

Е.А.Тюрин<sup>1</sup>, С.А.Иванов<sup>1</sup>, Л.И.Маринин<sup>1</sup>, И.А.Дятлов<sup>1</sup>, М.Н.Ляпин<sup>2</sup>**БОКСИРУЮЩИЕ УСТРОЙСТВА, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ РАБОТ С БИОЛОГИЧЕСКИМИ АГЕНТАМИ I–II ГРУПП ПАТОГЕННОСТИ**<sup>1</sup>ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболensk;<sup>2</sup>ФГУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

В соответствии с действующими санитарно-эпидемиологическими правилами важным условием соблюдения требований биологической безопасности является оснащение микробиологической лаборатории современными инженерно-техническими системами и оборудованием, которые, в совокупности с правилами и приемами безопасной работы с патогенными микроорганизмами, должны обеспечивать комплекс мер биологической безопасности для работающего в лаборатории персонала. Одним из средств дополнительной защиты служат боксы биологической безопасности второго и третьего классов. Рассмотрены конструктивные особенности, преимущества и выявлены некоторые недостатки различных боксов биологической безопасности, эксплуатируемых в лабораториях уровня BSL2–3.

*Ключевые слова:* биологическая безопасность, шкаф вытяжной, бокс биологической безопасности, уровни биологической безопасности.

Важнейшим компонентом профилактики и борьбы с инфекционными заболеваниями является их эффективный мониторинг, который включает своевременное выявление возбудителя болезни, его изучение в лабораторных условиях и обмен надежной информацией о выявленных вспышках инфекционных заболеваний [1]. Соответственно, работы по выявлению и изучению выделенных патогенных биологических агентов (ПБА) необходимо проводить в лабораториях, отвечающих российским и международным требованиям биологической безопасности [5, 6, 7, 11, 14].

Биологическая безопасность как система организационных, медико-биологических и инженерно-технических мероприятий направлена на защиту работающего персонала и окружающей среды от воздействия ПБА [7, 8], которые делятся на несколько групп в зависимости от степени патогенности (опасности).

Действующая нормативно-методическая документация определяет необходимые требования к использованию инженерно-технических средств обеспечения биологической безопасности, в том числе и к применению боксирующих устройств [7, 8]. Говоря о соблюдении требований биологической безопасности при работе с ПБА, нельзя не коснуться вопроса классификации микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней, так как в соответствии с ней формулируются требования к оснащению лабораторий инженерными средствами.

В нашей стране ПБА делятся на 4 группы патогенности от 1-й (самые опасные) до 4-й (опасность минимальная). Этим наша классификация отличается от принятых в США, Канаде и Японии и других странах ВОЗ, где за основу принято распределение микроорганизмов по уровням риска для человека и общества [5, 13, 14]. Так, к самому низкому 1-му уровню риска относятся микроорганизмы самой низкой патогенности, а к самому высокому 4-му – самые

опасные для человека и животных.

Боксирование операций и процессов в микробиологической лаборатории является 1-й линией защиты в системе биологической безопасности лаборатории [2]. Это необходимо помнить для создания и практической реализации технических возможностей безопасного выполнения диагностических и научно-исследовательских работ с ПБА, так как возможно образование профессиональных вредностей биологической природы – бактериальных аэрозолей. Материальными средствами для защиты персонала и удаления ПБА из рабочей зоны и служат микробиологические безопасные или защитные боксы [3, 5].

Бокс биологической безопасности – конструкция, используемая для физической изоляции (удержания и контролируемого удаления из рабочей зоны) микроорганизмов с целью предотвращения возможности заражения персонала и контаминации воздуха рабочей зоны и окружающей среды [3]. В некоторых источниках их называют кабинетами или шкафами биологической безопасности [10, 12–14]. Однако принципиальных отличий в этих названиях нет. Во всех конструкциях есть ламинарный направленный поток воздуха, установлены фильтры тонкой очистки. Обеспечена защита как продукта, так и оператора.

