



Government
of Canada

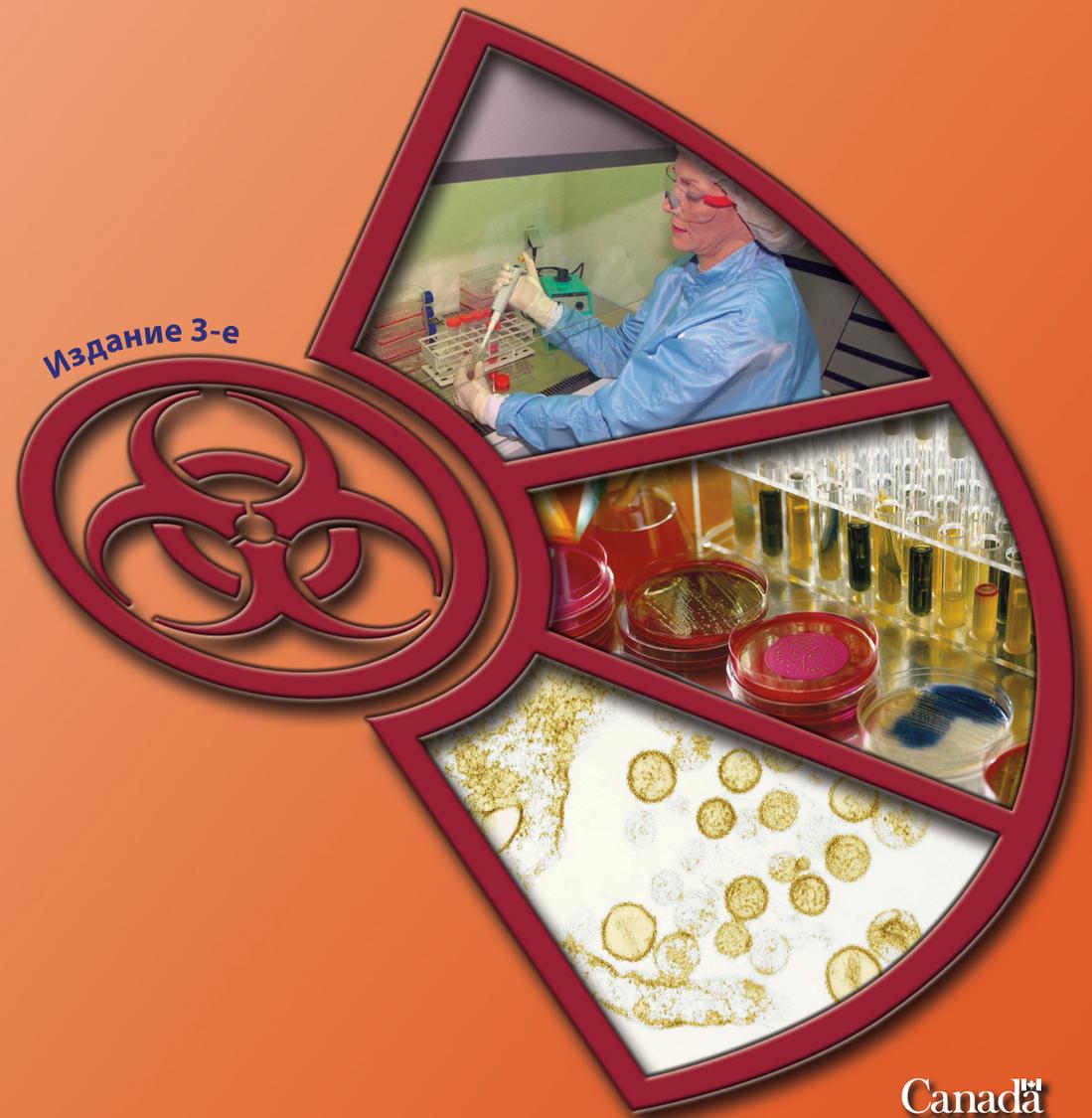
Gouvernement
du Canada

Основы биологической безопасности в лабораториях

Laboratory Biosafety Guidelines

Основы биологической безопасности в лабораториях

Издание 3-е



Издание 3-е

Canada

Design by:

Evolving Media & Design Inc.
4308 Chapel Road, Apple Hill, ON K0C 1B0 Canada
T: 800.732.6995 production@evolvingmedia.ca

08202005

Наша задача – помочь народу Канады
сохранить и улучшить его здоровье.

Министерство здравоохранения Канады

Равным образом распространяется на французском языке
под названием "*Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire*"

Все права сохранены. Ни одна часть данной публикации не может быть
размножена, представлена в поисковых системах или отправлена в каком-
либо виде или каким-либо способом: электронным, механическим, фото-
копированием, записью или иным без предварительного письменного раз-
решения Министра общественных работ и правительственных служб, От-
тава, провинция Онтарио, K1A 0S5.

Фото на обложке: firstlight.ca; premiumstock/firstlight.ca;
[Pascal Parrot/corbis/firstlight.ca](http://PascalParrot/corbis/firstlight.ca)

© Ее Величество правящая Королева Канады, представлена
Министром здравоохранения (2004)

Cat N° H39-4/49-2004E H39-4/49-2004E-PDF H39-4/49-2004E-HTML

ISBN 0-662-37722-2 0-662-37723-0 0-662-37724-9

Publication N° 4252

Основы биологической безопасности в лабораториях

Издание третье

*Опубликовано по распоряжению Министра здравоохранения
Департамент народонаселения и здравоохранения
Центр готовности и реагирования на чрезвычайные ситуации*

Редакционная комиссия

Морин Бэст

Директор
Управление лабораторной безопасности
Министерство здравоохранения Канады
Оттава, провинция Онтарио

Мэри Луиза Грэхем

Руководитель
Отдел биологической безопасности
Министерство здравоохранения Канады
Оттава, провинция Онтарио

Роланд Лейтнер

Инспектор экологической безопасности
Университет г. Калгари
Калгари, провинция Альберта

Марк Келет

Профессор
Больничный центр университета Лавала
Квебек, провинция Квебек

Кен Угву

Старший инженер биологической защиты
Управление лабораторной безопасности
Министерство здравоохранения Канады
Оттава, провинция Онтарио

Авторы

Подготовка третьего издания "Основ биологической безопасности в лабораториях" стала возможной благодаря вкладу следующих специалистов:

Харви Артсб

Руководитель
Национальная лаборатория зоонозных болезней и особых патогенов
Канадский научный центр здоровья людей и животных
Виннипег, провинция Манитоба

Джеймс Кемпбел

Председатель
Университетская комиссия по биологической безопасности
Университет г. Торонто
Торонто, провинция Онтарио

Уэйн Конлан

Инспектор по научным исследованиям
Национальный совет по научным исследованиям
Оттава, провинция Онтарио

Памела Данн

Научный сотрудник
Фирма "Aventis Pasteur Ltd."
Норт-Йорк, провинция Онтарио

Сандра Фрай

Директор
Отдел биологической защиты и безопасности
Канадское Агентство по исследованию пищевых продуктов
Оттава, провинция Онтарио

Фред Джордж

(Масштабное культивирование)
Совет по научным исследованиям провинции Альберта
Эдмонтон, провинция Альберта

Эндрю Грэхем

(Масштабное культивирование)
Фирма "Aventis Pasteur Ltd."
Торонто, провинция Онтарио

Дэвид Гроувз

Профессор
Служба медицинской микробиологии
Больница святого Иосифа
Отделение патологии и молекулярной медицины
Факультет наук о здоровье
Университет Макмастера
Гамильтон, провинция Онтарио

Тони Хейз

(Масштабное культивирование)
Фирма "Aprotex Fermentation Inc."
Виннипег, провинция Манитоба

Марианна Хейч

Руководитель
Отдел биотерроризма и реагирования на чрезвычайные ситуации
Управление лабораторной безопасности
Министерство здравоохранения Канады
Оттава, провинция Онтарио

Джин Джоули
Директор
Лаборатория здравоохранения провинции
Квебек
Сен-Анн-де-Бельвю, провинция Квебек

Джордж Хачатурянц
(Масштабное культивирование)
Отдел прикладной микробиологии и
исследования пищи
Университет провинции Саскачеван
Саскатун, провинция Саскачеван

Поль Ланжевен
(Технический консультант)
Служба биологической защиты
Каната, провинция Онтарио

Луиза Линарез
Технический контролер
Лаборатория здравоохранения провинции
Альберта
Эдмонтон, провинция Альберта

Джим Орзековски
(Технический консультант)
Главный исполнительный инспектор
Фирма "Smith Carter Architects and
Engineers Inc."
Виннипег, провинция Манитоба

Марк Паррингтон
Главный научный сотрудник и
заведующий сектором
Микробиология
Фирма "Aventis Pasteur Ltd."
Норт-Йорк, провинция Онтарио

Брюс Пит
(Технический консультант)
Генеральный менеджер
Фирма "H.E.P.A. Filter Services Inc."
Конкорд, провинция Онтарио

Энтони Риджуэй
(Масштабное культивирование)
Программа производства лекарственных
препаратов
Министерство здравоохранения Канады
Оттава, провинция Онтарио

Ричард Стоукс
Адъюнкт-профессор
Университет провинции Британская
Колумбия
Ванкувер, территория Британская
Колумбия

Ли Томпсон
Директор
Ресурсы биологической безопасности и
защиты учреждения
Техасский университет, Медицинский
филиал
Галвестон, штат Техас, США

Стефан Вагенер
Научный директор
Сектор биологической безопасности и
окружающей среды
Канадский научный центр здоровья
людей и животных
Виннипег, провинция Манитоба

Благодарности

Мы бы хотели выразить признательность и благодарность Даниэль Плуффэ и Жасмин Будро за помощь при подготовке текста, Андреан Бонном за техническую помощь и фирме "Scientific Publication and Multimedia Services" за издание книги.

Сокращения

БББ	Бокс биологической безопасности	НАПЛИМК	Национальная ассоциация подрядчиков по листовому металлу и кондиционированию воздуха
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения	НФС	Национальный фонд санитарии
д. вод. ст.	Дюйм водяного столба = 25,4 мм вод. ст. = 249,1 Па	ОВК	Отопление, вентиляция и кондиционирование воздуха
ИКАО	Международная организация гражданской авиации, от англ. "International Civil Aviation Organization, ICAO"	Па	Паскаль (единица давления)
ИСОМРМ	Информационная система по опасным материалам на рабочем месте	ПИПЧ	Правила импорта патогенов человека
КАИПП	Канадское Агентство по исследованию пищевых продуктов	ТОГ	Транспортировка опасных грузов
КАС	Канадская ассоциация стандартов	УЗ-1	Уровень защиты 1
МЗК	Министерство здравоохранения Канады	УЗ-2	Уровень защиты 2
		УЗ-3	Уровень защиты 3
		УЗ-4	Уровень защиты 4
		ФТО	Фильтр тонкой очистки (HEPA-фильтр, от англ. "high efficiency particulate air")

Содержание

Глава 1	
Введение	1
Глава 2	
Биологическая безопасность	4
2.1 Группы риска	4
2.2 Уровни защиты	5
2.3 Оценка риска	6
2.4 Медицинское наблюдение и диспансеризация	9
2.5 Контроль биологической безопасности	9
2.6 Биологическая защита	11
Глава 3	
Обращение с инфекционными материалами	17
3.1 Правила работ в лабораториях	
3.1.1 Общие правила	17
3.1.2 Уровень защиты 2	20
3.1.3 Уровень защиты 3	21
3.1.4 Уровень защиты 4	24
Глава 4	
Проектирование лабораторий и физические требования к ним	28
4.1 Таблица 1: Местонахождение лаборатории и доступ в нее ...	28
4.2 Таблица 2: Отделка помещений и рабочих поверхностей	31
4.3 Таблица 3: Отопление, вентиляция и кондиционирование воздуха	33
4.4 Таблица 4: Защитный периметр	37
4.5 Таблица 5: Инженерные системы	39
Глава 5	
Ввод в эксплуатацию, аттестация и повторная аттестация лабораторий третьего и четвертого уровней защиты	45
5.1 Введение	45
5.1.1 Ввод в эксплуатацию	45
5.1.2 Аттестация	45
5.1.3 Повторная аттестация	46
5.2 Герметичность помещений	46
5.2.1 Таблица 6: герметичность помещений	47
5.2.2 Тест на спад давления	48

5.3. Системы воздухообмена	49
5.3.1 Таблица 7: Системы воздухообмена	49
5.4. Таблица 8: Оборудование и инженерные системы лабораторий	53

Глава 6

Масштабное культивирование микроорганизмов	56
6.1 Введение	56
6.2 Сфера применения	56
6.3 Правила работы и физические требования	57
6.3.1 Масштабные работы: уровень защиты 1	57
6.3.2 Масштабные работы: уровень защиты 2	58
6.3.3 Масштабные работы: уровень защиты 3	59

Глава 7

Рекомендации по отдельным видам работ	61
7.1 Лабораторные животные	61
7.1.1 Общие требования	61
7.1.2 Нечеловекообразные приматы	63
7.2 Рекомбинантная ДНК и генетические манипуляции	66
7.3 Культуры клеток	67
7.3.1 Оценка риска	68
7.3.2 Загрязнения инфекционными агентами	69
7.3.3 Эксперименты с собственными клетками	71

Глава 8

Обеззараживание	74
8.1 Введение	74
8.2 Автоклавы	75
8.3 Химическая дезинфекция	76
8.4 Газовое обеззараживание помещений	77
8.5 Системы обработки стоков	78
8.6 Облучение	79
8.7 Сжигание	79
8.8 Новые технологии	80

Глава 9

Боксы биологической безопасности	83
9.1 Введение	83
9.2 Классы и характеристики боксов биологической безопасности	83
9.3 Установка и аттестация	85

9.4 Использование боксов	87
--------------------------------	----

Глава 10

Правовые аспекты работы с инфекционными материалами	97
10.1 Импорт и передача патогенов, опасных для человека патогенных для человека	97
10.2 Экспорт патогенов	98
10.3 Транспортировка	98
10.4 Импорт, передача и изоляция возбудителей инфекционных болезней животных	99
Предметный указатель	102

Глава 1. Введение

Несмотря на рост знаний в области биологической безопасности и биозащиты, работа с заразными микроорганизмами остается источником инфицирования и даже смертности среди лабораторного персонала (1-4). Случаи вторичной передачи инфекций населению, которые могут происходить из-за возможного загрязнения среды или сотрудников, также встречаются в настоящее время (1, 5). Имеет место устойчивый рост как количества лабораторий, работающих с возбудителями инфекционных болезней, так и числа исследователей, желающих импортировать в Канаду новые или экзотические штаммы для дальнейшего изучения. Работники лабораторий могут снизить до минимума риск, сопровождающий манипуляции с инфекционными агентами, за счет применения соответствующих принципов и правил биобезопасности и биозащиты. Возрастающие требования предъявляются также к регулирующим органам, чтобы работа с патогенными микроорганизмами проводилась безопасными и надежными методами.

