумевается специализированное хранилище биологических материалов (биорепозитория), используемых в научных и медицинских целях. Идея создания биобанков для сбора и хранения тканей и биологических жидкостей, полученных от человека, с последующим их исследованием, не нова. Первое использование термина "биобанк" было представлено в научных публикациях 1996г [1, 2]. Несмотря на то, что данный термин был предложен в прошлом столетии, на сегодняшний день нет единого мнения о его точном определении. Со временем Организация экономического сотрудничества и развития (Organisation for Economic Cooperation and

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Биобанки являются неотъемлемой частью современных научных и диагностических исследований, благодаря стандартизации работы с биологическими образцами и получению высококачественного биоматериала.
- Коллекция биообразцов пациентов с наследственными, многофакторными и инфекционными заболеваниями и наличие данных анамнеза, клинико-лабораторного, инструментального обследований и данных об исходе заболевания позволяют обеспечить мониторинг и прогнозирование заболеваний различного генеза.

Что добавляют результаты исследования?

- Создана и охарактеризована уникальная биоресурсная коллекция образцов пациентов с наследственными, мультифакторными и инфекционными заболеваниями, а также взрослого коренного населения Ханты-Мансийского автономного округа, как с различными инфекционными заболеваниями, так и генетическими особенностями нации.
- Биоресурсная коллекция может быть использована в фундаментальных и прикладных научных исследованиях, валидационных экспериментах.

Key messages

What is already known about the subject?

- Thanks to the standardization of work with biological samples and the production of high-quality biomaterial, biobanks become an integral part of modern research and diagnostic investigations.
- The collection of biosamples of patients with genetic, multifactorial and infectious diseases and the availability of history data, clinical and laboratory, instrumental examinations and data on the outcome of the disease will allow monitoring and predicting diseases of various origins.

What might this study add?

- A unique bioresource collection of samples from patients with genetic, multifactorial and infectious diseases, as well as of the adult indigenous population of the Khanty-Mansi Autonomous Okrug, both with various infectious diseases and genetic characteristics, was created and characterized.
- The bioresource collection can be used in basic and applied research, validation experiments.

Development, OECD) ввела для биобанка определение: "набор биологического материала и связанных с ним данных и информации, хранящихся в организованной системе, для популяции или большой подгруппы популяции" [3, 4].

Для стандартизации процесса создания биобанков международная организация по стандартизации (International Organization for Standardization, ISO) разработала и представила целый ряд стандартов, которые имеют общие требования для создания структур биоресурсных коллекций: ISO 9001¹, ISO 15189², ISO 17025³, ISO 17034⁴, ISO 20387⁵. На основании стандарта ISO 20387:2018 "ISO 20387:2018, Biotechnology — Biobanking — General requirements for biobanking", Федеральное агентство по техническому регулированию и метроло-

гии в 2021г выпустило отечественный ГОСТ Р ИСО 20387-2021 "Биотехнология. Биобанкинг. Общие требования"⁶.

Для эффективной работы биобанков и создания качественной биоресурсной коллекции (БРК) необходимо выполнение требований надежности, безопасности и качества собранного биоматериала. Для удовлетворения данных критериев существуют стандарты ISO, которые представляют собой правила, рекомендации, процессы, спецификации или характеристики для стандартизации процедур и предоставления пользователям возможности выполнять задачи последовательным и повторяемым образом [5]. Также для повышения качества и воспроизводимости результатов исследований биологические образцы в БРК должны быть качественно описаны, для этого в 2011г были разработаны "Рекомендации по описанию биообразцов для улучшения качества исследований" [6], а в 2019г была опубликована адаптированная русскоязычная версия рекомендаций [7]. Кроме этого, не стоит забывать про стандартные операционные процедуры (СОП), в которых необходимо описать процесс сбора, об-

¹ ISO 9001:2015. Quality management systems — Requirements.

² ISO 15189:2012. Medical laboratories — Requirements for quality and competence.

³ ISO 17025:2017. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

⁴ ISO 17034:2016. General requirements for the competence of reference material producers.

⁵ ISO 20387:2018. Biotechnology — Biobanking — General requirements for biobanking.

⁶ ГОСТ Р ИСО 20387-2021, Биотехнология. Биобанкинг. Общие требования. Москва. Российский институт стандартизации.

работки биоматериала, его регистрацию в базе данных, либо программе ввода данных; указать температурные режимы и сроки хранения биообразцов до обработки и во время хранения, также необходимо отметить подготовку биоматериала к транспортировке в "Биобанк".

В современных условиях уже появились и успешно функционируют специализированные ассоциации отечественного и международного уровня, в задачи которых входит создание интеграционных связей и обучение правилам биобанкирования для улучшения процессов стандартизации биоколлекций, являющихся "жизненно важной" основой всей подготавливаемой научно-технической продукции, создаваемой в процессе научных изысканий [8]. Коллекционирование и стабильная сохранность биообразцов дает возможность повторного, более полного исследования материалов с использованием разрабатываемых и внедряемых инновационных методов анализа, что позволяет вывести на новый уровень исследования в области наследственных заболеваний, онкологии, а также осуществлять непрерывный контроль эпидемически значимых инфекций, выявлять их связь с развитием социально-значимых болезней и патологических состояний. Кроме этого, благодаря динамично развивающейся отрасли, связанной с диагностикой инфекционных заболеваний и созданию более чувствительных методов исследований, возможно выявлять патогенные формы возбудителей болезней среди пациентов, которые относятся к группе "условно здоровые", а также проводить обучение медицинского персонала, ординаторов, аспирантов, врачей диагностических служб и смежных специальностей.