Современные микробиологические боксы представляют собой жесткие металлические конструкции из металла и стекла. Они выдерживают длительное воздействие дезинфицирующих растворов различной природы и концентрации. Выбор конструкции бокса определяется группой опасности микроорганизмов, с которыми работает исследователь, а также характером проводимых манипуляций.

Для работы с ПБА в микробиологических и вирусологических лабораториях различного уровня опасности в соответствии с рекомендациями ВОЗ используют боксы I, II и III классов безопасности [4, 5, 12–14]:

I класс (*cabinet class I*) – бокс с ламинарным потоком воздуха, обеспечивающий защиту диагностического материала от загрязнения в процессе обработки и посева;

II класс (*cabinet class II*) – бокс с ламинарным потоком воздуха, обеспечивающий одновременную защиту оператора и диагностического материала от загрязнения в процессе обработки и посева;

III класс (*cabinet class III*) – бокс обеспечивает самый высокий уровень персональной защиты. Рабочая камера БББ герметична. Доступ к рабочей поверхности осуществляется с помощью специальных служебных резиновых перчаток-рукавов, которые присоединены к отверстиям на передней панели кабинета.

Вытяжные шкафы, эксплуатируемые до настоящего времени в некоторых микробиологических лабораториях, в основном отечественного производства, отличает простота и надежность в эксплуатации, относительно низкая стоимость, наличие и возможность приобретения запасных частей, выполнение ремонта любой сложности своими силами без привлечения специалистов из фирм, выполняющих эти услуги. Для создания направленного воздушного потока на вытяжку шкафы необходимо подсоединять при помощи гибких гофрированных вставок к вытяжной системе вентиляции через один или два каскада фильтров тонкой очистки воздуха.

Боксы зарубежного производства надежны в эксплуатации, но сложны в техническом обслуживании, требуется специальная подготовка инженерно-технического персонала. Одним из требований фирмы-изготовителя является сертификация персонала, эксплуатирующего и непосредственно работающего на данном виде оборудования. Кроме того, инструкции по эксплуатации зарубежного образца требуют точного перевода для понимания терминологии. Еще один недостаток – они дороги, а запасные части можно приобрести только у фирм-производителей.

Нам представляется актуальным рассмотреть некоторые варианты имеющихся в лабораториях вытяжных шкафов и боксов, представить их характеристики и особенности для практического применения.

Цель настоящего исследования – провести анализ некоторых из конструкций вытяжных шкафов и боксов биологической безопасности, эксплуатируемых более 20 лет в нашей организации, для обеспечения требований биологической безопасности при проведении работ с ПБА.

Для решения поставленных задач были использованы материалы с описанием технических характеристик шкафов и боксов биологической безопасности, документы по контролю работы боксирующих устройств различных классов: протоколы сертификаций и акты проверок работоспособности, а также инструктивно-методические материалы по эксплуатации устройств и работе в них.

Вытяжной шкаф (прототип бокса биологической безопасности) представляет собой металлическую конструкцию с прозрачной передней панелью, которая может быть жестко закреплена, образуя строго определенное окно рабочей зоны, установленную на стол из металла или специальную подставку, покрытую материалом, устойчивым к воздействию агрессивной среды. При эксплуатации вытяжной шкаф всегда должен быть подсоединен к вытяжной системе вентиляции через каскад фильтров тонкой очистки.

Шкаф типа «ШНЖ» рассчитан на 1, 2 или 3 рабочих места (рис. 1). Шкаф прост и надежен в эксплуатации, относится к II классу безопасности. Используется для проведения радиобиологических исследований, выпускается в настоящее время фирмой «Изотоп». Изготавливается из нержавеющей стали. Имеет собственный фильтр для защиты от радионуклидов, переднюю прозрачную панель из органического стекла, которая поднимается и опускается по принципу гильотины, снабжается резиновыми рукавами-перчатками, одеваемыми на отверстия для рук. Эксплуатируется в микробиологических лабораториях как вытяжной шкаф после подключения к вытяжной системе вентиляции с фильтрами тонкой очистки, установленными в вентиляционной камере вне микробиологического бокса. Возможность выброса зараженного воздуха из рабочего объема в рабочее помещение при работе с опущенной панелью и надетыми рукавами-перчатками маловероятна. Шкаф используется для микробиологических работ, постановки серологических реакций, заражения мелких лабораторных животных, выделения клеточных структур, центрифугирования в малых объемах,



Рис. 1. Вытяжной шкаф типа ШНЖ



сублимационного высушивания культур микроорганизмов. К недостаткам можно отнести отсутствие контроля параметров потока воздуха и незащищенность предмета исследования.