Руководство "Основы биологической безопасности в лабораториях" первоначально было подготовлено для того, чтобы направлять различные лаборатории (правительственные, промышленные, университетские, больничные и другие медицинские, микробиологические) в разработке их внутренних принципов и программ биологической безопасности. Руководство также является техническим документом, предоставляющим информацию и рекомендации по проектированию, строительству и вводу в эксплуатацию защищенных объектов. Признавая важность влияния Руководства на деятельность заинтересованных лиц, черновик настоящего третьего издания широко распространялся по почте и был доступен на веб-сайте для того, чтобы предложить им возможность изложить мнения и замечания о рекомендациях, содержащихся в черновике. Все полученные отклики и замечания были проанализированы и, по возможности учтены. Настоящее третье издание было обновлено с учетом современных принципов и правил биологической безопасности и биологической защиты. Документ готовился для использования на практике, т.е. не только включает современные технологии и постоянно меняющиеся подходы к обеспечению защиты, но и предлагает ряд простых и разумных решений. Этот документ разрабатывался параллельно со вторым изданием руководства "Стандарты биологической защиты для ветеринарных учреждений" Канадского агентства по исследованию пищевых продуктов (КАИПП) (6), с целью включения аналогичных требований биологической безопасности в оба документа там, где это возможно. Дополнения включают раздел о нечеловекообразных приматах. Отдельные рекомендации разработаны специально для работы с микобактериями. Они будут отражать существующую озабоченность профессионалов биологической безопасности и наметят многоплановый подход к биологической

защите в соответствии с типом используемых процедур. Эти рекомендации будут доступны на веб-сайте Управления лабораторной безопасности по адресу, указанному ниже.

Существенным изменением в третьем издании руководства является удаление из этого документа перечней микроорганизмов, патогенных для человека, в соответствии с группами риска. Эти списки можно получить в Управлении лабораторной безопасности Министерства здравоохранения Канады (МЗК), и они доступны на веб-сайте указанного управления. Публикация статичного перечня в печатном виде не позволяет проводить текущую динамическую оценку риска или добавлять в него возбудители новых и возвращающихся инфекций. Если впервые выявляются и изучаются новые факторы риска и обнаруживается новая информация, выбор соответствующих уровней защиты для работы с потенциально заразным материалом подлежит изменению. Перечень возбудителей болезней человека по группам риска будет доступен на веб-сайте Управления лабораторной безопасности: <http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgsp/ols-bsl/>.

Наконец, акцент следует делать на практических навыках и методиках работы, используемых подготовленным персоналом. В "Руководстве по биологической безопасности в лабораторных условиях", изданном Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), отмечено, что "ни один бокс безопасности, или иное устройство, или методика сами по себе не гарантируют безопасности, если пользователи не применяют безопасные методы работы, основанные на осведомленности и понимании" (7). В сферу ответственности всех, включая руководителей и сотрудников лабораторий, входит применение сведений, изложенных в данном руководстве, и выполнение работы безопасными и надежными методами.

Список литературы

1. Collins C.H., Kennedy D.A. Laboratory-acquired infections. In: Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions. Oxford, UK: Butterford-Heinemann, 1999. – P. 1-37.
2. Harding A.L., Brandt Byers K. Epidemiology of laboratory-associated infections. In: Fleming D.O., Hunt D.L. Biological safety: principles and practices. Washington, DC: ASM Press, 2000. – P. 35-54.
3. Sewell D.L. Laboratory-associated infections and biosafety. Clin. Microbiol. Rev. – 1995. – V. 8. – P. 389-405.
4. Gaidamonvich S.Y., Butenko A.M., Leschinskaya H.V. Human laboratory acquired arbo-, arena-, and hantavirus infections // J. Am. Biol. Safety Assoc. – 2000. – V. 5. – P. 5-11.
5. Richmond J.V., McKinney R.W. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999. – 250 p.
6. Containment standards for veterinary facilities. Ottawa: Agriculture and Agri-Food Canada, Minister of Supply and Services Canada, No. 1921/E, 1996.
7. Laboratory biosafety manual. Geneva: World Health Organization, 1993. – 133 p.

Глава 2. Биологическая безопасность

2.1 Группы риска

Классификацию в соответствии с группами риска традиционно применяли для распределения заразных микроорганизмов по категориям в зависимости от их относительной опасности. Факторы, используемые для определения группы риска, включают следующие характерные особенности микробов:

- патогенность;
- инфицирующая доза;
- способ передачи;
- круг хозяев;
- наличие эффективных мер профилактики;
- наличие действенных методов лечения.

Данные классификации подразумевают обычные обстоятельства функционирования исследовательской лаборатории или выращивания микроорганизмов в небольших объемах с диагностическими или экспериментальными целями. Установлены следующие четыре уровня риска (1):

1. Группа риска 1 (низкая индивидуальная и общественная опасность)

включает биологические агенты, маловероятные в качестве возбудителей болезней у здоровых работников или у животных.

2. Группа риска 2 (умеренная индивидуальная и низкая общественная опасность)

содержит патогенные микроорганизмы, которые могут вызывать заболевания у людей, но в обычных обстоятельствах маловероятно, чтобы они представляли серьезную опасность для лабораторного персонала, общества, сельскохозяйственных животных или окружающей среды. Воздействие такого возбудителя на сотрудника лаборатории редко вызывает инфекцию, приводящую к серьезной болезни. Существуют эффективные меры лечения и профилактики, и риск распространения ограничен.

3. Группа риска 3 (высокая индивидуальная, но низкая общественная опасность)

включает любой патогенный микроорганизм, который, как правило, вызывает серьезную инфекцию у человека или может привести к серьезным экономическим последствиям, но обычно не передается от одного человека к другому при случайном контакте или вызывает заболевание, поддающееся излечению противомикробными или противопаразитарными средствами.

4. Группа риска 4 (высокая индивидуальная и общественная опасность)

состоит из возбудителей, которые обычно вызывают тяжелые болезни у человека, часто неизлечимые, и могут легко передаваться от одного человека к другому, или от животного к человеку, или от человека к животному прямым или непрямым путем или при случайном контакте.*

Перечень микроорганизмов, патогенных для человека, по группам риска можно получить, позвонив в Управление лабораторной безопасности МЗК по телефону (613) 957-17-79, или на веб-сайте Управления по адресу: <http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgspsp/ols-bsl/>.

2.2 Уровни защиты

Классификация микроорганизмов в соответствии с группами риска напрямую не связана с уровнями биологической опасности в лабораторной практике. Например, система групп риска не принимает во внимание методик, которые необходимо применять при манипуляциях с конкретным микроорганизмом. Уровни защиты выбирают для того, чтобы обеспечить конечного пользователя описанием необходимой минимальной защиты, которая требуется для безопасной работы с данным микроорганизмом в лабораторных условиях. В дополнение к присущим каждому микробу свойствам, описанным в разделе 2.1, система уровней защиты включает инженерные, операционные, технические и физические требования к манипуляциям с конкретным возбудителем (2). Эти уровни защиты применимы к таким лабораториям, как диагностические, исследовательские, клинические, лаборатории образовательных, а также производственных организаций, работающие с малыми объемами культур (о масштабном культивировании см. в главе 6). Существуют следующие четыре уровня защиты:

1. Уровень защиты 1 (УЗ-1). Данный уровень относится к базовым лабораториям, которые работают с возбудителями, требующими первого уровня защиты. УЗ-1 не подразумевает никаких проектных особенностей, выходящих за рамки в грамотно спроектированной функциональной лаборатории. Боксы биологической безопасности (БББ) не требуются. Работа может осуществляться на открытых поверхностях лабораторных столов, и защита достигается применением правил, обычных для практики базовой микробиологической лаборатории.

2. Уровень защиты 2 (УЗ-2). Применяется к лабораториям, работающим с патогенными микроорганизмами, которые требуют второго уровня защиты. Основные пути возможного заражения возбудителями, требующими УЗ-2, – пероральный (глотание), при прямом введении и контактный через слизистые оболочки. Указанные патогены обычно не пере-

даются воздушным путем, но необходимо проявлять осторожность, чтобы избежать образования брызг и аэрозолей. Аэрозоль может оседать на поверхности лабораторного стола и создать опасность попадания в пищеварительный тракт с загрязненных рук (3). Необходимо использовать устройства первичной защиты, такие как БББ, центрифуги с герметичными роторами или защитными капсулами, а также соответствующие персональные средства защиты (например, перчатки, лабораторные халаты, средства для защиты глаз). Кроме того, следует снизить до минимума загрязнение окружающей среды за счет использования раковин для мытья рук и устройств для обеззараживания (автоклавы).

3. Уровень защиты 3 (УЗ-3). Применяется к лабораториям, которые проводят исследования с возбудителями, требующими третьего уровня защиты. Эти микроорганизмы могут передаваться воздушным путем, часто имеют низкую инфицирующую дозу и могут вызывать серьезные или угрожающие жизни заболевания. УЗ-3 подразумевает создание усиленных дополнительных первичных и вторичных барьеров для минимизации попадания инфекционных организмов в помещения лаборатории и окружающую среду. Дополнительные факторы предотвращения передачи возбудителей включают соответствующие средства защиты дыхательных путей, фильтрацию выходящего из лаборатории воздуха с использованием фильтров тонкой очистки (ФТО) и строго контролируемый доступ в лабораторию.

4. Уровень защиты 4 (УЗ-4). Это максимально возможный уровень защиты, предназначенный для объектов, где работают с патогенными микроорганизмами, требующими четвертого уровня защиты. Указанные возбудители способны передаваться при образовании аэрозолей, часто имеют низкую инфицирующую дозу, вызывают очень серьезные и часто смертельные болезни. Обычно отсутствуют вакцины и средства лечения. Этот уровень защиты подразумевает наличие изолированного помещения, обособленного от других зон функционально и, если необходимо, также структурно. УЗ-4 создает максимальную изоляцию инфекционного агента с помощью полной герметизации периметра лаборатории с подтверждением герметичности тестированием на спад давления, изоляции персонала от культур возбудителей применением защитных костюмов с положительным давлением воздуха или боксов биологической безопасности III класса, а также обеззараживания отработанного воздуха и других продуктов, удаляемых из лаборатории.

2.3 Оценка риска

Оценка риска – это решающий этап при выборе соответствующего уровня защиты для выполнения микробиологической работы. Детальную

оценку риска на месте необходимо провести для того, чтобы определить, требует ли планируемая работа использования лаборатории первого, второго, третьего или четвертого уровня защиты и соответствующих операционных инструкций. В процессе оценки риска должны участвовать лица с различным уровнем компетенции и ответственности, в том числе директор организации, руководитель лаборатории, научный руководитель, старший микробиолог, инспектор биологической безопасности, комиссия по биологической безопасности.

В качестве отправной точки можно использовать имеющуюся информацию, которая может помочь в идентификации факторов риска, в том числе по определению группы риска, к которой относится данный возбудитель. Кроме классификации по группам риска, которая базируется на факторах риска, присущих тому или иному конкретному патогену, необходимо также оценить дополнительные факторы, связанные с характером работ в данной лаборатории:

- возможность образования аэрозолей;
- количества;
- концентрация;
- стабильность возбудителя в окружающей среде (естественная биологическая скорость гибели);
- тип планируемой работы (например, *in vivo*, *in vitro*, эксперименты по аэрозольному введению инфекта);
- использование рекомбинантных микроорганизмов (например, гены, кодирующие синтез факторов вирулентности и токсинов, изменение круга хозяев, изучение онкогенности, способности к размножению, возможности реверсии к дикому типу).

Уровень защиты, необходимый для работы с конкретным возбудителем, базируется на манипуляциях, обычно связанных с научными исследованиями и клиническими процедурами. Если определенная процедура, например предварительная идентификация, сопряжена с меньшим риском, чем работа с живой культурой, то адекватным уровнем защиты в данном случае будет более низкий. Например, первичные диагностические тесты на ВИЧ можно проводить в лаборатории со вторым уровнем физической защиты (УЗ-2) и с использованием операционных процедур, характерных для УЗ-3. В то же время выращивание вируса и манипуляции с живой культурой требуют наличия и лаборатории, и протоколов работы, соответствующих УЗ-3.

С другой стороны, может потребоваться повышение уровня защиты, если оценка риска на месте показала, что определенные манипуляции сопряжены с более высоким риском, чем рутинные лабораторные исследования и диагностические тесты. Например, с возбудителем дифтерии (способным передаваться аэрозольным путем) можно вести диагностические и

научные исследования в лаборатории УЗ-2, однако аэрозольное введение патогена лабораторным животным может потребовать повышения уровней как физической, так и операционной защиты.