Материал и методы

Документация и разработка СОП для реализации этапов создания БРК

Согласно требованиям, к проведению научных исследований, разработаны: информированное согласие участника исследования, карта клинических данных, информационное письмо и информационный лист для участника исследования в соответствии нормативно-правовыми актами⁷. Предоставляемые пациенту документы содержат полную информацию о целях и задачах исследования, его этапах, возможных рисках, преимуществах участия в исследовании, возможности его прекращения, условиях конфиденциальности, а также данные о возможных вариантах применения полученных результатов для реализации научно-исследовательских задач. Дизайн исследования одобрен этическим комитетом при ФГБУ "Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства" (ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России) (протокол № 152 от

10.10.2021г) и этическим комитетом при БУ ВО ХМАО-Югры Сургутский государственный университет (СурГУ) (протокол № 17 от 21.10. 2021г).

Опираясь на опыт эффективно функционирующих Биобанков, являющихся участниками Национальной ассоциации биобанков и специалистов по биобанкированию (НАСБИО) [2], а также руководствуясь ГОСТ Р ИСО 20387-2021, в ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России и в Медицинском институте СурГУ были разработаны и внедрены СОП для использования единых стандартов биобанкирования, что, в свою очередь, позволило обеспечить высокое качество хранящихся образцов и согласованность действий участников межрегиональной интеграции биобанков.

Примером для организации БРК на базе ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России и Медицинского института при БУ ВО "СурГУ" послужил опыт биобанкирования, организованного ранее в отделе геномной медицины ФГБНУ "НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта" (ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта"). Создание новых БРК основывалось на алгоритме, который включает в себя пошаговые инструкции для медицинского и лабораторного персонала, участников создания БРК, на каждом этапе доставки, сбора, обработки и хранения БРК (рисунок 1) [9].

При разработке СОП для формирования БРК на базе ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России и Медицинского института при БУ ВО СурГУ, был использован опыт создания СОП ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта", с оптимизацией под особенности данного учреждения.

Для медицинского персонала, осуществляющего сбор биоматериалов непосредственно от пациентов при поступлении в стационары клиники при динамическом наблюдении, были разработаны и внедрены:

- документация (информированное согласие пациента, законного представителя пациента, не достигшего 18 лет, анкета и информационный лист для участника исследования);
- СОП взятия различных биоматериалов;
- электронный каталог (электронная база данных участников исследования).

Для персонала лабораторных служб, на базе которых организован сбор и хранение БРК, были разработаны и внедрены СОП с целью стандартизации этапов:

- пробоподготовки биообразцов;
- контроля качества биообразцов;
- хранения биообразцов;
- анализа полученных данных исследования биообразцов.

Разработанные СОП включают всю необходимую информацию о процедуре преаналитического этапа, сбора биообразцов, об условиях хранения и транспортировки биоматериала до передачи в лабораторию; пошаговую инструкцию о пробоподготовке, контроле качества полученных образцов, информацию об условиях и температуре их хранения.

Отбор биообразцов для создания БРК

Сбор биоматериала осуществляется согласно разработанным СОП и правилам проведения преаналитического этапа. Отбору подлежат в основном следующие биоматериалы:

- Периферическая кровь для последующего фракционирования (цельная кровь, плазма, лейкоцитарная

⁷ Федеральный закон "О персональных данных" от 27.07.2006 № 152-ФЗ, Федеральный закон "О биомедицинских клеточных продуктах" от 23.06.2016 № 180-ФЗ) и ГОСТ Р ИСО 14155-2014 "Клинические исследования. Надлежащая клиническая практика".

воротка) помещается в вакуумные пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) 9/4 мл — 1 шт.; вакуумные пробирки с активатором свертывания крови 9/4 мл — 1 шт.;

- Назофарингеальный мазок отбирается в транспортную среду;
- Соскоб буккального эпителия отбирается в транспортную среду;
- Моча собирается в пластиковый контейнер для анализов (не <40 мл);
- Кал собирается в пластиковый контейнер для анализов;
- Ногтевые пластины с каждой руки собираются в герметично закрываемый полиэтиленовый пакет;
- Волосыные фолликулы (не <10 шт.) собираются в герметично закрываемый полиэтиленовый пакет.

Заполненные контейнеры с биоматериалами маркируются оригинальным идентификационным номером для защиты персональных данных с указанием времени забора образца у пациента; хранение осуществляется в холодильной камере (+4° С) не >2 ч до передачи лабораторному персоналу для проведения пробоподготовки перед долгосрочным хранением БРК.

Анамнестическая и клиническая информация о пациенте, биоматериал которого закладывается в биорефераторий, собирается лечащим врачом пациента и/или медицинским персоналом непосредственно при поступлении больного в стационар медицинского учреждения и далее на протяжении всего периода наблюдения в точках контроля динамики заболевания. Вся получаемая информация о пациентах вносится в электронную базу данных, каждому пациенту присваивается уникальный номер. Персональные данные пациентов (на бумажных и электронных носителях) защищены и хранятся в каталогах с ограниченным доступом.

Сбор коллекции биообразцов в ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России и в Медицинском институте СурГУ происходит двумя способами: основная часть биологических образцов собирается в клинических подразделениях учреждений, дополнительная — в других партнерских организациях (медицинские учреждения г. Санкт-Петербурга, с которыми заключены договоры о сотрудничестве, в случае ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России или медицинскими учреждениями Ханты-Мансийского автономного округа — Югры, Медицинского института СурГУ).