Шкаф вытяжной рециркулярный ламинарный микробиологический (ШВРЛМ) разработан в СССР в 70-е годы XX века. Его уже можно считать прототипом современного бокса биологической безопасности. Шкаф рассчитан на одно рабочее место. Изготавливался из нержавеющей стали и относился к шкафам II класса безопасности. Передняя панель – стеклянная в металлическом обрамлении, поднимается откидыванием вверх. Имеется один плоский фильтр типа HEPA (High Efficiency Particulate Air filter – высокоэффективный фильтр очистки воздуха) над столешницей и два фильтра ФЭТО-750 (фильтр элемент тонкой очистки) из ткани Петрянова под столешницей. Воздушный поток направлен сверху вниз. Управление шкафом расположено вертикально сбоку справа на передней панели. Вентилятор располагается внизу, поэтому наблюдается устойчивый вертикальный поток воздуха в рабочей зоне. Надежность защиты персонала и продукта высокая. Может использоваться в рабочих помещениях как с отрицательным, так и с положительным давлением. Возможна эксплуатация шкафа со снятой передней панелью при условии работы персонала в полной защите. Использовался для рутинных микробиологических работ (посев ПБА на плотные питательные среды), постановки серологических реакций.

К недостаткам можно отнести отсутствие визуального контроля параметра входящего потока воздуха на рабочем месте, отсутствие приборного контроля сопротивления фильтров, невозможность регулирования режима в период непосредственно работы, рециркуляция воздушного потока, что делает нежелательным использование данной конструкции в лаборатории уровня BSL3 [6]. К отрицательным моментам также можно отнести работу персонала только в положении «стоя», используя в качестве защитной одежды противочумный костюм 1 типа. В настоящее время шкаф не выпускается.

Боксы биологической безопасности предназначены для того, чтобы защитить исследователя, лабораторное оборудование и рабочие материалы от воздействия инфекционных аэрозолей и брызг, которые могут возникнуть при работе с материалами, содержащими инфекционные агенты [5]. Бокс биологической безопасности предназначен для проведения диагностических и научно-исследовательских работ с микроорганизмами в лабораториях различного уровня опасности (BSL) от 1-го до 4-го и оборудован элементами инженерных систем биологической безопасности.

Бокс перчаточный микробиологический на 1–2 рабочих места (4-БП-2М) относится к боксам III класса безопасности [3, 9] (рис. 2). Бокс разработан в СССР в 70-х годах XX века. Изготавливался из нержавеющей стали. Снабжался одной или двумя пе-

редаточными камерами (шлюзами), двумя фильтрами тонкой очистки ФТО-60 на притоке и вытяжке воздушного потока, двумя или четырьмя рукавами-перчатками. Режим работы надежен в любых условиях эксплуатации во всех лабораториях уровня BSL1–4. Имеет все элементы инженерного обеспечения (вентиляция с фильтрами тонкой очистки подаваемого и удаляемого воздуха, удаление жидких стоков с последующей обработкой, наличие ультрафиолетовых излучателей как в самом боксе, так и в передаточном шлюзе). Имеется визуальный контроль всех параметров (разрежение в боксе, направленность потоков). Персонал работает в положении «стоя» без дополнительной защитной одежды [7]. Бокс незаменим при проведении музейных работ с ПБА (вскрытие и засев ампул), манипуляций с мелкими лабораторными животными, выполнении генетических и молекулярных исследований. К недостаткам можно отнести высокое расположение смотровых стеклянных окон и громоздкость.