Повышение уровня защиты может потребоваться, если лаборатория начинает масштабное производство. Под масштабным культивированием обычно подразумевают такие манипуляции, когда в одной емкости находится более 10 л культуры. Разработаны особые меры предосторожности при работе с большими количествами заразного материала, которые изложены в главе 6. Следует подчеркнуть, что 10-литровый порог не является абсолютной величиной. Анализ опасности может показать, что вследствие высокой патогенности, определенного способа передачи и низкой заражающей дозы данное исследование с применением объемов менее 10 л, но более объемов, применяемых в практике рутинных лабораторных исследований, может вызвать более высокий риск и потребовать повышенных уровней физической и операционной защиты. Например, анализ опасности может показать, что процедуру, требующую накопления пяти литров культуры полирезистентного штамма возбудителя туберкулеза, более адекватно выполнять в лаборатории УЗ-3, предназначенной для масштабного культивирования возбудителей, чем в обычной диагностической и исследовательской лаборатории третьего уровня защиты. Таким образом, величина 10 л, определяющая различия между лабораторным и производственным (масштабным) уровнями, является лишь рекомендацией, и необходимо тщательно оценивать степень риска в каждом конкретном случае.

Дальнейшие наставления по оценке риска и связанную с этим дополнительную информацию, которая может помочь в определении степени риска, можно найти в публикации Центров по контролю и предотвращению заболеваний/Национальных институтов здоровья: "Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях" (4). Эта информация также доступна на следующем веб-сайте: <http://www.cdc.gov/od/ohs>.

2.4 Медицинское наблюдение и диспансеризация

Программа медицинского наблюдения и диспансеризации (включающая проверку здоровья при устройстве на работу и последующие периодические обследования) должна соответствовать используемым для работы возбудителям и программам работы лаборатории. Поэтому подробности программы медицинского наблюдения и диспансеризации определяются процедурой оценки риска, которая основана на канадских и международных инструкциях (1, 4, 5) и четко демонстрирует причины, признаки и преимущества наличия такой программы в лаборатории. Данная программа может включать следующие пункты (но не исчерпывается ими): медицинский осмотр; отбор, тестирование и хранение сывороток; иммунизацию, а также другие возможные тесты, по результатам оценки риска. Оценка рисков должна осуществляться группой, включающей различных специалистов от администрации, специалистов по безопасности и по профессиональным заболеваниям. Оценка риска в рамках программы медицинского наблюдения и диспансеризации должна относиться к персоналу, работающему с микроорганизмами высокой опасности, потому что информация об иммунном статусе имеет важнейшее значение для принятия решений об иммунизации, профилактике и т.д. (1).

Только люди, соответствующие конкретным установленным медицинским требованиям допуска (например, иммунизированные) могут входить в лабораторию, если она не была предварительно соответствующим образом обеззаражена. Или должны быть разработаны и применяться другие подходы для достижения того же уровня защиты неиммунизированных лиц, входящих в лабораторию.

2.5 Управление биологической безопасностью

Хотя ответственность за безопасность персонала лежит на руководителе микробиологической лаборатории и директоре организации, может быть полезным назначение специального сотрудника (или сотрудников) для решения вопросов, связанных с биологической безопасностью. Во многих лабораториях данную функцию или неформально поручают квалифицированному сотруднику (например, старшему микробиологу), который выполняет ее на условиях частичной занятости этими вопросами, или эту роль делят между собой сразу несколько профессионалов. Эта функция может быть также формально возложена на специалиста, инспектора биологической безопасности, который обладает знаниями лабораторной практики и процедур, принятых в лаборатории.

Формирование комиссии по биологической безопасности в организации для надзора за выполнением соответствующих программ также может быть составной частью структуры управления биологической безопас-

ностью (в некоторых организациях и университетах требование создания такой комиссии может быть обязательным). Инспектор биологической безопасности (или сотрудник, ответственный за соблюдение требований биологической безопасности) должен осуществлять связь с комиссией посредством регулярно организуемых встреч и может представлять на них проблемы и вопросы, связанные с безопасностью и предложения по совершенствованию протоколов и процедур, требующих рассмотрения и решения. Комиссия также помогает инспектору биологической безопасности в работе по оценке риска, решении спорных вопросов и других делах, касающихся биологической безопасности. Внимательное отношение должно быть проявлено к составу комиссии, которая по возможности должна включать несколько специалистов с различным уровнем компетенции: инспектора биологической безопасности, а также как минимум по одному человеку из числа научного, технического и административного персонала. Следует также уделить внимание членству в комиссии медицинского консультанта.

Структура управления биологической безопасностью должна определяться для каждого объекта на месте и варьирует в зависимости от уровня координации и имеющихся ресурсов для ее реализации. Определяющими факторами являются:

- размер объекта (количество сотрудников и площадь);
- наличие ряда лабораторий на одном объекте;
- уровни защиты применяемые на объекте (лаборатория УЗ-2, несколько лабораторий УЗ-3 и т.д.);
- уровень сложности осуществляемых процессов (рутинная диагностика, научные исследования, масштабное культивирование, работа с рекомбинантной ДНК и т.д.);
- наличие в пределах одного объекта общих лабораторных помещений (используемых рядом исследователей, различными организациями);
- проведение в организации экспериментальных или диагностических манипуляций с животными (мышей в изолированных клетках, помещений для крупных животных и т.д.).

Управление биологической безопасностью может включать:

- определение необходимости подготовки специалистов и содействие в разработке и внедрении программ обучения биологической безопасности, таких как общие вопросы биологической безопасности, использование БББ, безопасность при работе с животными, инструктаж на рабочем месте и тренировки по использованию защитных комплектов;

- выполнение процедур оценки риска, когда это требуется, и разработка рекомендаций по изменению регламентов или физических параметров лабораторий;
- регулярная проверка эффективности программы биологической безопасности и связанной с ней системы управления;
- участие в расследовании аварий, содействие в подготовке отчетов о нештатных ситуациях на объекте или в лаборатории;
- распространение новой и актуальной информации по биологической безопасности среди персонала лабораторий;
- координация и мониторинг разработанных для объекта или лаборатории процедур обеззараживания, дезинфекции и утилизации инфекционных материалов;
- координация работ по получению, погрузке и транспортировке заразных материалов внутри объекта в соответствии с правилами "Информационная система по опасным материалам на рабочем месте" (ИСОМРМ) и "Транспортировка опасных грузов" (ТОГ);
- отработка систем учета и безопасного хранения для всех заразных материалов, поступающих в лабораторию;
- координация деятельности по реагированию на нештатные ситуации;
- поддержка связи с вспомогательным и хозяйственным персоналом и подрядчиками по вопросам, связанным с биологической безопасностью на объекте;

Лаборатории УЗ-3 и УЗ-4 могут дополнительно осуществлять мероприятия, связанные с биологической безопасностью:

- аттестацию и повторную аттестацию лаборатории (см. главу 5);
- расследование и ликвидацию последствий технических и эксплуатационных сбоев в комплексе биологической защиты объекта;
- контроль доступа в защищенные комплексы;
- осуществление связи с регламентирующими органами, такими как Комиссия по ядерной безопасности, Министерство транспорта Канады, Министерство Здравоохранения Канады и Канадским Агентством по Инспекции Продуктов Питания.

2.6 Биологическая защита

В настоящее время организации, работающие с возбудителями инфекционных болезней, нуждаются в наличии не только программы биологической безопасности, но и плана биологической защиты. В то время как биологическая безопасность включает все аспекты изоляции для предупреждения любого воздействия патогенов на сотрудников или их случайного выброса во внешнюю среду, биологическая защита имеет целью пре-

дотвращение краж, использования не по назначению или умышленного выброса инфекционных агентов. К сожалению, возможность двойного применения заложена в природе данной работы (то есть в методиках, оборудовании и т.д.) независимо от того, говорим ли мы об исследованиях, направленных на развитие науки и совершенствование диагностики инфекций, или о нецелевом использовании тех же технологий (6). Опубликовано много международных рекомендаций (7-10) и меморандумов (11-16), которые могут оказать дополнительную помощь в решении вопросов, связанных с биологическими угрозами.

Поскольку разработка и выполнение плана биологической защиты должны иметь специфику, связанную с характером конкретного объекта, типом выполняемых научных и диагностических исследований, а также местными особенностями, необходимо привлечь к этой работе разнообразных специалистов: научных руководителей, ведущих исследователей, сотрудников лабораторий, администраторов, инспекторов безопасности, сотрудников охраны, инженерно-технических служб и, где это необходимо, работников правоохранительных органов. Также привлекают "ответственное должностное лицо" (ОДЛ) в тех случаях, когда оно назначено. ОДЛ обычно отвечает за разработку, обучение и внедрение планов безопасности, охраны и реагирования на нештатные ситуации. Этот специалист своевременно уведомляется обо всех случаях кражи, потери или высвобождения возбудителей. ОДЛ участвует в обеспечении доступа к патогенам только допущенных лиц и в контроле перемещения и транспортировки возбудителей из организации. ОДЛ может оказывать содействие в ведении подробной записи информации, необходимой для полного учета всех действий, связанных с использованием патогенов.

Основополагающим компонентом плана биологической защиты должна быть подробная оценка риска (7, 10); см. также раздел 2.3. Оценка риска с точки зрения биологической защиты должна включать перечень и анализ защищаемых ценностей, определять угрозы, характеризовать уязвимые места, планировать меры противодействия или смягчения последствий, специфичные для каждой организации. Далее план биологической защиты должен описывать следующие факторы (8, 11, 15): физическую защиту, пригодность и надежность персонала, учет патогенов и связанные с этим меры реагирования на нештатные и чрезвычайные ситуации.

Этот раздел был добавлен уже после заключительной встречи авторов данного руководства, принимая во внимание важность и актуальность вопроса о биологической охране. Однако по результатам обсуждения авторами специфические требования биологической охраны включены в Таблицы, приведенные в главах 4 и 5.

Физическая защита. Оценка риска по фактору физической защиты должна включать все уровни анализа биозащиты: защиту периметра, объекта, лаборатории, защиту конкретных возбудителей, а также намечать ме-

роприятия по защите зоны, например, использование карточек доступа, сенсорных ключей, замков и т.д. Все лаборатории должны принять правила биологической защиты для сведения к минимуму возможности несанкционированного проникновения в лаборатории, зоны содержания животных, склады, а также несанкционированного выноса заразного материала со своего объекта. Также необходимое внимание должно быть уделено вопросам защиты информации, включая данные и электронные технологии.

Пригодность и надежность персонала. Перед получением сотрудниками доступа в защищенную зону могут потребоваться анкетные проверки и оформление допуска. Эти факторы должны учитываться, как часть локальной процедуры оценки риска при разработке плана биологической защиты. Для установления личности персонала, имеющего доступ к зонам ограниченного доступа могут использоваться идентификационные карточки сотрудников с фотографиями и временные карточки для сопровождаемых посетителей. Необходимы процедуры одобрения и выдачи разрешения посетителям на вход в контролируемые зоны. В этом ключе доступ к культурам возбудителей и складским помещениям ограничивается только рамками целевого использования и допущенных лиц. Все сотрудники, имеющие доступ в контролируемые зоны, должны проходить обучение по правилам биологической защиты.

Учет патогенов. Процедуры учета патогенов должны включать инвентаризационные требования к надлежащей маркировке, отслеживанию текущей внутренней принадлежности, их обеззараживанию и утилизации после использования, а также к их передаче внутри объекта и за его пределами. Этот инвентаризационный контроль также помогает отслеживать места хранения патогенов и лиц, несущих ответственность за них. Инвентарные журналы необходимо вести регулярно, вносить дополнения по результатам диагностики, квалификационных испытаний, получения культур из других мест, а также снятия с учета возбудителей после осуществленных надлежащим образом отправок, дезактивации и последующей утилизации. Ведение записей должно включать инвентарные описи патогенов, перечни сотрудников, имеющих доступ к работе с возбудителями и лиц, допущенных в помещения, где осуществляется хранение патогенов и работа с ними, а также документы о передаче культур. Должен быть установлен порядок уведомления о выявлении, докладах и мерах по устранению проблем, связанных с защитой расхождения при инвентаризации, отказы оборудования, сбои в охране, высвобождение возбудителей и т.д.

Меры реагирования на нештатные и чрезвычайные ситуации. Необходимо разработать инструкцию об уведомлении и расследовании нештатных ситуаций, связанных с защитой, например, утери объектов с заразным материалом и несанкционированного проникновения в изолированные по-

мещения. Должен существовать механизм уведомления о выявлении случайных лиц и их выдворения. Планы реагирования на нештатные и чрезвычайные ситуации должны предусматривать ответ на преднамеренные (угроза применения бомбы и т.д.), непреднамеренные (случайный выброс) и естественные (перебои в электроснабжении, суровые погодные условия) события. Необходимо обеспечить тренировку всего соответствующего персонала по действиям в чрезвычайных ситуациях.

Требования к биологической защите объектов, работающих с инфекционными агентами в условиях УЗ-3 и УЗ-4, более строгие, чем для клинических или научно-исследовательских лабораторий УЗ-2. Рекомендации по практическому применению правил биозащиты (хранение патогенов, инвентаризации, журналы учета входа/выхода) и защитным элементам строительного проекта (замки, ограниченный доступ) включены в требования к каждому уровню защиты, изложенные в главах 3 и 4.

Для разработки регламента защиты и оценки угроз для каждого конкретного объекта, необходимо пользоваться экспертными оценками специалистов по охране и/или сотрудников правоохранительных органов. Оценку угроз и правила защиты следует регулярно анализировать и обновлять, чтобы отражать новые возможные опасности.