Транспортировка, обработка и хранение биообразцов

Первичные контейнеры с биоматериалами транспортируются в лабораторию (отдел), согласно СОП о правилах транспортировки, в термоконтейнере с хладоэлементами при температуре от +4° до +8° С. После получения биоматериала производится его обработка, согласно СОП о правилах подготовки БРК перед размещением в биорефераторий. Методы обработки и условия хранения образцов представлены в таблице 1. В коллекции присутствуют следующие типы образцов:

- Периферическая кровь;
 - Цельная кровь;
 - Сыворотка крови;
 - Плазма крови;
 - Лейкоцитарная пленка;
- Соскоб буккального эпителия;
- Назофарингеальный мазок;

- Супернатант и осадок мочи;
- Кал;
- Супернатант кала;
- Ногтевые пластины;
- Волосыные фолликулы.

Методы обработки биообразцов и условия последующего хранения БРК представлены в таблице 1.

Хранение биообразцов осуществляется согласно СОП о правилах хранения БРК в криохранилищах биобанка научно-исследовательской или диагностической лаборатории при -80° С с использованием ультранизкотемпературного морозильника, например, HAIER (DW-86L338).

Хранение образцов, содержащих патогенные биологические агенты (ПБА) III-IV групп патогенности, в дальнейшем осуществляется в соответствии с СанПиНом непосредственно в лабораторных помещениях, оснащенных низкотемпературными морозильниками.

Электронная база данных БРК

Электронная база разработана с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel и созданием пароля к файлу, с целью обеспечения доступа для узкого круга лабораторного персонала. Бумажные носители с персональными данными пациентов хранятся в сейфе, с ограниченным доступом для сотрудников; ключ от помещения находится на ответственном хранении у ответственного лица, на основании Федерального закона "О персональных данных" от 27.07.2006 № 152-ФЗ. Электронная база данных БРК включает в себя информацию об образцах, полученных из лабораторной информационной системы, а также содержит дополняющие данные, в т.ч. информацию о количестве аликвот каждого типа образца; информация, о месте и условиях хранения аликвот биообразцов; информация о кратности использования, перемещениях и температурных режимах хранения биообразцов в процессе исследований и т.д.

Результаты

Описание БРК

В ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта" ранее создана БРК "Репродуктивное здоровье человека" на базе Биобанка "Генофонд". Коллекция включает биообразцы от контрольных здоровых доноров и больных с распространенными заболеваниями, влияющими на репродуктивное здоровье человека. В состав БРК входят различные типы биообразцов (компоненты крови, моча, соматические и половые клетки, биоптаты плаценты, пуповинная кровь и др.). Это уникальная коллекция материалов от беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров осложнений беременности, где образцы собираются проспективно с первого триместра беременности до момента родоразрешения. Помимо этого, данная БРК включает в себя коллекции биообразцов от пациентов с моногенными заболеваниями, сахарным диабетом 2 типа, популяционные коллекции.

Уникальностью БРК, созданной на базе ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, является возрастная особенность пациентов, а также инфицированность за-

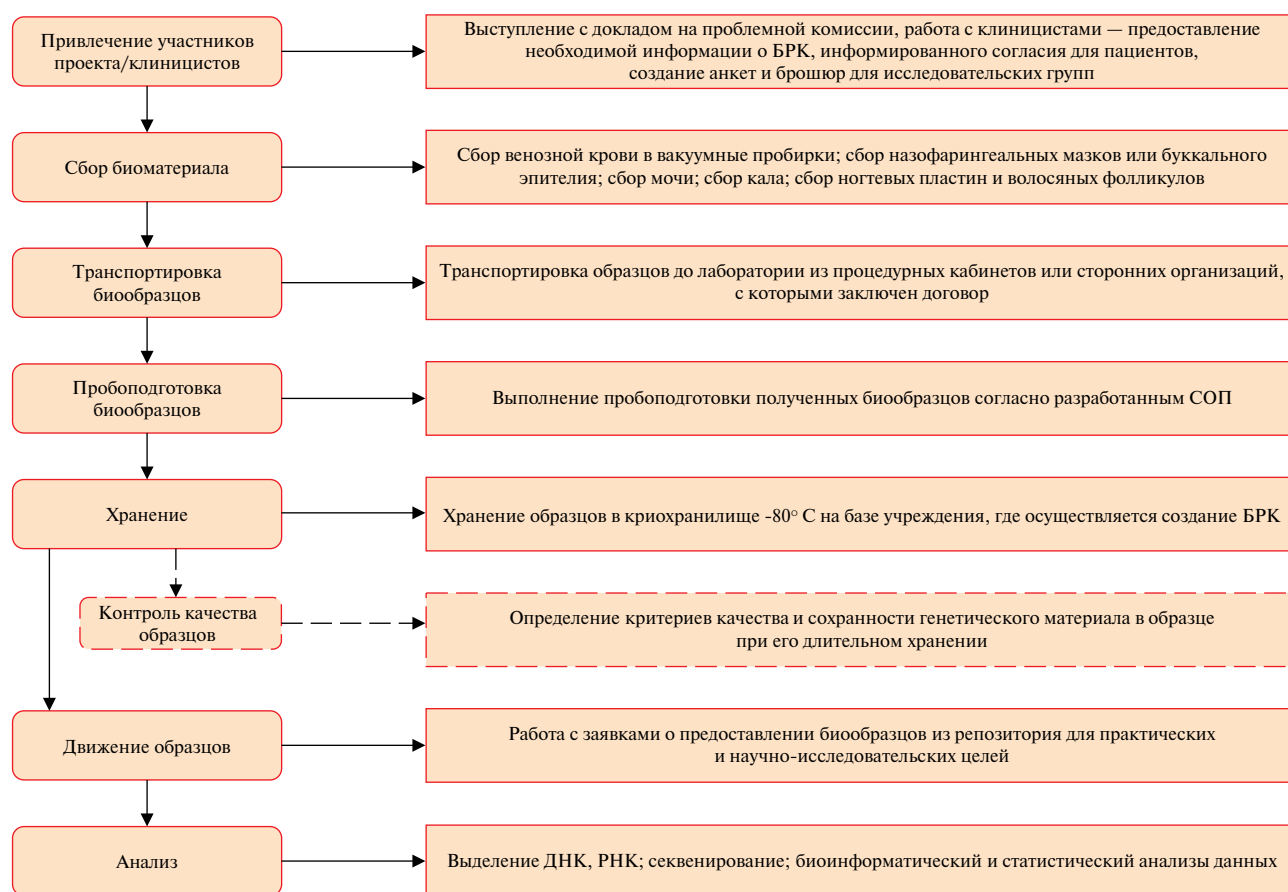


Рис. 1 Алгоритм создания БРК [9].