Кроме вытяжных шкафов и боксов отечественного производства для работы с ПБА используются боксы биологической безопасности, изготовленные различными зарубежными фирмами (рис. 3). Они изготавливаются по общему принципу, применяемому для боксов II или III класса биологической безопасности, и не имеют принципиальных отличий [3, 5, 9, 10, 11].

Боксы биологической безопасности, как уже было сказано, разработаны с целью защиты персонала лаборатории, окружающей среды и рабочих материалов от влияния инфекционных аэрозолей и попадания частиц, возникновения которых возможно при работе с материалами, содержащими инфекционные компоненты [4, 5]. Правильный выбор бокса биологической безопасности для лаборатории может быть чрезвычайно эффективным средством в предупреждении и предотвращении заражений персонала и



Рис. 2. Бокс биологической безопасности III класса 4-БП-2-М

перекрестных заражений культур за счет аэрозольных выделений.

Все боксы биологической безопасности рассчитаны на 1 рабочее место. Они сделаны из металла, имеют переднюю стеклянную панель гильотинного типа. Все управление и элементы контроля расположены на передней панели над стеклом горизонтально. Вентилятор расположен в нижней или верхней части бокса. Возможно присоединение биокабинета к вытяжной системе вентиляции.

Несомненным достоинством бокса биологической безопасности является автоматический контроль параметров входного воздуха. Воздушный поток направлен вертикально вниз. Возможна регулировка и поддержание параметров во время эксплуатации. Необходимо отметить простоту замены двух HEPA-фильтров, а также наличие звуковой сигнализации для контроля уровня поднятия передней панели. Используется для выполнения биохимических и серологических исследований, а также в качестве пересадочного бокса при работе с животными. Возможна установка более современных ULPA (Ultra Low Penetration Air – фильтр с крайне низким уровнем проникновения воздуха) фильтров, задерживающих частицы размером 0,12 мкм.

К недостаткам можно отнести некоторую сложность в техническом обслуживании, проведении наладки систем бокса, использовании в качестве дезинфектантов газообразных препаратов, для которых требуется полная герметизация бокса биологической безопасности и последующая дезактивация.

В последнее время на отечественном рынке появился ряд моделей боксов биологической безопасности, сделанных на отечественных фирмах.



Рис. 3. Бокс биологической безопасности II класса, тип В

Принципиально эти боксы не отличаются от боксов биологической безопасности, выпускаемых за рубежом. Они имеют достаточно низкую цену, поставка не требует таможенных процедур, комплектуются отечественными запасными частями.

Выбор соответствующих боксов биологической безопасности для работ с ПБА во многом зависит от тех задач, которые ставят перед собой исследователи, и нормативных документов, действующих в нашей стране [7, 8]. Это требует от службы эксплуатации знаний не только технического, но и биологического характера. Важная роль отводится службам биологического контроля, которые проверяют и контролируют исследовательские и диагностические работы в лаборатории, контаминацию рабочих поверхностей, выполнение дезинфекционных мероприятий, теоретические и практические знания исполнителей и обслуживающего персонала [5, 11, 14].

Эксплуатация различных боксирующих устройств в нашей организации показывает, что проведение работ с ПБА I–II групп патогенности и использование для этих целей боксов решает многие проблемы биологической безопасности.