Список литературы

1. Laboratory biosafety manual. Geneva: World Health Organization, 1993. – 133 p.
2. Collins C.H., Kennedy D.A. Equipment- and technique-related hazards. In: Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions. Oxford, U.K.: Butterworth-Heinemann, 1999. – P. 65-109.
3. Collins C.H., Kennedy D.A. Exposure, sources and routes of infection. In: Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions. – Ibid. – P. 38-53.
4. Richmond J.Y., McKinney R.W. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999. – 250 p.
5. The management, design and operation of microbiological containment laboratories. Advisory Committee on Dangerous Pathogens, UK: Health and Safety Executive, 2001. – P. 7-16.
6. Biotechnology research in an age of terrorism: confronting the dual use dilemma. Washington, DC: The National Academic Press, 2004.
7. Public health response to biological and chemical weapons: WHO guidance. Geneva: World Health Organization, Draft 2003.
8. Interim final rule: CDC; Possession, use, and transfer of select agents and toxins. Federal Register, Department of Health and Human Services. – 2002. – 240 (67). – P. 76885-76905.
9. Richmond J.Y., McKinney R.W. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999. – 250 p.
10. Laboratory security and emergency response guidance for laboratories working with select agents // MMWR. – 2002. – V. 51. – P. 1-6.
11. ABSA biosecurity task force white paper: understanding biosecurity. American Biological Safety Association, January 2003. (<http://www.absa.org/0301bstf.htm>).
12. Biosafety, biosecurity, and biological weapons. Germany: The Sunshine Project, October 2003. – P. 1-22.
13. Salerno R., Koelm J.G. Biological laboratory and transportation security and the biological weapons convention. Albuquerque, New Mexico: Sandia National Laboratories, SAND No.2002-1067P, February 2002. – P. 1-9. (<http://cns.miis.edu/research/cbw/biosec/pdfs/sandia.pdf>).

14. Barletta M. Biosecurity measures for preventing bioterrorism. Center for Nonproliferation Studies, Monterey Institute of International Studies, 2002. – P. 1-11.
15. Tucker J.B. Biosecurity: limiting terrorist access to deadly pathogens. Washington, DC: United States Institute of Peace, Peaceworks, 2003. – P. 1-51.
16. Controls over biological, chemical, and radioactive materials at institutions funded by the U.S. Department of Agriculture. Washington, DC: United States Department of Agriculture, Report No. 50099-14-At, September 2003. – P. 1-43. (<http://www.usda.gov/oig/webdocs/50099-14-At.pdf>).

Глава 3. Обращение с инфекционным материалом

Сотрудники лабораторий, работающих с заразным материалом, подвергаются риску инфицирования микроорганизмами, с которыми они работают. Инфекции, приобретенные при работе в лаборатории, не являются редкими событиями: свыше 5000 случаев и 190 смертей зарегистрированы к 1999 году (1), причем предполагается, что указанные цифры значительно занижены из-за сокрытия таких фактов (2,3). Кроме того, лишь около 20 % инфекций могут быть отнесены к какому-либо известному событию единичного воздействия инфекта (4).

Существует несколько путей, с помощью которых заразный материал может проникать в тело и вызывать инфекцию, включая пероральный (проглатывание), аэрогенный (вдыхание), контактный через слизистые оболочки, в том числе через конъюнктиву (попадание микроорганизмов в глаза при посредстве загрязненных рук) и через поврежденную кожу.

К событиям, которые могут привести к заражению, относятся: воздействие микробных аэрозолей; проливы и разбрызгивание; случайные уколы иглой шприца; порезы острыми предметами и битым стеклом; укусы и царапины, нанесенные животными или эктопаразитами, пипетирование ртом (которое повсеместно запрещено), поломки центрифуги, вторичное распространение заразного материала за пределами лабораторной зоны. Контакт с аэрозолем является наибольшей биологической опасностью, с которой встречается персонал лабораторий (5). Аэрозоли создают опасность заражения в результате ингаляции, проглатывания, проникновения возбудителя через слизистые оболочки и т.д. Необходимо применять правила и методы работы сводящие к минимуму возможности образования аэрозолей в процессе обычной лабораторной деятельности.

В соответствии с оценкой, описанной в главе 2, разработаны ниже следующие правила для работы в лабораторных масштабах при использовании возбудителей болезней человека, в соответствии с четырьмя уровнями защиты.

3.1 Правила работы в лабораториях

3.1.1 Общие правила

Во всех лабораториях, проводящих работы с инфекционными материалами, необходимо применять следующие общие правила.

1. Для всего персонала должно быть доступно документированное методическое руководство по безопасности, требования которого необходимо соблюдать. Это руководство следует постоянно анализировать и обновлять.

2. Персонал должен получать специальную подготовку по возможным опасностям, связанным с выполняемой работой, и необходимым мерам предосторожности для предупреждения контакта с инфекционными агентами и выхода заразного материала из ограниченного пространства. Сотрудники обязаны продемонстрировать, что они усвоили учебный материал. Подготовка должна быть засвидетельствована документально и зафиксирована подписями как обучаемого, так и руководителя лаборатории. Необходимо проведение повторных циклов обучения.
3. Во всех лабораториях запрещено есть, пить, курить, хранить какую-либо еду, личные вещи и посуду, применять косметические средства, вставлять и удалять контактные линзы. Ношение контактных линз разрешается только в тех случаях, когда неприменимы другие формы коррекции зрения. Ношение ювелирных украшений в лаборатории не рекомендуется.
4. Пипетирование ртом любых веществ в лаборатории запрещено.
5. Длинные волосы должны быть завязаны сзади или покрыты таким образом, чтобы они не соприкасались с руками, образцами, контейнерами или оборудованием.
6. Доступ в лабораторию и вспомогательные зоны ограничен персоналом, имеющим на это разрешение.
7. Двери в лабораторию не должны оставаться открытыми. Это требование не относится к открытой зоне в пределах лаборатории.
8. Открытые раны, порезы, царапины и потертости должны быть закрыты повязками из водостойкого материала.
9. В лаборатории необходимо поддерживать чистоту и порядок. Хранение материалов, которые не предназначены для работы или не могут легко обеззараживаться (например, журналов, книг, корреспонденции) должно быть сведено к минимуму. Работу с бумагами, подготовку отчетов ведут вне зоны, где проводятся манипуляции с биологически опасными материалами.
10. Весь персонал, включая посетителей, стажеров и других лиц, входящих в лабораторию и работающих в ней, должен быть одет в тщательно застегнутую защитную лабораторную одежду. Во всех зонах лаборатории следует находиться в соответствующей обуви, закрывающей носки и пятки.
11. Там, где существует известный или потенциальный риск разбрызгивания веществ или воздействия летающих предметов при выполнении рядовых операций или при необычных обстоятельствах (например, при аварии) необходимо использовать средства защиты глаз и лица. Следует внимательно относиться к выявлению процедур, требующих защиты глаз и лица, и выбору подходящих средств в соответствии с риском.

12. Перчатки (например, латексные, виниловые, из сополимерных материалов) надевают при выполнении всех процедур, которые могут сопровождаться непосредственным контактом кожи рук с биологически опасным материалом или зараженными животными. Перчатки следует снимать перед выходом из лаборатории и обеззараживать вместе с другими отходами перед их удалением. Под обычные перчатки можно надевать перчатки из металлической сетки.
13. Защитную лабораторную одежду запрещено носить вне зон лаборатории. Нельзя хранить ее в соприкосновении с личной одеждой.
14. Если имеет место выявленный или предполагаемый контакт с биологически опасным материалом, загрязненная одежда должна быть обеззаражена до ее стирки (за исключением случаев, когда прачечная имеется в защищенной зоне и подтверждена ее эффективность по обеззараживанию).
15. Использование игл, шприцев и других острых предметов следует строго ограничить. Иглы и шприцы необходимо использовать только для парентерального введения жидкостей лабораторным животным и взятия у них биологических материалов, а также для отбора препаратов из флаконов с мембранами. При работе с иглами и шприцами надо проявлять осторожность во избежание случайного введения материала себе и образования аэрозоля во время использования и утилизации. При необходимости, такие манипуляции должны проводиться в БББ. Иглы нельзя сгибать, отрезать, повторно закрывать колпачками и отсоединять от шприца. Перед выбрасыванием их следует помещать в контейнер для острых предметов, устойчивый к проколам, – в соответствии со стандартом Z316.6-95(R2000) (6) Канадской ассоциации стандартов (КАС).
16. Руки моют после снятия перчаток, перед уходом из лаборатории и каждый раз после работы с материалом, заразным или подозрительным на зараженность.
17. Рабочие поверхности очищают и обеззараживают соответствующим дезинфектантом в конце дня, а также после каждого разбрызгивания потенциально биологически опасного агента. Рабочие поверхности, которые стали проницаемыми для биологических материалов (то есть треснувшие, вспученные, со сколами), подлежат замене или ремонту.
18. Загрязненные материалы и оборудование, вывозимое из лаборатории для обслуживания или на выброс, должны быть надлежащим образом дезинфицированы и помечены или промаркированы соответствующим образом.

19. Мониторинг эффективности работы автоклавов, используемых для обеззараживания, с использованием биологических индикаторов следует проводить регулярно (например, еженедельно, что зависит от частоты использования автоклава). Результаты тестирования и записи циклов автоклавирования (время, температура, давление) должны подшиваться и храниться в архиве.
20. Все твердые и жидкие загрязненные материалы должны быть обеззаражены перед утилизацией или повторным использованием. Эти материалы упаковывают таким образом, чтобы предотвратить попадание в окружающую среду загрязненного содержимого при их удалении. Централизованные автоклавные должны отвечать требованиям УЗ-2.
21. Средства для дезинфекции, активные в отношении используемых возбудителей, должны всегда быть в достаточном количестве в зонах, где осуществляется работа или хранение заразного материала.
22. Необходимо использовать герметичные контейнеры для транспортировки заразных материалов в пределах объекта (например, между лабораториями одного объекта).
23. О фактах проливания жидкой культуры, аварий, контакта с заразным материалом, нарушения целостности изоляции следует немедленно уведомлять руководителя лаборатории. Необходимо вести и хранить записи о таких нештатных ситуациях, а результаты их расследования использовать для дальнейшего обучения.
24. В лаборатории должна осуществляться эффективная программа контроля за грызунами и насекомыми.

3.1.2 Уровень защиты 2

Кроме общих правил, относящихся ко всем лабораториям, работающим с инфекционными материалами, существует необходимый минимум дополнительных требований для УЗ-2, которые описаны ниже.

1. Необходимо применять стандарты «хорошей лабораторной практики» (good laboratory practice, GLP), направленные на избежание утечек заразного материала.
2. Для методик, при выполнении которых могут образовываться аэрозоли, и при использовании больших объемов культур патогенных микроорганизмов следует применять БББ. Руководство лаборатории совместно с инспектором биологической безопасности или комиссией по биологической безопасности должны провести процедуру оценки риска для того, чтобы определить, при каких процедурах, концентрациях и объемах культур необходимо применение БББ.

3. При входе в каждую лабораторию прикрепляются соответствующие знаки, отражающие характер опасности (например, знак биологической опасности, указатель уровня защиты). Если используемые возбудители требуют определенных мер предосторожности при входе в лабораторию, это также должно быть написано на указателе. Должна быть также указана контактная информация о руководителе лаборатории или других ответственных лицах.
4. Вход в помещения разрешается лишь лабораторному персоналу, лицам, ухаживающим за животными, сотрудникам инженерно-технических и других служб в рамках выполнения ими своих обязанностей.
5. Весь персонал, работающий в защищенной зоне, обязан пройти обучение и следовать регламентам, установленным для осуществляемых процессов. Лица, проходящие подготовку, должны сопровождаться обученным специалистом. Посетители, сотрудники инженерно-технических служб, уборщики и другие необходимые работники в зависимости от вида деятельности либо также проходят подготовку, либо работают в защищенной зоне под надзором специалистов.
6. Должны быть разработаны, храниться в доступном месте и исполняться письменные инструкции о неотложных мерах по устранению протечек, действиях при поломке БББ, пожарах, бегстве лабораторного животного и других нештатных ситуациях. Осуществляется письменная регистрация лиц из других подразделений, входящих в лабораторию во время аварии.

3.1.3 Уровень защиты 3

Наряду с правилами техники безопасности, общими для всех микробиологических лабораторий, работающих с патогенными микроорганизмами, и дополнительными требованиями, предъявляемыми к организациям второго уровня защиты, при работе в лабораториях УЗ-3 добавляется еще ряд необходимых мер безопасности.

1. В лаборатории должна существовать программа управления вопросами биологической безопасности и назначены должностные лица с соответствующими полномочиями, обязанные следить за соблюдением правил безопасности и защиты (см. главу 2, раздел 2.5).
2. Любой человек, входящий в изолированную лабораторию, обязан прежде пройти курс подготовки по методикам, применяемым в ней, и должен продемонстрировать понимание предложенного материала. По результатам обучения составляется документ, ко-

торый подписывают данный сотрудник и руководитель лаборатории.

3. Персонал, работающий в защищенной зоне, должен знать о физических основах работы и структуре лаборатории (например, о градиенте давления воздуха между зонами, характере направленных потоков воздуха, сигналах тревоги, возникающих при нарушении работы вентиляционных систем, об изолирующем периметре).
4. В лаборатории должен быть разработан рабочий регламент, который каждый сотрудник обязан прочесть и письменно подтвердить, что он усвоил изложенный материал. Регламент описывает режим входа и выхода людей, вноса и выноса животных, оборудования и образцов и отходов. Общий регламент дополняется конкретными инструкциями по отдельным выполняемым проектам.
5. Персонал должен показать безукоризненное знание правил микробиологической работы и владение методиками.
6. Периодически сотрудники лаборатории проводят дымовое тестирование для проверки правильности направления воздушных потоков (например, с помощью дымового карандаша, помещаемого у двери между предбоксом и боксом и перед другими помещениями, если требуется). Перед входом в защищенную зону проверяют состояние защиты (например, проверяют показания прибора, осуществляющего мониторинг давления воздуха).
7. Сотрудники, направляющиеся в изолированное помещение, должны заблаговременно хорошо подготовиться, взять все необходимые материалы. Если они что-то забыли, следует придерживаться установленного порядка передвижения (то есть они не возвращаются назад, а связываются по телефону и просят сотрудников принести недостающие материалы, либо выходят из зоны с соблюдением регламента).
8. Текущая уборка лаборатории производится сотрудниками, использующими помещения защищенной зоны, или персоналом, специально подготовленным для этого вида работы.
9. Изолированная лаборатория должна постоянно запирается.
10. Инфекционные возбудители хранят внутри изолированной зоны. При хранении возбудителей за ее пределами их помещают в герметичные контейнеры и запирают. При этом инструкции по реагированию на нештатные ситуации должны учитывать возможное хранение инфекционных агентов вне изолированных помещений лаборатории УЗ-3.
11. Личные вещи, такие как бумажники, и личная одежда, не должны вноситься в защищенную (изолированную) зону.