Примечание: БРК — биоресурсная коллекция, СОП — стандартная операционная процедура(-ы).

Таблица 1

Обработка и условия хранения биообразцов

Источник биообразца	Метод обработки	Условия хранения	Тип образца для хранения
Цельная кровь	Центрифугирование, 1600 g, $+4^{\circ}\text{C}$; центрифугирование, 2500 g, $+4^{\circ}\text{C}$	Замораживание при -80°C	Плазма
Цельная кровь	Центрифугирование, 1600 g, $+4^{\circ}\text{C}$; буфер для лизиса эритроцитов; фосфатный буфер; реагент для стабилизации РНК в тканях "RNALater"	Хранение при $+4^{\circ}\text{C}$ в течение ночи, далее замораживание при -80°C	Лейкоцитарная пленка
Цельная кровь	Центрифугирование, 3000 g, $+4^{\circ}\text{C}$	Замораживание при -80°C	Сыворотка
Цельная кровь	—	Замораживание при -80°C	Цельная кровь
Моча	Центрифугирование, 3000 g, $+4^{\circ}\text{C}$	Замораживание при -80°C	Супернатант мочи
Моча	Центрифугирование, 3000 g, $+4^{\circ}\text{C}$; фосфатный буфер	Замораживание при -80°C	Осадок клеток
Кал	Фосфатный буфер; Центрифугирование, 3000 g, $+4^{\circ}\text{C}$	Замораживание при -80°C	Супернатант кала
Кал	—	Замораживание при -80°C	Каловая масса
Ногтевые пластины	—	Замораживание при -80°C	Ногтевые пластины
Волосяные фолликулы	Волос должен быть извлечен с волосяным фолликулом, длина образца 4-5 мм.	Замораживание при -80°C	Волосяные фолликулы

болеваниями, переносимыми в детском и подростковом возрасте с возможным развитием различных патологических состояний. В научно-клиническом

центре существуют различные научные подразделения (отделы): вирусных гепатитов и заболеваний печени; врожденной инфекционной патологии; ин-

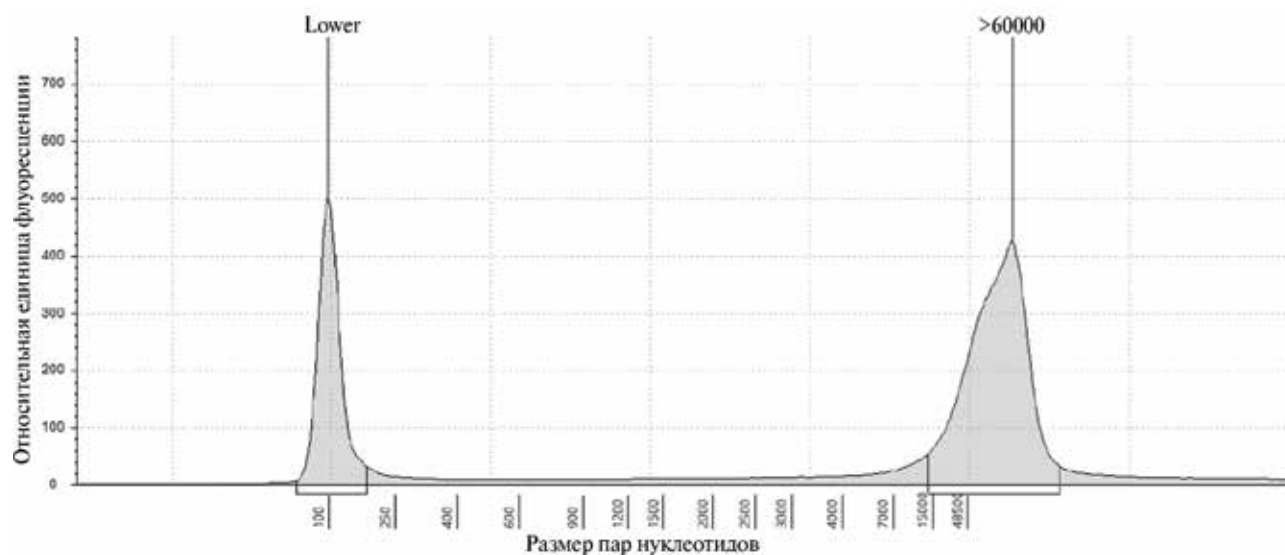


Рис. 2 Электрофореграмма геномной ДНК.