Изоляция ПБА на рабочей поверхности столешницы бокса, направленность воздушных потоков в них, автоматическое поддержание и контроль параметров режимов их штатной работы в высокой степени обеспечивает защиту персонала от исследуемого материала (ПБА) и продукта от внешней среды при проведении экспериментальных и диагностических работ в микробиологических лабораториях различного уровня риска и опасности.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боровик Р.В., Дмитриев Г.А., Коломбет Л.В., Победимская Д.Д., Ремнев Ю.В., Тюрин Е.А. Основы биологической безопасности: принципы и практика. Учебно-методическое пособие. М.: «Медицина для вас»; 2008. 303 с.
2. Дроздов С.Г., Гарин Н.С., Джиндоян Л.С., Тарасенко В.М. Основы техники безопасности в микробиологических и вирусологических лабораториях. М.: Медицина; 1987. 256 с.
3. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Биологическая безопасность. Термины и определения. Саратов: «Приволжское издательство»; 2006. 112 с.
4. Пальцев М.А., Гинцбург А.Л., Белушкина Н.Н. Биологическая безопасность. Глоссарий. М.: Издательский дом «Русский врач»; 2006. 448 с.
5. Практическое руководство по биологической безопасности в лабораторных условиях. 3 издание. Всемирная организация здравоохранения. Женева; 2004. 139 с.
6. Санитарные правила и нормы. «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности». СП 1.2.011-94. М.: Госсанэпиднадзор России; 1994. 149 с.
7. Санитарно-эпидемиологические правила. «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)». СП 1.3.1285-03. М.: Госсанэпиднадзор России; 2003. 82 с.
8. Санитарно-эпидемиологические правила «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». СП 1.3.2322-08. М.: Роспотребнадзор; 2008. 76 с.
9. Ставский Е.А., Черный Н.Б., Криницын Л.А., Едапин А.С., Нетесов С.В. Унифицированный бокс 3 класса биобезопасности для микробиологических и вирусологических исследований. В кн.: Проблемы биологической и экологической безопасности: Матер. междунар. науч. конф. Оболensk; 2000. С. 116.
10. Тюрин Е.А., Шишкина О.Б. К вопросу использования боксирующих устройств для работ с ПБА I–II групп патогенности в ФГУП ГНЦПМ. В кн.: Противочумные учреждения России и их роль в обеспечении эпидемиологического благополучия населения страны: Матер. конф., посв. 70-летию Противочум. центра. М.; 2004. С. 275–8.

11. Чекан Л.В., Тюрин Е.А. Шкафы биобезопасности – надежное средство профилактики внутрилабораторных заражений при работе с возбудителями ООИ. В кн.: Диагностика, лечение и профилактика опасных и особо опасных инфекционных заболеваний. Биотехнология: Матер. Всерос. конф., посв. 80-летию со дня основания ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России». Киров; 2008. С. 426–8.

12. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. U.S. Department of Health and Human services. 4-th Edition. Richmond J.Y., McKinney R.W., editors. Washington. 1999. 250 p.

13. Biological Safety: Principles and Practices. 4th ed. Fleming D.O., Hunt D.L., editors. Washington: ASM Press; 2006. 624 p.

14. Laboratory Biosafety Guidelines. 3rd ed. Canada; 2004. 113 p.

E.A.Tiurin, S.A.Ivanov, L.I.Marinin, I.A.Dyatlov, M.N.Lyapin

#### **Biosafety Cabinets Used in the Work with Biological Agents of I–II Pathogenicity Groups**

*State Scientific Centre of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk; Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe", Saratov*

At present, in compliance with sanitary and epidemiologic regulations in force, equipping of microbiological laboratory with modern engineering and technical systems and equipment is considered to be the important condition ensuring adherence with the biological safety requirements. The above-

mentioned systems and equipment, together with the rules and techniques of the safe work with pathogenic microorganisms, should provide the set of biological safety measures for the laboratory personnel. Biological safety cabinets of the second and the third classes serve as additional protection means. Considered are peculiarities of the design and benefits of different biosafety cabinets used in BSL 2–3 laboratories, and some of their shortcomings are determined.

*Key words:* Biological safety, exhaust hood, biological safety cabinet, biological safety levels.

#### **Об авторах:**

Тюрин Е.А., Иванов С.А., Маринин Л.И., Дятлов И.А. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. 142279, Оболенск, Московская обл. E-mail: turin@obolensk.org

Ляпин М.Н. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: microbe@san.ru

#### **Authors:**

Tiurin E.A., Ivanov S.A., Marinin L.I., Dyatlov I.A. State Scientific Centre of Applied Microbiology and Biotechnology. 142279, Obolensk, Moscow Region. E-mail: turin@obolensk.org.

Lyapin M.N. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 08.10.09.