12. Канализационные сифоны должны быть заполнены жидкостью (путем регулярного пользования умывальниками, с помощью автоматических праймеров или ручного заполнения в зонах, которые используются редко).
13. Лабораторные пробы и расходные материалы можно вносить в лабораторию или передавать через передаточное шлюзовое устройство. Если для этой цели используется проходной автоклав, он должен пройти цикл стерилизации до открывания наружной двери со стороны "чистой" зоны.
14. При входе в изолированную лабораторию персонал должен снять личную одежду и ювелирные украшения и надеть соответствующую лабораторную одежду и обувь. Перед выходом из зоны защитную одежду и обувь снимают таким образом, чтобы свести к минимуму возможность любого загрязнения кожи при соприкосновении с потенциально загрязненной лабораторной спецодеждой. Допустимой альтернативой является использование защитной одежды с полным покрытием (то есть полностью закрывающей всю личную одежду). Если имел место реальный или потенциальный контакт с возбудителем, вся одежда, включая личную, подлежит соответствующему обеззараживанию. В лабораториях, работающих с такими микроорганизмами, как вирус иммунодефицита человека, которые не вызывают инфекцию аэрогенным путем, снятие личной одежды не требуется.
15. При непосредственных манипуляциях с инфекционным материалом (например в БББ) дополнительный слой защитной одежды (халат со сплошной передней поверхностью, плотно фиксирующийся на запястьях, перчатки и респиратор) можно надевать поверх лабораторной и снимать по завершении операций(7).
16. Центрифугирование заразного материала проводят в закрытых емкостях, которые находятся в герметично закрывающихся адаптерах или роторах, и материал после центрифугирования извлекают в БББ.
17. Животные или членистоногие, которые были экспериментально инфицированы, должны оставаться в данной лаборатории или соответствующей изолированной зоне для содержания животных.
18. При известном или предполагаемом контакте с микробным аэрозолем, необходимость использования душа на выходе из лаборатории должна определяться имеющимся регламентом, основанном на результатах локальной оценки риска.
19. Все работы с заразным материалом проводятся в БББ. Если это невозможно, используют другие устройства для первичной защиты в сочетании с персональными защитными одеждой и оборудованием. Запрещены все виды манипуляций с открытыми со-

судами, содержащими культуры возбудителей, на открытом лабораторном столе.

20. Температурочувствительные материалы, которые не могут быть автоклавированы и покидающие изолированную лабораторию, должны быть обеззаражены иным способом на границе зоны (например, обработаны парами формальдегида, газообразной перекисью водорода или другими газами, подвергнуты действию жидких дезинфектантов или обеззаражены с использованием другой технологии с доказанной эффективностью).
21. Должны быть написаны, иметься в наличии и выполняться аварийные инструкции для случаев отказа вентиляционных систем и других нештатных ситуаций с нарушением физической защиты.
22. При авариях, связанных с угрозой для жизни, приоритетами являются личное здоровье и безопасность. Для таких событий должна быть предусмотрена процедура выхода из зоны, при которой обычные правила могут игнорироваться. При этом выявляют аварийную зону, в которой предпринимают дальнейшие действия (например, дезинфицируют обувь, меняют одежду, принимают душ).

3.1.4 Уровень защиты 4

Ниже описан необходимый минимум дополнительных правил техники безопасности, которые должны выполняться в организациях УЗ-4, наряду с общими мерами безопасности и защиты, относящимися ко всем лабораториям, работающим с инфекционными материалами, а также с минимальными дополнительными правилами, установленными для уровней защиты 2 и 3.

1. Должны быть введены в действие аварийные инструкции, в том числе для случаев повреждения защитных костюмов с положительным давлением, отказа в подаче воздуха для дыхания, выхода из строя химического душа.
2. Сотрудники обязаны немедленно извещать руководителя о любом необъяснимом недомогании с повышением температуры. Руководитель должен связываться с каждым сотрудником, отсутствующим на работе по неизвестным причинам.
3. Работодатель обязан установить связи с больницей/учреждением здравоохранения для того, чтобы иметь гарантию, что в случае аварийного контакта сотрудника с патогенным микроорганизмом 4-го уровня защиты, лечебный персонал имел полную информацию о данном возбудителе, и что в этом учреждении подготовлены соответствующие методы лечения сотрудника (больного).

4. Должны постоянно вестись записи об использовании помещений изолированной зоны (то есть журнал учета каждого входа и выхода) с указанием даты и времени.
5. Культуры и запасы патогенов должны храниться в безопасном месте в пределах изолированной зоны и подлежать инвентарному учету.
6. Ежедневно перед входом в лабораторию проводят проверку изолирующих систем (например, направленного потока воздуха, уровня дезинфектанта в химическом душе, критических точек в линии боксов биологической безопасности III класса) и систем жизнеобеспечения (например, системы дублирования подачи воздуха для дыхания).
7. Персонал, входящий в лабораторию, должен снять личную одежду, включая нижнее белье, и ювелирные украшения и надеть соответствующие лабораторную спецодежду и обувь.
8. Для работы необходимо надевать защитные костюмы с положительным давлением воздуха (работа по УЗ-4 в режиме костюма). Целостность костюма должна регулярно проверяться на просачивание воздуха.
9. Персонал в защитных костюмах, выходящий из помещений изолированной зоны, принимает химический душ соответствующей продолжительности. Используемый дезинфектант должен быть эффективным по отношению к возбудителю, с которым проводится работа, разведенным до необходимой концентрации и свежим. Это не относится к лабораториям УЗ-4, имеющим линии БББ III класса.
10. При выходе из изолированной зоны сотрудник принимает обычный душ для тела.
11. Какие-либо материалы из изолированной зоны могут выноситься только после надлежащего обеззараживания или специального разрешения инспектора биологической безопасности или иного уполномоченного лица.
12. При ведении работы в изолированной зоне необходимо присутствие компетентного сотрудника снаружи для оказания помощи в случае аварии.
13. Небольших лабораторных животных, приматов и насекомых, зараженных патогенами группы IV, содержат в условиях частичной изоляции (например, в клетках, помещенных в замкнутое помещение, оборудованное фильтрами тонкой очистки, ФТО).
14. Все лабораторные процедуры должны выполняться в БББ, в комбинации с использованием костюмов с положительным давлением воздуха, либо в БББ III класса.

15. Крупные животные требуют специального ухода и обращения, что не рассматривается в рамках данного руководства. Подробности можно узнать в руководстве "Стандарты биологической защиты для ветеринарных учреждений", разработанном КАИПП (8). С этим ведомством можно связаться, непосредственно позвонив в Отдел биологической защиты и безопасности по телефону (613) 221-70-88, или по Интернету, на веб-сайте: <http://www.inspection.gc.ca/english/sci/lab/bioe.shtml>.

Список литературы

1. Harding A.L., Brandt Byers K. Epidemiology of laboratory-associated infections. In: Fleming D.O., Hunt D.L. Biological safety: principles and practices. Washington, DC: ASM Press, 2000. – P. 35-54.
2. Pike R.M. Laboratory-associated infectious: incidence, fatalities, causes and preventions // Annu. Rev. Microbiol. – 1979. – V. 33. – P. 41-66.
3. Collins C.H., Kennedy D.A. Preface. In: Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions. Oxford, U.K: Butterworth-Heinemann, 1999. – P. ix-xi.
4. Pike R.M. Laboratory-associated infections. Summary and analysis of 3921 cases // Health Lab. Sci. – 1976. – V. 13. – P. 105-114.
5. Collins C.H., Kennedy D.A. Exposure, sources and routes of infection. In: Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions. Oxford, U.K: Butterworth-Heinemann, 1999. – P. 38-53.
6. Evaluation of single use medical sharps containers for biohazardous and cytotoxic waste. CSA standard Z316.6-95(R2000). Toronto: Canadian Standards Association, 2000.
7. Selection, use, and care of respirators. CSA Standard Z94.4-02. Toronto: Canadian Standards Association, 2002.
8. Containment standards for veterinary facilities. Ottawa: Agriculture and Agri-Food Canada, Minister of Supply and Services Canada, No. 1921/E, 1996.

Глава 4. Проектирование лабораторий и физические требования к ним

Цель настоящей главы – дать указания по проектированию и планировке лабораторий для достижения четырех уровней физической защиты, охарактеризованных в главе 2.

Эта глава состоит из пяти таблиц (матриц): "Местонахождение лаборатории и доступ в нее", "Отделка поверхностей (полов, стен, потолков, стыков) и лабораторная мебель", "Отопление, вентиляция и кондиционирование воздуха", "Изолирующий периметр" и "Инженерные системы лаборатории (водоснабжение, канализация, подводка газа, электричества и системы безопасности)".

Обозначения к таблице: ● – обязательное требование; ○ – рекомендуется

4.1 Таблица 1

Местонахождение лаборатории и доступ в нее

Таблица 1	Уровень защиты				Местонахождение лаборатории и доступ в нее
	1	2	3	4	
1	●	●	●	●	Лаборатория отделена от общедоступных мест дверью.
2		●	●	●	Доступ в лабораторию ограничен персоналом, имеющим допуск.
3		●	●	●	Двери в помещения лаборатории имеют соответствующую маркировку (например, знак биологической опасности, информацию об уровне защиты, лицах для контакта, требованиях для входа).
4	●	●	●	●	Размеры дверных проемов позволяют проносить все типы предполагаемого оборудования.
5		●	●	●	Двери в изолированную лабораторию снабжены замками (это не касается зон, расположенных внутри изолированной лаборатории).
6			●	●	Двери обеспечивают ограниченный доступ с помощью системы контроля доступа (например, кодового замка, открываемого карточкой-ключом, или иной системы).

Таблица 1	Уровень защиты				Местонахождение лаборатории и доступ в нее
	1	2	3	4	
7			○	●	Электронные запирающие системы дублируются механическими замками.
8		○	●	●	Офисные помещения располагаются вне изолированной лаборатории. Рабочие места для записи данных могут находиться внутри, но отдельно от рабочих участков зоны.
9			●	●	Вход в лабораторию осуществляется через санитарный пропускник.
10			●		Дверь санпропускника, расположенная между "чистой" и "грязной" комнатами для смены одежды, не открывается одновременно ни с дверью, ведущей в изолированную зону, ни с входной дверью в "чистую" комнату для смены одежды (с этой целью допускается использовать как блокировку дверей, так и визуальную или звуковую сигнализацию, либо регламент прохода).
11				●	Дверь санпропускника, расположенная между "чистой" и "грязной" комнатами для смены одежды, не открывается одновременно ни с дверью, ведущей в "заразную" зону, ни с входной дверью в "чистую" комнату для смены одежды (используется только блокировка дверей).
12			●	●	Если установлены блокируемые двери, они снабжены ручной отменой блокировки для аварийного выхода.
13			●	●	Вход в "заразную" зону осуществляется через помещения для смены одежды (санпропускник), разделяющие личную и лабораторную одежду, предназначенную для данной зоны (то есть "чистая" и "грязная" комнаты для смены одежды отделены друг от друга).

Таблица 1	Уровень защиты				Местонахождение лаборатории и доступ в нее
	1	2	3	4	
14			●	●	Выход из лаборатории обеспечен проходным душем, который расположен на границе "заразной" зоны (то есть между "грязным" и "чистым" отделениями санпропускника). Для лабораторий УЗ-З, работающих с такими патогенами, как вирус иммунодефицита человека, которые не передаются аэрогенным путем, это требование не обязательно.
15				●	Вход в лабораторию осуществляется через санпропускник с герметичными дверями (например, используется надувная или компрессионная герметизация). Это требование не распространяется на лаборатории, использующие только линии БББ III класса.
16				●	Вход в "заразную" зону осуществляется через помещение для смены костюма. На границе изолированной зоны (то есть между ней и помещением для смены костюма) установлен химический душ. На выходе из лаборатории (то есть между "грязным" и "чистым" отделениями санпропускника) имеется водяной душ. Для лабораторий, использующих только линии БББ III класса, наличие помещения для смены костюма и химического душа не требуется.
17			○	●	Изолированные лаборатории располагают в непосредственной близости от вспомогательных зон технического обслуживания, чтобы ограничить количество потенциально загрязняемых элементов оборудования.
18			○	●	Изолированные лаборатории располагают в удалении от внешних несущих стен здания.
19			○	○	Вспомогательная лабораторная зона для проведения всех видов препаративной работы примыкает к изолированной зоне.