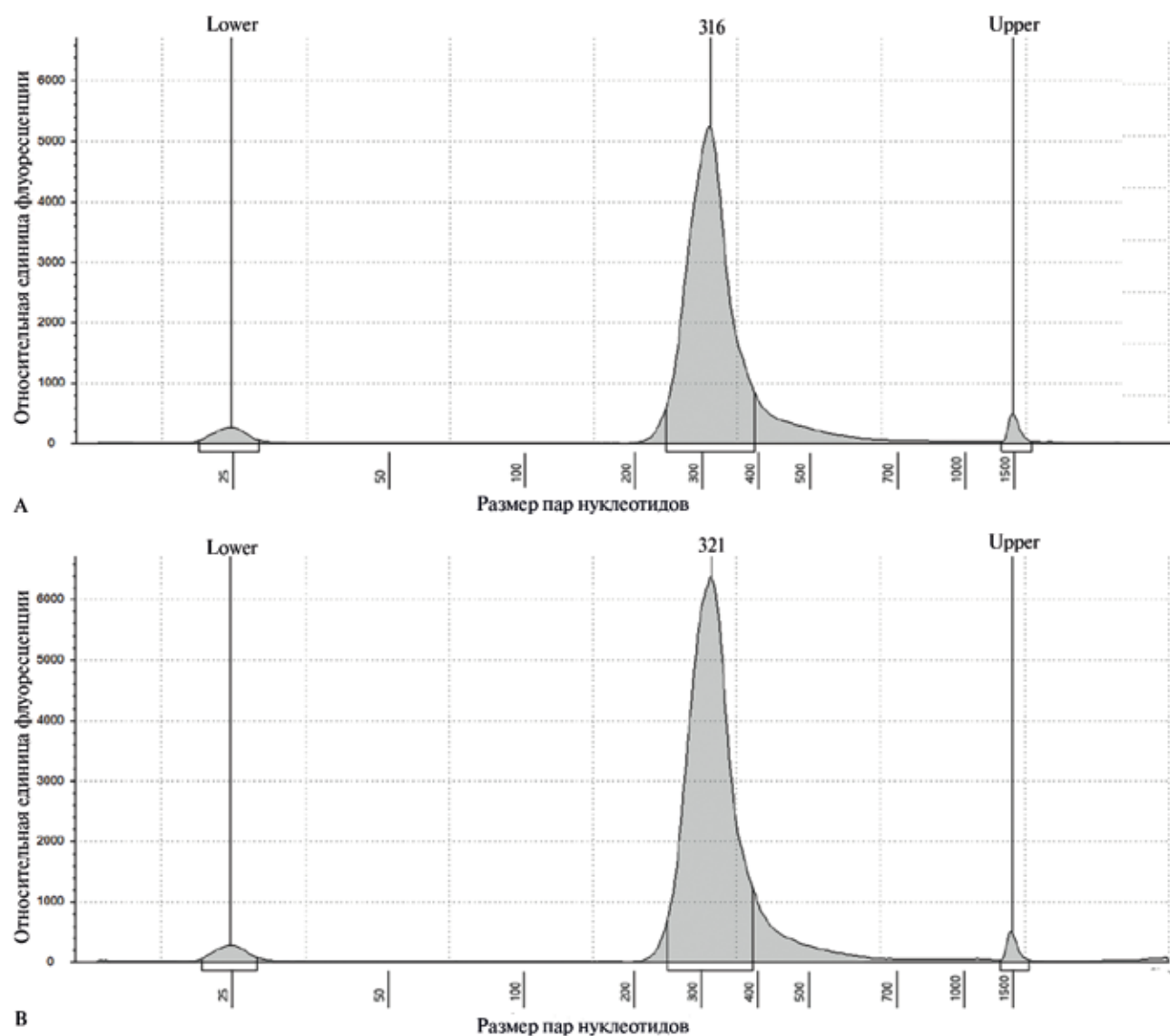


Рис. 3 Электрофореграмма библиотек ДНК (А — свежий образец цельной крови, В — после хранения 6 мес.).

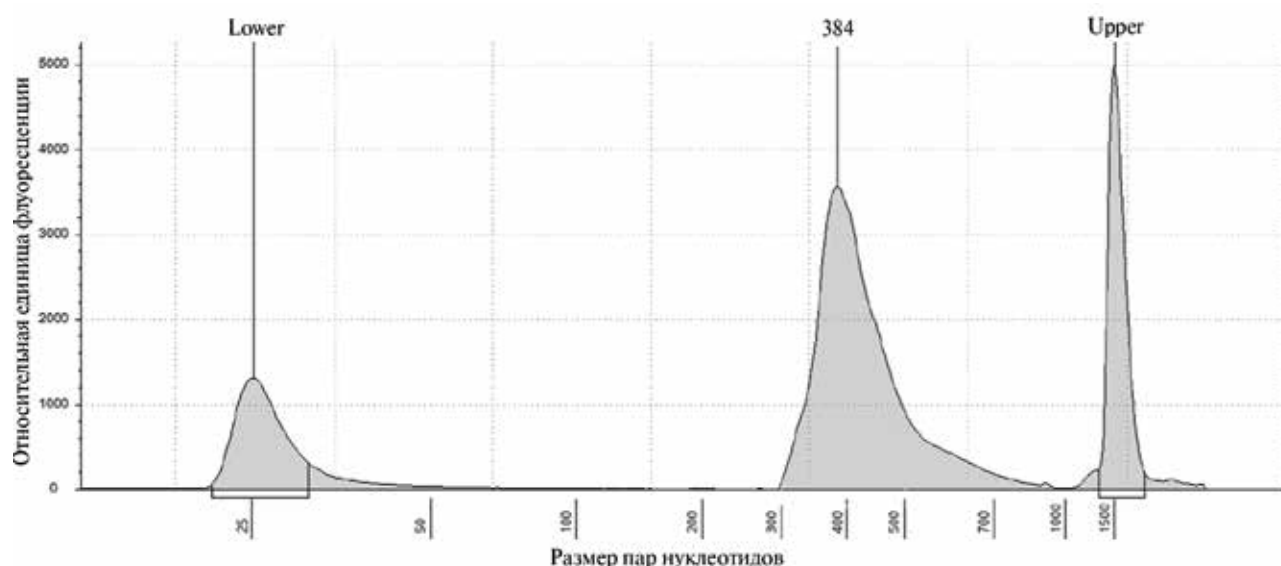


Рис. 4 Электрофореграмма библиотеки комплементарной ДНК.