4.2 Таблица 2

Отделка поверхностей (полов, стен, потолков, стыков) и лабораторная мебель

Таблица 2	Уровень защиты				Отделка поверхностей (полов, стен, потолков, стыков) и лабораторная мебель
	1	2	3	4	
1		○	●	●	Двери, рамы, мебель, поверхности столов должны быть неабсорбирующими (то есть при их изготовлении избегают использования органических материалов).
2		●	●	●	Рабочие поверхности столов должны быть неабсорбирующими.
3	○	●	●	●	Поверхности в соответствии с их назначением являются устойчивыми к царапанию, краскам, влажности, нагреванию.
4	○	○	●	●	Поверхности в соответствии с их назначением являются ударопрочными.
5		○	●	●	Поверхности непрерывны и совместимы по отношению к примыкающим и перекрывающим их материалам (то есть обеспечивают плотное соединение и непрерывный периметр). В лабораториях УЗ-3 приемлемы сварные швы между стенами и полом.
6			●	●	Поддерживается герметичность соединений между полом и стенами (рекомендуется делать пол с выкружками, то есть со скругленным переходом на стены).
7			●	●	Внутренние поверхности сводят к минимуму проникновение газов и жидкостей через оболочку периметра.
8	○	●	●	●	Внутренние покрытия устойчивы к действию газов и химикатов в соответствии с их лабораторным назначением (например, выдержат химическую дезинфекцию, фумигацию).
9			●	●	Внутренние покрытия легко подвергаются очистке.
10				●	Помещения обладают структурной устойчивостью. Они способны выдерживать нагрузку, равную 1,25 от максимального проектного давления воздуха, которая может возник-

Таблица 2	Уровень защиты				Отделка поверхностей (полов, стен, потолков, стыков) и лабораторная мебель
	1	2	3	4	
					нать при поломке приточного или вытяжного вентилятора (то есть не повреждаются и не искривляются стены).
11	○	○	●	●	Поверхности столов не имеют открытых стыков.
12	○	○	○	○	Поверхности столов препятствуют проливаннию жидкостей (например, за счет бортиков, каплеуловителей).
13	○	○	○	●	Столы, двери, выдвижные ящики, дверные ручки и т.д. имеют закругленные края и углы.
14	○	○	○	○	Если столы, стоящие у стены, имеют высокий задний борт, он герметизируется в месте соединения со стеной.
15	○	○	○	○	Полки для хранения химических реактивов имеют приподнятые края.
16	○	○	○	○	Выдвижные ящики оборудованы стопорами, предохраняющими их от падения при полном выдвижении из шкафа.
17				○	Выдвижные ящики имеют цельную конструкцию (сделаны из одного куска материала).
18	○	○	○	○	Дверцы шкафов не запираются автоматически.

4.3 Таблица 3

Отопление, вентиляция и кондиционирование воздуха (ОВК)

Таблица 3	Уровень защиты				ОВК
	1	2	3	4	
1		○	●	●	100 % воздуха подается извне.
2			●	●	Направление потока воздуха внутрь всегда обеспечивается таким образом, чтобы он шел в зоны наибольшей изоляции (например, создается разница давления ± 25 Па).
3			●	●	На входе в изолированную лабораторию устанавливают визуальные устройства слежения за разницей давления.
4				●	Линии мониторинга дифференциала давления, проникающие через изоляционный барьер, оснащаются фильтрами, эквивалентными по эффективности ФТО.
5			●	●	Для предупреждения об отказе систем воздухообмена подключают визуальную или звуковую сигнализацию в лаборатории и снаружи (для предупреждения других сотрудников и персонала инженерно-технических служб).
6			●		Трубы притока воздуха обеспечиваются защитой от противотока (например, с помощью установки ФТО или герметичной заслонки обратной тяги) в лабораториях, где установлена целесообразность этого при локальной оценке риска.
7				●	Трубы притока воздуха снабжены ФТО.

Таблица 3	Уровень защиты				ОВК
	1	2	3	4	
8			●	●	<p>Система воздухозабора независима от других зон лаборатории. Забор воздуха в помещения УЗ-3 может комбинироваться с зоной более низкого уровня изоляции при условии, если он обеспечен устройством защиты от противотока (ФТО или герметичной заслонкой обратной тяги), установленным за местом соединения по ходу тока воздуха.</p> <p>Для лабораторий УЗ-3, работающих с такими патогенами, как вирус иммунодефицита человека, которые не передаются аэрогенным путем, этот критерий носит рекомендательный характер.</p>
9			●	●	<p>Система приточной вентиляции блокируется (вентиляторы, заглушки, электрические устройства) системой вытяжной вентиляции для предотвращения длительного повышения давления в лаборатории.</p>
10			●	●	<p>Отработанный воздух фильтруется через ФТО.</p> <p>Для лабораторий УЗ-3, работающих с такими патогенами, как вирус иммунодефицита человека, которые не передаются аэрогенным путем, это требование не обязательно.</p>
11				●	<p>Отработанный воздух проходит два этапа фильтрации через ФТО.</p>
12			●	●	<p>ФТО, установленные в приточно-вытяжной вентиляции, соответствуют требованиям стандарта IEST-RP-CC001.3 (1).</p>
13				●	<p>Кожухи ФТО на приточных вентиляционных трубах должны выдерживать без нарушения структуры давление 2500 Па (около 10 д. вод. ст.).</p>
14			●		<p>Там, где трубы притока воздуха в соответствии с локальной оценкой риска обеспечены защитой от противотока, кожухи ФТО должны выдерживать без нарушения структуры давление 2500 Па (около 10 д. вод. ст.).</p>
15			●	●	<p>Кожухи ФТО на вытяжных вентиляционных</p>

Таблица 3	Уровень защиты				ОВК
	1	2	3	4	
16			●	●	<p>трубах должны выдерживать без нарушения структуры давление 2500 Па (около 10 д. вод. ст.) и быть обеспечены методикой изоляции и обеззараживания фильтров.</p> <p>Система вытяжной вентиляции независима от других зон лаборатории. Вытяжка воздуха из помещений УЗ-3 может комбинироваться с зонами более низкого уровня изоляции при условии, если она обеспечена ФТО, установленным перед местом соединения. Для лабораторий УЗ-3, работающих с такими патогенами, как вирус иммунодефицита человека, которые не передаются аэрогенным путем, этот критерий носит рекомендательный характер.</p>
17			○	●	<p>Системы приточно-вытяжной вентиляции, расположенные вне изолированной зоны, должны быть доступны для ремонта, технического обслуживания, очистки и осмотра.</p>
18				●	<p>Трубопровод приточной системы, расположенный вне изолирующего периметра (например, между изолирующим периметром и ФТО или герметичной заслонкой обратной тяги), герметизируется в соответствии с классом А, как принято Национальной ассоциацией подрядчиков по листовому металлу и кондиционированию воздуха (НАПЛМК) США (2).</p>
19			●		<p>Там, где в соответствии с локальной оценкой риска требуется защита от противотока воздуха, приточные трубы, расположенные вне изолирующего периметра (например, между изолирующим периметром и ФТО или герметичной заслонкой обратной тяги), герметизируются в соответствии с классом А по системе НАПЛМК (2).</p>
20			●	●	<p>Трубопровод вытяжной системы, расположенный вне изолирующего периметра (например, между изолирующим периметром и ФТО или герметичной заслонкой обратной</p>

Таблица 3	Уровень защиты				ОВК
	1	2	3	4	
21			●	●	<p>тяги), герметизируется в соответствии с классом А по системе НАПЛМК (2).</p> <p>Для лабораторий УЗ-3, работающих с такими патогенами, как вирус иммунодефицита человека, которые не передаются аэрогенным путем, это требование не обязательно.</p> <p>Устройства для контроля воздушных потоков и датчики, установленные в трубах, должны находиться за ФТО вытяжной системы и перед герметичной заслонкой обратной тяги или ФТО приточной системы. Если же они расположены перед ФТО вытяжной системы, отверстия в местах установки устройств контроля и датчиков герметизируются по классу А системы НАПЛМК (2).</p> <p>Для лабораторий УЗ-3, работающих с такими патогенами, как вирус иммунодефицита человека, которые не передаются аэрогенным путем, это требование не обязательно.</p>
22			●	●	<p>Герметичные заслонки обратной тяги и ФТО располагают в непосредственной близости от изолирующего периметра.</p> <p>Для лабораторий УЗ-3, работающих с такими патогенами, как вирус иммунодефицита человека, которые не передаются аэрогенным путем, это требование не обязательно.</p>

4.4 Таблица 4 Изолирующий периметр

Таблица 4	Уровень защиты				Изолирующий периметр
	1	2	3	4	
1	○	●			Имеется в наличии автоклав или другой приемлемый метод обработки отходов перед их утилизацией.
2			●	●	<p>На границе изолированной зоны устанавливаются двухдверный проходной автоклав в герметичном кожухе. Корпус автоклава предпочтительно помещать на "чистой" стороне для упрощения технического обслуживания.</p> <p>Для лабораторий УЗ-3, работающих с такими патогенами, как вирус иммунодефицита человека, которые не передаются аэрогенным путем, требование о том, что автоклав должен быть двухдверным проходным не обязательно.</p>
3			●		Проходной автоклав оборудован блокировкой дверей или сигнализацией (визуальной или звуковой) для предупреждения одновременного открывания обеих дверей.
4				●	Проходной автоклав оборудован блокировкой дверей и сигнализацией (визуальной или звуковой) для предупреждения одновременного открывания обеих дверей.
5			●	●	Для материалов, которые нельзя автоклавируют (например, термочувствительное оборудование, образцы, пленки), должны быть обеспечены другие виды обработки отходов на границе изолированной зоны (например, сжигание, применение жидких дезинфектантов или газов).
6			●	●	Все отверстия в оболочке изолирующего периметра герметизируются безусадочным герметиком.
7			●	●	Все короба и проводка, проходящие через изолирующий периметр, герметизируются безусадочным герметиком.
8	●	●			Окна, если они открываются, защищены сет-

Таблица 4	Уровень защиты				Изолирующий периметр кой от мух.
	1	2	3	4	
9			●	●	Окна, располагающиеся на границе изолированной зоны, герметизируют на месте. Материал остекления подбирают в соответствии с требуемым уровнем защиты.
10			○	○	На изолирующем периметре зоны устанавливают окна для наблюдения.

4.5 Таблица 5

Инженерные системы лаборатории (водоснабжение, канализация, подводка газа, электричества и системы безопасности)

Таблица 5	Уровень защиты				Инженерные системы лаборатории (водоснабжение, канализация, подводка газа, электричества и системы безопасности)
	1	2	3	4	
1	●	●			У выхода из лаборатории расположены вешалки для лабораторной одежды. Места для личной и лабораторной одежды разделены.
2	●	●	●	●	Рядом с выходом из лаборатории или в санпропускнике установлены раковины для мытья рук. Данное требование неприменимо для лабораторий УЗ-4, использующих костюмы с положительным давлением.
3		○	●	●	Раковины для мытья рук автоматизированы для использования без помощи рук.
4			●	●	Лаборатория обеспечена БББ и другими устройствами первичной защиты.
5		○			Лаборатория обеспечена БББ и другими устройствами первичной защиты. Примеры их использования: методики с возможным образованием аэрозолей, использующие высокие концентрации и большие объемы культур, а также определенные виды возбудителей.
6		●	●		Применяются устройства для аварийного промывания глаз в соответствии с правилами ANSI Z358.1-1998 (3).
7		●			Применяется душевое оборудование в соответствии с правилами ANSI Z358.1-1998 (3).
8			●		Если невозможно ограничить количество используемых в лаборатории вредных химикатов, то устанавливается аварийное душевое оборудование в соответствии с правилами ANSI Z358.1-1998 (3).

Таблица 5	Уровень защиты				Инженерные системы лаборатории (водоснабжение, канализация, подводка газа, электричества и системы безопасности)
	1	2	3	4	
9			●	●	Водопровод, снабжающий лабораторию, обеспечивается защитой от противотока в соответствии с руководством КАС CAN/CSA-B64.10-01/B64.10.1-01 (4) и запорным клапаном, который расположен в не посредственной близости от изолирующего периметра.
10			●		Канализационные и связанные с ними трубы (включая трубы отвода конденсата из автоклавов) отделены от зон с более низкими уровнями изоляции и впадают непосредственно в главный канализационный коллектор здания в месте его выхода из здания (далее всех других мест соединения).
11				●	Канализационные и связанные с ними трубы (включая трубы отвода конденсата из автоклавов) отделены от зон с более низкими уровнями изоляции и соединены с системой обеззараживания стоков.
12				●	Канализационные трубы, соединенные с системой обеззараживания стоков, должны иметь уклон вниз для обеспечения стекания жидких отходов под действием силы тяжести. В трубах устанавливают клапаны для разделения канализации на секции с целью локального обеззараживания. Компоненты системы обеззараживания стоков (трубы, клапаны, резервуары) должны быть устойчивыми к действию высоких температур и применяемых химических веществ.
13			●	●	Линия отвода конденсата из автоклава должна иметь закрытое подключение. Для лабораторий УЗ-3 допустимо открытое подключение, если оно находится в пределах изолирующего периметра.
14			●	●	Канализационные сифоны (ловушки), должны иметь уровень заполнения с учетом возможных перепадов давления.

Таблица 5	Уровень защиты				Инженерные системы лаборатории (водоснабжение, канализация, подводка газа, электричества и системы безопасности)
	1	2	3	4	
15			○	●	Спускные отверстия в полу не применяются, за некоторыми исключениями, когда это важно (в душевых для мытья тела, в помещениях для содержания животных)
16				●	Дренажная система (включая систему обеззараживания стоков), обеспечивается фильтрами, эквивалентными по эффективности ФТО, и допускающими изоляцию и обеззараживание.
17			●		<p>Дренажные линии лаборатории независимы от дренажных линий помещений с более низким уровнем защиты, а если соединяются с ними, то оборудуются фильтром, эквивалентным по эффективности ФТО, перед местом соединения.</p> <p>Для лабораторий УЗ-3, работающих с такими патогенами, как вирус иммунодефицита человека, которые не передаются аэрогенным путем, это требование не обязательно.</p>
18			○	●	Баллон(ы) со сжатым газом устанавливают вне лаборатории.
19				●	Трубы, снабжающие лабораторию газами (например, углекислым газом, сжатым воздухом), обеспечены защитой от противотока.
20			●	●	В лаборатории должен иметься портативный вакуумный насос. Возможность его внутреннего загрязнения сводят к минимуму (например, с помощью установки ФТО на вакуумной линии, использования сифона с дезинфектантом).

Таблица 5	Уровень защиты				Инженерные системы лаборатории (водоснабжение, канализация, подводка газа, электричества и системы безопасности)
	1	2	3	4	
21				●	Лаборатория должна быть обеспечена сжатым воздухом для дыхания, который используется в персональном защитном оборудовании с положительным давлением (например, подключается к воздушному патрубку костюма). Оборудование для снабжения сжатым воздухом включает воздушные компрессоры и баллоны дублирующей подачи, с запасом воздуха достаточного для автономного пользования одним человеком в течение 30 мин. Точки подключения сжатого воздуха должны иметься во всех зонах, где используют костюмы с положительным давлением, включая химический душ и помещение для смены костюма.
22			●	●	Лаборатория обеспечивается системой аварийного освещения.
23			●	●	Системы жизнеобеспечения, освещения, охраны и ОВК, БББ, системы охраны и другое важное оборудование в случае аварийного отключения электричества подключаются к запасной линии питания.
24			●	●	Прерыватели цепи располагаются вне изолированной зоны.
25			○	○	Стабилизаторы и стартеры ламп дневного света располагаются вне изолированной зоны.
26			●	●	Лаборатория оборудуется системой связи между изолированной и вспомогательными зонами.
27			●	●	Лаборатория оборудуется системой электронной передачи информации и данных (например, факсом, компьютером) из лаборатории за ее пределы. Примечание: бумаги из изолированной зоны можно выносить после надлежащей дезинфекции (автоклавирования, облучения, микроволновой обработки). Такая практика не рекомендуется для постоянного использования.

Таблица 5	Уровень защиты				Инженерные системы лаборатории (водоснабжение, канализация, подводка газа, электричества и системы безопасности)
	1	2	3	4	
28				●	Изолированная зона должна находиться под наблюдением, например, с помощью кабельной видеосистемы, из "чистых" помещений (например, из подразделений охраны и биологической безопасности).

Список литературы

1. HEPA and ULPA filters. IEST-RP-CC001.3. Rolling Meadows, IL: The Institute of Environmental Science and Technology, 1993.
2. HVAC air duct leakage test manual. Chantilly, Virginia: Sheet Metal and Air Conditioning Contractors National Association, Inc., 1985.
3. American national standard for emergency eyewash and shower equipment. ANSI Z358.1-1998. Arlington, Virginia: American National Standards Institute, Inc., 1998.
4. Manual for the selection and installation of backflow prevention devices / Manual for the maintenance and field testing of backflow prevention devices. CAN/CSA-B64.10-01/B64.10.1-01. Toronto, ON: Canadian Standards Association, 2001.

Глава 5. Ввод в эксплуатацию, аттестация и повторная аттестация лабораторий третьего и четвертого уровней защиты

5.1 Введение

В данном документе термин «ввод в эксплуатацию» определяется как проверка конструкции здания(й) и работоспособности важнейших компонентов защиты, и является одной из составных частей процесса аттестации. «Аттестация» подразумевает успешное завершение такой проверки, а также установление соответствия объекта и оперативных регламентов, разработанных для его эксплуатации требованиям, текущей версии настоящего руководства. «Повторная аттестация» представляет собой подтверждение того, что объект продолжает соответствовать требованиям, описанным в настоящем руководстве, и прошло процесс повторного ввода в эксплуатацию, как описано ниже.

5.1.1 Ввод в эксплуатацию

Ввод в эксплуатацию систем здания – это процесс, который позволяет удостовериться, что построенное здание, установленные оборудование и системы будут функционировать в соответствии с назначением проекта и строительными документами. Рекомендуется начинать работу по вводу в эксплуатацию на ранних стадиях планирования, продолжать ее во время строительства и завершать в рамках аттестации лаборатории.

Для доказательства того, что физические требования выполнены в соответствии с ожидаемым уровнем защиты и использованием объекта, каждая лаборатория должна пройти проверку по детальному графику. Он требует проверки и документирования критических компонентов защиты, пуска оборудования, калибровки систем контроля, наладки и проверки работоспособности. Проверка полного набора чертежей и спецификаций, понимание назначения и характера ожидаемых работ, список требований к оборудованию, результаты всех испытаний, уяснение целей работы всех систем; - все это является составной частью пуско-наладочных работ. Ввод в эксплуатацию является необходимым этапом аттестации лабораторий УЗ-3 и УЗ-4.

5.1.2 Аттестация

Таблица важнейших компонентов защиты, которые проверяют при первичной аттестации, приведена ниже. До начала работы с патогенными микроорганизмами в условиях данного уровня защиты должны быть также

определены соответствующие операционные процедуры. Важнейшим аспектом этого процесса является подготовка персонала, которая может проходить через этап первоначальной работы с возбудителями, требующими более низкого уровня защиты. Персонал, наряду с готовностью к научно-исследовательской работе, должен понимать структуру и работу систем защиты. Должны вестись и храниться подробные записи процесса аттестации лаборатории и результаты испытаний.

5.1.3 Повторная аттестация

Необходимо также проводить повторную аттестацию определенных компонентов системы защиты, характер и частота которой зависят от ряда факторов. Например, проверка направления движения воздуха, выявление любых видимых на глаз протечек в периметре помещения, повторная калибровка контроллеров и измерительных приборов, мониторинг эффективности таких систем обеззараживания, как автоклавы, могут выполняться на постоянной основе без остановки работы изолированной зоны. Слежение за уровнем сопротивления потоку воздуха через ФТО, стоящие в системах воздухообмена, с использованием устройств определения давления дает информацию о необходимости и частоте замены ФТО. Повторная проверка целостности периметра помещения и трубопроводов (каналов) необходима после внесения любых структурных изменений. Повторное тестирование систем контроля ОВК на надежность не требуется, если не проводились работы по замене их компонентов и модернизации.

5.2 Целостность помещений

Проверять целостность изолированных помещений можно с помощью дымового теста, который позволяет выявлять протечки в периметре комнаты. Все точки соединения, углы и загерметизированные отверстия должны быть тщательно исследованы на возможность просачивания воздуха. Проверка целостности помещения с помощью теста на спад давления показывает уровень герметичности периметра комнаты в целом, то есть способность газов и жидких веществ проходить через оболочку периметра и отверстия в ней.

Обозначения к таблице: ● – обязательное требование; ○ – рекомендуется

5.2.1 Таблица 6
Целостность помещений

Таблица 6	Уровень защиты		Целостность помещений
	3	4	
1	●	●	<p>Целостность поверхностей периметра помещения проверяется визуально, с помощью дымового карандаша и других средств. Проверяют пол, стены и потолок на трещины, сколы и следы износа. Осматривают места соединения стен и пола, а также стен и потолка.</p> <p>Критерии приемки: подтверждение целостности герметизации всех отверстий в периметре (для оборудования, коммуникаций и т.д.), а также вокруг дверей, окон, автоклавов и т.д.</p>
2		●	<p>Целостность физического барьера защиты определяют с помощью теста на спад давления в помещении.</p> <p>Критерии приемки: два последовательных теста на спад давления от первоначального значения 500 Па, или 2 д. вод. ст. (около 51 мм вод. ст.) до величины не менее, чем 250 Па, за время свыше 20 мин (1).</p> <p>Этот тест не является обязательным требованием для повторной аттестации, если не было внесено никаких модификаций и изменений, которые могли бы повлиять на целостность помещений, и если визуальная проверка оболочки изолирующего периметра показала, что целостность ее не нарушена. Если при визуальной проверке возникли подозрения о нарушении целостности, необходимость проведения теста на спад давления устанавливают комиссионно, с участием руководителя лаборатории и инспектора биологической безопасности или комиссии организации по биологической безопасности.</p>

5.2.2 Тест на спад давления

Тестирование помещения на спад давления в основном сводится к следующему:

- Проверяемую зону изолируют, тщательно закрывая все двери, клапаны и герметичные заслонки обратной тяги по границе периметра. При этом избегают мер временной герметизации дверей, окон и коммуникаций, которые привели бы к маскировке постоянно присутствующего герметика и не позволили бы проверить загерметизированные отверстия и щели на просачивание воздуха. Включают все линии датчиков давления, например, магнитно-спиральные манометры.
- Откалиброванный наклонный манометр (манометр с наклонной U-образной трубкой) устанавливают на границе периметра таким образом, чтобы на его показания не влияло распределение воздуха. Точность манометра должна составлять не менее 10 Па (около 1 мм вод. ст.), и он должен измерять давление до 750 Па (1).
- Устанавливают шариковый клапан в трубку между вакуумным насосом и комнатой или вентилятором и помещением для герметизации помещения в момент достижения необходимого давления.
- Подсоединяют помещение к источнику вакуума, и создают разницу отрицательного давления величиной 500 Па. Закрывают клапан между насосом (вентилятором) и помещением.
- Динамика падения давления, начиная с разностного давления в 500 Па записывается через каждую минуту в течение 20 мин.
- Если необходим повторный тест, его проводят через 20 мин.
- Отсоединяют вакуумный насос (или вентилятор) и медленно открывают шариковый клапан, позволяя давлению в помещении вернуться к исходному значению.
- Если просачивание воздуха превышает приемлемую величину:
 - в помещение нагнетают воздух для создания положительного давления, достаточного, чтобы найти протечки;
 - при постоянном положительном давлении используют мыльный раствор в тестируемых участках (в местах соединения, углах, герметизированных отверстиях и т.д.) или локализуют течь по звуку (возможно применение специального электронного звукового детектора);
 - отмечают места образования пузырей;
 - после устранения течи тест повторяют.

5.3 Системы воздухообмена

Ввода в эксплуатацию требуют различные компоненты системы воздухообмена изолированного помещения. Воздушные потоки для БББ должны соответствовать требованиям производителя. Необходима проверка целостности ФТО (отсутствия протечек в фильтрующих материалах, уплотнителе и между фильтром и кожухом). Тестирование герметичности кожуха ФТО проводится с помощью распыления частиц известной концентрации и сканирования процента их проникновения за ФТО. Системы воздухопроводов проверяют с помощью теста на спад давления, чтобы подтвердить, что допустимые величины утечки воздуха не превышены. Стандарт N510 "Проверка систем обработки воздуха на ядерных объектах" Американского общества инженеров-механиков (АОИМ), 1989, пересмотренный в 1995г.(2) предлагает методики для проверки воздухопроводов и камер на протечки. Характеристики систем контроля давления воздуха в помещениях должны отвечать их назначению (например, поддерживать отрицательное давление).

Для аттестации лабораторий необходимо выполнение следующих требований и критериев.

5.3.1 Таблица 7 Системы воздухообмена

Таблица 7	Уровень защиты		Системы воздухообмена
	3	4	
1	●	●	БББ I и II классов проверяют на месте в соответствии со стандартами США 49-2002 (3) или КАС Z316.3-95 (4).
2	●	●	БББ класса III тестируют на месте в соответствии с руководством по лабораторной безопасности Национальных институтов здоровья США (5) и европейским стандартом BS EN 12469-2000 (6).
3	●	●	Блокировка внутренних приточного и вытяжного вентиляторов в БББ класса II, типа B2, проверяется в соответствии со стандартом США 49-2002 (3), для подтверждения, что при отказе вытяжного вентилятора приточный – автоматически отключается.

Таблица 7	Уровень защиты		Системы воздухообмена
	3	4	
4	●	●	Аварийную сигнализацию на обнаружение отказа в работе БББ или вытяжного вентилятора проверяют с помощью имитации условий тревоги.
5	●	●	<p>Целостность ФТО, установленных в систему приточной вентиляции как метод защиты от противотока, а также ФТО вытяжной системы тестируют с помощью распыления частиц с последующим сканированием, как описано в инструкции Института экологии и изучения окружающей среды, США (7).</p> <p>Критерии приемки: проникновение частиц не должно превышать 0,01 %.</p> <p>Небольшие фильтры, установленные в воздуховодах, не требуют сканирования. Программа их технического обслуживания включает лишь визуальное обследование и регулярную замену.</p>
6	●	●	<p>Целостность кожухов ФТО с впускными и выпускными герметичными заслонками, установленных в вытяжных воздуховодах, а также в приточных линиях, где ФТО используются в качестве защиты от противотока, проверяют на месте с помощью теста на спад давления в соответствии со стандартом N510 АОИМ (2).</p> <p>Критерии приемки: уровень утечки воздуха не должен превышать 0,1 % объема кожуха в минуту при минимальном тестовом давлении 1000 Па.</p> <p>Тест не является обязательным для повторной аттестации, если не было внесено никаких физических модификаций и изменений в системе вентиляции. Если модификации имели место, руководитель лаборатории совместно с инспектором биологической безопасности и/или комиссией организации по биологической безопасности определяют степень изменений в системе и необходимость проведения данного теста.</p>

Таблица 7	Уровень защиты		Системы воздухообмена
	3	4	
7	●		<p>Приточные воздуховоды, где требуется защита от противотока, и вытяжные воздуховоды, расположенные между периметром изолированной зоны и ФТО или герметичной заслонкой обратной тяги, проверяют на месте с помощью теста на спад давления в соответствии со стандартом N510 АОИМ (2).</p> <p>Критерии приемки: уровень утечки воздуха не должен превышать 0,1 % объема воздуховода в минуту при минимальном тестовом давлении 1000 Па.</p>
8		●	<p>Приточные и вытяжные воздуховоды между периметром изолированной зоны и ФТО или герметичной заслонкой обратной тяги, проверяют на месте с помощью теста на спад давления в соответствии со стандартом N510 АОИМ (2).</p> <p>Критерии приемки: уровень утечки воздуха не должен превышать 0,1 % объема воздуховода в минуту при минимальном тестовом давлении 1000 Па.</p>
9	○	○	<p>Для повторной аттестации не требуется тестировать на спад давления все приточные и вытяжные воздуховоды, если не было внесено никаких физических модификаций в системе вентиляции. Если модификации имели место, руководитель лаборатории совместно с инспектором биологической безопасности и/или комиссией организации по биологической безопасности определяют степень изменений в системе и необходимость проведения данного теста.</p>
10	●	●	<p>Проверяют соотношение давлений между соседними помещениями (например, между "чистым" отделением санпропускника и "грязным", или между "грязным" отделением санпропускника и соседним помещением изолированной зоны).</p> <p>Критерии приемки: в норме визуально реги-</p>