Рис. 5 Структура межрегиональной интеграции БРК.

тенсивной терапии неотложных состояний; кишечных инфекций; нейроинфекций и органической патологии нервной системы; профилактики инфекционных заболеваний; реабилитации и восстановительной терапии; респираторных (капельных) инфекций. Благодаря широкому спектру научных отделов центра возможен сбор коллекций различных биологических материалов, полученных от пациентов из регионов РФ, в первую очередь из Северо-Западного региона, жителей г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области, поступающих в стационар клиники центра и на амбулаторно-диагностические отделения с проведением полного сбора анамнеза и клиничко-диагностического обследования в пер-

вые дни госпитализации или обращения с последовательным установлением этиологии каждого конкретного заболевания. На сентябрь 2022г БРК ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России включает биологические образцы от 1619 человек (пациенты с различными инфекционными, наследственными заболеваниями и условно здоровые лица).

Уникальность БРК на базе Медицинского института БУ ВО "СурГУ" основана на сборе биоматериалов от взрослого коренного населения Ханты-Мансийского автономного округа (ХМАО) как с различными инфекционными заболеваниями, так и генетическими особенностями нации. В Медицинском институте СурГУ имеются следующие структурные подразделения института: кафедра морфологии и физиологии, патофизиологии и общей патологии; хирургических болезней; внутренних болезней; детских болезней; акушерства; гинекологии и перинатологии; кардиологии; многопрофильной клинической подготовки. Материально-техническая база представлена целым рядом лечебно-профилактических учреждений города, а также имеются вузы-партнеры в областях, граничащих с ХМАО-Югра. На сентябрь 2022г БРК Медицинского института СурГУ включает биологические образцы от 450 человек (пациенты с постковидным синдромом, наследственными, онкологическими заболеваниями и условно здоровые лица).

Целенаправленный сбор биологических материалов на базе медицинских учреждений с функционированием БРК позволяет проводить научные исследования и выполнять инновационные практические разработки, которые могут охватывать все категории и возрастные группы населения.

На сегодняшний день, благодаря созданным на базе ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России и Меди-

Таблица 2

Контроль качества ДНК

Срок хранения, мес.	Концентрация ДНК, нг/мкл	Соотношение A260/280	Соотношение 260/230	Число целостности ДНК
0	80±13	1,9±0,1	1,9±0,1	9,6±0,2
1	79±22	1,9±0,1	1,9±0,1	9,7±0,1
3	87±17	1,9±0,1	1,9±0,1	9,3±0,4
6	74±20	1,9±0,1	1,9±0,1	9,6±0,3

Примечание: данные представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее, m — ошибка среднего.

Таблица 3

Критерии для создания новой БРК

Критерии	ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта"	ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России	Медицинский институт СурГУ
Оснащение необходимой инфраструктурой для создания БРК	В наличии	В наличии	В наличии
Технологический паспорт с описанием полного набора СОПов	В наличии	В наличии	В наличии
Характеристика образцов БРК	В наличии	В наличии	В наличии
Создание системы электронной базы данных	В наличии	В наличии	В наличии
Инвентаризация и систематизация существующих коллекций	В наличии	В наличии	В наличии
Вхождение в состав НАСБИО	В наличии	Отсутствует	Отсутствует
Регистрация образцов БРК в качестве уникальной научной установки	В наличии	Отсутствует	Отсутствует
Российская веб-платформа для работы с каталогом биообразцов	В наличии	Отсутствует	Отсутствует

Примечание: БРК — биоресурсная коллекция, СОП — стандартная операционная процедура(-ы).

цинского института СурГУ биобанкам, появились предпосылки для инициирования и эффективного выполнения различных научно-исследовательских проектов. В частности, БРК, собранная в Медицинском институте СурГУ, в высокой степени задействована в рамках выполнения гранта: "Создание биобанка с образцами биоматериалов пациентов с наследственными, мультифакторными инфекционными заболеваниями" в рамках группы проектов: "Новые подходы к генетической диагностике, лечению и профилактике частых наследственных заболеваний в ХМАО-Югре". БРК в ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России способствует выполнению государственного задания (шифры 022-02 "Разработка тактики комплексной вирусологической диагностики инфекции, ассоциированной с бетагерпесвирусом человека 6 типа А/В, у детей", 023-02 "Определение генетических факторов риска развития COVID-19" и 025-02 "Разработка инновационных подходов к диагностике генотипов вируса *varicella zoster* и их роли в формировании течения заболевания").

Контроль качества биообразцов

Для проверки контроля качества биоматериалов БРК ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России и БРК БУ ВО СурГУ случайным образом отобрали образцы со сроком хранения 1, 3 и 6 мес. Исследуемым ма-

териалом послужили плазма, сыворотка, цельная кровь и назофарингеальный мазок. Контроль качества осуществляли с помощью оценки качества полученных библиотек дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) для секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS), а также оценки вирусной нагрузки методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (РТ-ПЦР), в аликвотах биоматериала с различным периодом хранения.

Качество ДНК и рибонуклеиновой кислоты (РНК) оценивали путем измерения концентрации с помощью реагентов QuantiFluor® dsDNA System и QuantiFluor® RNA System на приборе Quantus™ Fluorometer. Целостность ДНК и РНК оценивали с использованием автоматического капиллярного гель-электрофореза на приборе "4150 TapeStation Instrument" (Agilent Technologies), соотношения длин волн A260/A280 и A260/A230 — на спектрофотометре "Nanodrop 2000C" (Thermo Scientific). Таким же образом проводили контроль качества подготовленных библиотек ДНК и РНК для NGS.

Выполнение контроля качества биологических образцов, входящих в состав БРК, демонстрирует соответствие характеристик образцов всем предъявленным требованиям. Средние значения концентраций, соотношение A260/A280, A260/A230 и целостности образцов ДНК образцов с разным

сроком хранения были в пределах следующих пороговых значений: для соотношения A260/A280 порог значений $\geq 1,8$ указывает на чистый образец ДНК, для соотношения A260/A230 порог значений $< 1,8$ указывает на загрязнение, вызванное органическими соединениями или хаотропными агентами, которые поглощают свет на длине волны 230 нм, число целостности ДНК > 8 . Полученные данные в ходе оценки качества хранения биообразцов представлены в таблице 2.

В ходе оценки целостности ДНК после выделения, с помощью автоматического капиллярного гель-электрофореза (рисунок 2), фрагментов деградации ДНК выявлено не было. Качество библиотек ДНК, приготовленных из свежей цельной крови и из цельной крови после 6 мес. хранения, также оценивали на системе капиллярного гель-электрофореза (рисунок 3). Их качество соответствовало рекомендованным значениям инструкций к соответствующим наборам: длине фрагмента (~ 320 пар оснований) и концентрации (> 20 нг/мкл). Качество библиотеки комплементарной ДНК, материалом для которой послужила РНК, выделенная из назофарингеального мазка после 3 мес. хранения, также оценивали на системе капиллярного гель-электрофореза (рисунок 4). Качество библиотеки соответствовало рекомендованным значениям инструкций к соответствующим наборам: длине фрагмента (~ 400 пар оснований) и концентрации (> 10 нг/мкл). Данные параметры свидетельствуют о высоком качестве получаемого материала и его стабильности при долгосрочном хранении, что обеспечивает использование образцов коллекции для научно-исследовательских целей. В дальнейшем планируется проверять качество биообразцов после более длительных периодов хранения.

Взаимодействие биобанков

Общей идеей взаимодействия между биобанками ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта", ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России и Медицинского института БУ ВО СурГУ является обмен опытом работы в направлении оптимизации подготовки и хранения биоматериалов с целью проведения высококачественных совместных исследований. Отметим, что БРК на базе различных медицинских учреждений по-своему уникальна, т.к. основывается на профиле заболеваний, характерном для каждого из перечисленных учреждений. Однако в каждом учреждении существуют научные направления, которые позволяют заключить научные договоры друг с другом, обмениваться биопробами (рисунок 5).

Важность создания межструктурных и межрегиональных взаимодействий продиктована анализом этиологической структуры инфекций в детской популяции г. Санкт-Петербурга, по данным ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России за 2021г, который показал

превалирование в структуре острых кишечных инфекций (ОКИ) неуточненных случаев (48%) и случаев вирусного поражения (40%), бактериальная инфекция зарегистрирована в 12% случаев; в структуре острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) вирусная неуточненная форма регистрировалась в 44% случаев, уточненные вирусные инфекции отмечены в 46% случаев; в структуре заболеваний печени неуточненный вирусный гепатит регистрировался в 3,7% случаев. Благодаря помещению биоматериала в биорепопозиторий и развитию молекулярных методов диагностики возможно дальнейшее исследование заболеваний с неуточненной этиологией для осуществления более качественной и быстрой медицинской помощи детям.

Помимо этого, нами были сформулированы основные критерии создания БРК, основанные на опыте коллег из ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта" (таблица 3). В таблице критерии представлены по градации от наиболее ключевых к менее важным.

Обсуждение

Как известно, основной проблемой отсутствия перехода научных исследований в клиническую практику является невоспроизводимость результатов. Поэтому именно качество биообразцов, находящихся в любом биобанке, использование стандартизированных подходов и принципов при формировании БРК гарантирует возможность проведения корректного исследования. Регулярная оценка качества позволяет минимизировать риски возникновения изменений в образцах в течение длительного времени хранения и повышает уровень достоверности результатов исследований [10].

В ходе формирования биобанков нами установлено, что наиболее частой проблемой создания БРК, на примере ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России и Медицинского института БУ ВО СурГУ, является работа с медицинским персоналом в пунктах забора биоматериала. В нашем случае ошибки в преаналитике выявлялись на этапах сбора биообразцов и их транспортировки в лабораторию (отдел), несмотря на предоставленные СОП. В результате биоматериал в связи с его некорректным забором был утилизирован. Например, во время взятия назофарингеального мазка зонд был помещен не в пробирку с транспортной средой, а в полужидкий агаровый столбик пробирки. Установлены нарушения условий транспортировки, например, после взятия крови у пациента пробирка с биоматериалом не была доставлена в срок, прописанный в СОПе, и хранилась при комнатной температуре, в результате чего произошел гемолиз.

Имея пример успешного создания биобанка на базе отдела геномной медицины ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта", в работу вновь создаваемых биобанков г. Санкт-Петербурга и г. Сургута были

внесены коррективы, позволяющие своевременно избегать ошибок на преаналитическом этапе посредством коммуникативного общения с персоналом процедурных кабинетов для контроля критических моментов при получении и транспортировке биообразцов в лабораторию. После нескольких встреч с клиницистами и медицинским персоналом нам удалось избежать дальнейших ошибок и добиться высококачественных результатов.

В свою очередь, проверка качества биообразцов, хранящихся в биобанке, очень важна для приготовления библиотек и последующего NGS. Проведенный нами анализ качества с последующей проверкой сравнения результатов секвенирования, подготовленных NGS библиотек из биообразцов, взятых в исследование в день поступления крови в лабораторию (отдел), и тех же образцов со сроком хранения 6 мес., показал отсутствие различий в результатах после биоинформатической обработки данных.

Во время формирования ключевых критериев, которым должны отвечать биобанки, в качестве основных были выделены качество и эффективность БРК. Кроме того, необходимо отметить, что немаловажными компонентами в оптимальной работе биобанков являются оснащение необходимой инфраструктурой БРК, технологический паспорт с описанием полного набора СОПов, характеристика образцов БРК, создание системы электронной базы данных, инвентаризация и систематизация существующих коллекций. Менее значащими на этапе формирования биобанка оказались следующие критерии создания БРК: членство в Национальной ассоциации биобанков и специалистов по биобанкированию (НАСБИО), регистрация БРК образцов в качестве уникальной научной установки, участие в создании российской веб-платформы для работы с каталогом биообразцов. Это вполне соответствует опыту вновь создаваемых биобанков, которые описаны в международной литературе и международных школах для сотрудников биобанков [11].

Заключение

Создание БРК продиктовано необходимостью сохранения информации о динамических изменениях патогенных агентов, подбором биообразцов

пациентов различной расовой, гендерной принадлежности и возрастных особенностей, что является стратегически значимым заданием для будущих исследований, в ходе которых могут быть получены инновационные передовые лабораторные диагностические технологии и новые данные как о макро-, так и о микроорганизмах. Согласно нашему опыту, вновь создаваемым БРК следует уделять особое внимание в плане строгой, единообразной характеристики биоматериалов, выявления этиологической составляющей, генетических особенностей. Кроме того, БРК обязательно должна быть охарактеризована с учетом эпидемиологических особенностей, вида и качества биоматериала.

Имея необходимую информацию о коллекции биообразцов от пациентов с различными генетическими заболеваниями или заболеваниями, вызванными вирусными патогенами, можно не только выполнять научно-исследовательские программы, но и проводить клинические испытания наборов реагентов, осуществлять поиск мутаций при генетическом заболевании, либо для выявления того или иного возбудителя в случае вирусной инфекции.

В настоящее время в научном и медицинском сообществе существует запрос на использование охарактеризованных коллекций биообразцов, т.е. БРК. Применение хорошо охарактеризованного, прошедшего контроль качества материала дает возможность проводить клинические испытания медицинских изделий, в частности диагностических тест-систем, с последующим получением регистрационных удостоверений, разрешающих их применение на территории Российской Федерации.

Наиболее слабой стороной при создании биобанка оказалась работа с персоналом процедурных кабинетов, однако после нескольких встреч и детального обсуждения разработанных СОП для забора биоматериала под определенные исследования, данная проблема была решена. Также решением подобных проблем может служить вступление в ассоциацию биобанков, либо обращение к примеру создания других биобанков и их особенностей.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2022-05-02 и № 2022-05-04.

Литература/References

1. Prinz F, Schlange T, Asadullah K. Believe it or not: how much can we rely on published data on potential drug targets? *Nat Rev Drug Disc.* 2011;10(9):712. doi:10.1038/nrd3439-c1.
2. 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.
3. Hewitt R, Watson P. Defining biobank. *Biopreserv Biobank.* 2013;11:309-15. doi:10.1089/bio.2013.0042.
4. OECD. Creation and Governance of Human Genetic Research Databases. OECD Publishing, Paris. 2006. doi:10.1787/9789264028531-en.
5. Ilesanmi OS, Afolabi AA. Biobanking of COVID-19 specimens during the pandemic: The need for enhanced biosafety. *Afr J Lab Med.* 2021;10(1):1379. doi:10.4102/ajlm.v10i1.1379.
6. Moore HM, Kelly AB, Jewell SD, et al. Biospecimen reporting for improved study quality (BRISQ). *Cancer Cytopathol.* 2011;119:92-101. *J Proteome Res.* 2011;10:3429-3438. *Biopreserv Biobank.* 2011;9:57-70. doi:10.1089/bio.2010.0036.
7. Sivakova OV, Pokrovskaya MS, Metelskaya VA, et al. International rules for description of biospecimens are an important factor in improving the quality of researches. *Profilakticheskaya Meditsina.* 2019;22(6):95-9. (In Russ.) Сивакова О.В., Покровская М.С., Метельская В.А. и др. Международные правила описания биообразцов — важный фактор повышения качества научных исследований. *Профилактическая медицина.* 2019;22(6):95-9. doi:10.17116/profmed20192206295.
8. Anisimov SV, Meshkov AN, Glotov AS, et al. et al. National Association of Biobanks and Biobanking Specialists: New Community for Promoting Biobanking Ideas and Projects in Russia. *Biopreserv Biobank.* 2021;19:73-82. doi:10.1089/bio.2020.0049.
9. Illarionov RA, Kosyakova OV, Vashukova ES, et al. Collection of samples from women at different stages of pregnancy to search for early biomarkers of preterm birth. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2020;19(6):2708. (In Russ.) Илларионов Р.А., Косякова О.В., Вашукова Е.С. и др. Особенности создания коллекции образцов беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров преждевременных родов. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2020;19(6):2708. doi:10.15829/1728-8800-2020-2708.
10. Liu Y, Gao H, Hu Y, et al. Quality Control System in an Obstetrics and Gynecology Disease Biobank. *Biopreserv Biobank.* 2019;17(1):27-38. doi:10.1089/bio.2018.0056.
11. Kinkorová J. Education for future biobankers — The state-of-the-art and outlook. *EPMA.* 2021;10;12(1):15-25. doi:10.1007/s13167-021-00234-5.