Таблица 7	Уровень защиты		Системы воздухообмена
	3	4	
11	●	●	<p>стрируются потоки воздуха, направленные внутрь соседних помещений (например, с помощью дымового карандаша, который подносят к каждой двери, ведущей в смежные комнаты).</p> <p>Надежность систем контроля проверяют с помощью имитации отказа различных компонентов системы (имитации поломки вытяжного и приточного вентиляторов, вытяжки в БББ класса II, типа В2, отключения электричества там, где это возможно). Сюда же включают проверку аварийной сигнализации.</p> <p>Критерии приемки: поток воздуха, направленный внутрь. Необходимо предотвращать длительный противоток через изолирующий барьер.</p> <p>Этот тест не обязателен для повторной аттестации если не проводились работы по модернизации и внесению логических изменений в устройства систем контроля. Если модификации имели место или наблюдались частые сбои или поломки в компонентах систем контроля, то необходимость проверки определяется в ходе консультации с инспектором биологической безопасности и/или комиссией организации по биологической безопасности. Проверка систем контроля может потребовать предварительного обеззараживания. Такие испытания необязательно проводить ежегодно, но периодическая проверка необходима. Для определения нужной периодичности см. спецификации производителей установленного оборудования.</p>

5.4 Таблица 8

Оборудование и инженерные системы лаборатории

Таблица 8	Уровень защиты		Оборудование и коммуникации лаборатории
	3	4	
1	●	●	Работа предохранителя противотока воды проверяется в соответствии со стандартом КАС В64.10-01/В64.10.1-01 (8).
2	●	●	Для обеспечения нормальной работы систем проводится также проверка защиты от противотока других коммуникаций (например, газов).
3		●	Сжатый воздух для дыхания и системы его подачи проверяют в соответствии со стандартом КАС Z180.1-00 (9). Системы тестируют на правильное переключение с основных на резервные источники и на срабатывание аварийной сигнализации.
4		●	Проверяют надежность функционирования персонального защитного оборудования с положительным давлением (костюмов).
5	●	●	Тестируют эффективность работы систем водяного и химического душа, в том числе срабатывание сигнализации на низкий уровень дезинфектанта в резервуаре химического душа (УЗ-4).
6	●	●	Контролируют надежность функционирования резервных систем питания и источников бесперебойного электропитания.
7	●	●	Испытывают работу блокирующихся дверей, чтобы удостовериться, что они не открываются в одно время.
8	●	●	Проверяют надежность функционирования систем охраны (например, контроля доступа, кабельного телевидения).
9	●	●	Контролируют эффективность работы систем связи и электронной передачи документов (например, двусторонней связи – интернета, телефона, факса).

10



Тестируют системы обеззараживания (например, автоклавы, фумигационные камеры, системы обработки стоков) на надежность работы и инактивацию тестовых микроорганизмов. Тестовые микробы должны адекватно отражать устойчивость патогенов, используемых в работе.

11



В лабораториях УЗ-4 канализационные и связанные с ними трубы, ведущие в системы обеззараживания стоков (включая сопутствующие линии вентиляции), проверяют в соответствии с разделом 3.6 "Водопроводно-канализационных норм и правил Канады" (10). Давление воздуха для проверки канализации в соответствии с этим документом должно составлять 35 кПа.

Список литературы

1. ARS facilities design standards. 242.1M-ARS. Facilities Division, Facilities Engineering Branch AFM/ARS, United States Department of Agriculture, 2002.
2. Testing of nuclear air treatment systems. ASME N510. New York, NY: American Society of Mechanical Engineers, 1989 (reaffirmed 1995).
3. Class II (laminar flow) biohazard cabinetry. Standard 49. Ann Arbor, Michigan: NSF International, 2002.
4. Biological containment cabinets: installation and field testing. CSA Z316.3-95. Toronto, ON: Canadian Standards Association, 1995.
5. National Cancer Institute Office of Research Safety and the Special Committee of Safety and Health Experts. Laboratory safety monograph: a supplement to the NIH guidelines for recombinant DNA research. Bethesda, MD: National Institutes of Health, 1979.
6. Biotechnology – performance criteria for microbiological safety cabinets. BS EN 12469:2000. European Committee for Standardization (CEN), 2000.
7. Testing cleanrooms. IEST-RP-CC006.2. Rolling Meadows, IL: Institute of Environmental Sciences and Testing (IEST), 1997.
8. Manual for the selection and installation of backflow prevention devices / Manual for the maintenance and field testing of backflow prevention devices. CAN/CSA-B64.10-01/B64.10.1-01. Toronto, ON: Canadian Standards Association, 2001.
9. Compressed breathing air and systems. CAN/CSA-Z180.1-00. Toronto, ON: Canadian Standards Association (approved 2001).
10. National plumbing code of Canada. Ottawa, ON: Canadian commission on Building and Fire Codes, National Research Council, 1995.

Глава 6. Масштабное культивирование микроорганизмов

6.1 Введение

Канада устойчиво повышает промышленный потенциал в области биотехнологии. Важно рассмотреть культивирование в биореакторах и масштабные манипуляции с микроорганизмами в настоящем руководстве, чтобы свести к минимуму риск для персонала и окружающей среды. Масштабная работа не обязательно представляет большую опасность, чем лабораторная (научно-исследовательская, диагностическая), поскольку многие производственные процедуры и процессы проходят в закрытых системах, что снижает вероятность контакта оператора и среды с заразным материалом (1, 2). Это достаточно хорошо доказано использованием многих высоко инфекционных возбудителей для производства вакцин (3).

Процессы выращивания в ферментерах связаны с возможностью образования аэрозолей, и аэрозоли, вероятно, представляют собой наиболее опасный механизм контакта с патогенами и их продуктами (4). Масштаб производственных операций также создает опасность возможного выброса больших объемов культур возбудителей в производственные помещения и/или окружающую среду (1). Следовательно, для производственных организаций, проводящих масштабное культивирование, важно иметь соответствующие защитные системы, как технические, так и операционные. А также план действий при нештатных ситуациях, чтобы свести к минимуму потенциальный контакт с патогенами в случае нарушения производственного процесса.

6.2 Сфера применения

Масштабные процессы проводят на ферментерах и другом оборудовании, которое не может легко передвигаться и обеззараживаться в автоклавах, но требует стерилизации и дезинфекции на месте. Однако, как обстоятельно описано в главе 2 (раздел 2.3 "Оценка риска"), объемы материала, определяющие масштабный характер работы и, следовательно, требующие особого внимания, основаны на подробной локальной оценке риска проводимой работы и используемых микроорганизмов. Объем 10 л в качестве границы между лабораторным и масштабным (производственным) уровнем работы должен использоваться лишь как ориентир.

Эта глава описывает необходимые технические условия для проведения масштабных процессов с использованием возбудителей групп риска 1-3. Она не рассматривает специфических требований к масштабным на-

учно-исследовательским и производственным работам с живыми микроорганизмами группы риска 4. Эти условия должны быть определены для каждого конкретного случая, с возможным участием специалистов Управления лабораторной безопасности Министерства Здравоохранения Канады.

6.3 Правила работы и физические требования

Требования физической защиты, рассмотренные здесь, являются минимальными условиями, необходимыми для работы в производственных масштабах и должны применяться в дополнение к правилам работы в лаборатории соответствующего уровня защиты (см. главу 3) и физическим требованиям к лаборатории аналогичного уровня изоляции (см. главу 4).

6.3.1 Масштабные работы: уровень защиты 1

1. Для обнаружения небольших протечек важны визуальные проверки целостности систем изоляции.
2. О проливании жидких культур и авариях, которые привели к контакту сотрудников с микроорганизмами, немедленно докладывают руководителю производственной организации и инспектору биологической безопасности. Осуществляют наблюдение за здоровьем контактных лиц. Ведут записи наблюдений.
3. Должны быть готовы планы реагирования на аварийные ситуации, включающие соответствующее оборудование и подготовку персонала к действиям при проливании или аварийном выбросе культур (персональное защитное оборудование, дезинфектанты). Подготовка сотрудников должна быть подтверждена документами.
4. Живые культуры содержат внутри закрытой системы или другого оборудования, обеспечивающего первичную изоляцию (например, БББ), которое препятствует высвобождению аэрозолей.
5. Культуральные жидкости, за исключением процедур, описанных ниже, не удаляют из закрытой системы или другого оборудования первичной изоляции без предварительной инактивации микроорганизмов с помощью утвержденного метода. Утвержденный метод инактивации – это метод, эффективность которого в отношении используемого вида микроорганизма была доказана. Живые жидкие культуры, планируемые к использованию в качестве конечного продукта можно удалять из оборудования первичной изоляции путем использования замкнутых систем анализа образцов, дальнейшей обработки или финального розлива.
6. Сбор образцов, добавление материалов и перенос культуральных жидкостей из одной закрытой системы в другую осуществляют

таким образом, чтобы предотвратить высвобождение аэрозолей и загрязнение контактирующих поверхностей.

7. Производственное оборудование, закрытые системы или другое оборудование первичной изоляции должно быть обеспечено методами, предотвращающими высвобождение живых микроорганизмов (ФТО или эквивалентные им фильтры, сжигание, обработка газовой фазой дезинфектантов).
8. Закрытая система или другое оборудование первичной изоляции, содержащее живые микроорганизмы, не должны открываться без их предварительной инактивации с помощью проверенного метода. Проверенным считается метод, эффективность которого в отношении используемого вида микроорганизма была доказана.
9. Производственные сооружения проектируют таким образом, чтобы предотвратить попадание живых микроорганизмов в канализацию (например, спускные отверстия в полу приподнимают и закрывают люками).

6.3.2 Масштабные работы: уровень защиты 2

Наряду с правилами техники безопасности и мерами физической изоляции, изложенными в предыдущем разделе, существуют дополнительные требования к производственной деятельности в организациях УЗ-2, которые описаны ниже.

1. Живые культуры содержат внутри закрытой системы или другого оборудования, обеспечивающего первичную изоляцию, для предотвращения возможности высвобождения аэрозолей.
2. Герметичные затворы и другие механические устройства в оборудовании для осуществления производственной деятельности должны препятствовать протечкам, или оборудование полностью помещают в вентилируемые кожухи, вытяжка из которых осуществляется через ФТО или эквивалентные им фильтры, или используют другие технологические подходы.
3. Оборудование для осуществления производственной деятельности, где это возможно, содержит сенсорные датчики (или их эквиваленты) для контроля целостности изолирующего барьера во время технологического процесса и обнаружения аварийных условий, ведущих к нарушению защиты.
4. Оборудование для осуществления производственной деятельности проверяют на целостность защитного барьера перед запуском и после внесения в систему модификаций и изменений, которые могут повлиять на защитные свойства оборудования. Методики испытаний и критерии приемки должны соответствовать проек-

ным характеристикам оборудования и закрытой системы в целом. Результаты проверок документируют.

5. У входа на производственную территорию вывешивают указатели, предупреждающие об опасности (например, знак биологической опасности, информацию об уровне защиты, требования доступа в помещение). Следует также рассмотреть необходимость дополнительного аналогичного обозначения конкретных участков, и оборудования первичной защиты, используемого для содержания живых культур.
6. У входа помещают указатель о требованиях к использованию персонального защитного оборудования.
7. Вход на территорию, где идет производственный процесс, ограничен только персоналом, имеющим соответствующий допуск.

6.3.3 Масштабные работы: уровень защиты 3

Кроме правил техники безопасности и мер физической защиты, описанных в двух предыдущих разделах, при работе в производственных организациях УЗ-3 добавляется еще ряд необходимых требований.

1. Использование персонального защитного оборудования включает полное снятие личной одежды и надевание рабочей и защитной одежды установленного образца (брюки, рубашка, головной убор, носки, обувь, перчатки) или полное покрытие личной одежды защитной одеждой (комбинезон, бахилы, головной убор, перчатки). Одежду многократного использования снимают при выходе, обеззараживают и стирают после каждого использования. Одежду разового пользования при выходе помещают в специальные контейнеры, обеззараживают и уничтожают с другими отходами. В зависимости от типа используемых организмов, может понадобиться использование респираторов.
2. На всех этапах использования оборудования (тестирование, производственные операции, техническое обслуживание) вывешивают соответствующие знаки, предупреждающие об опасности и указатели, содержащие иную необходимую информацию.
3. Необходимо предусмотреть возможность удержания в производственной зоне полного объема возможного жидкого выброса (например обваловка производственного оборудования).

Список литературы

1. Grinsted J. Risk assessment and contained use of genetically modified organisms. In: Tzotzos G.T. Genetically modified organisms: a guide to biosafety. Wallingford, UK: Centre for Agriculture and Biosciences (CAB) International, 1995. – P. 17-35.
2. Cipriano M.L. Biosafety considerations for large-scale production of microorganisms. In: Fleming D.O., Hunt D.L. Biological safety principles and practices. Washington, D.C.: ASM Press, 2000. P. 541-555.
3. Collins, C.H. Safety in microbiology: an overview. In: Collins C.H., Beale A.J. Safety in industrial microbiology and biotechnology. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann Ltd., 1992. – P. 1-5.
4. Brunius N.G.F. In: Collins C.H., Beale A.J. Safety in industrial microbiology and biotechnology. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann Ltd., 1992. – P. 239-42.

Глава 7. Требования при выполнении особых видов работ

7.1 Лабораторные животные

7.1.1 Общие требования

Работа с животными сопряжена с целым рядом характерных опасностей, включая контакт с патогенными микроорганизмами (как природными, так и произведенными искусственно), укусы, царапины, травмы при ударах и столкновениях, аллергия и физический дискомфорт (шум, высокая температура). Для оборудования и регламентов лабораторий, работающих с животными, приходится уделять внимание не только тому, как препятствовать распространению возбудителей среди сотрудников, но и вопросам возможного перекрестного заражения между животными, а также защиты от случайного заражения животных посторонними инфекционными возбудителями (система «барьеров»). Лаборатории для работы с мелкими и крупными животными должны проектироваться и работать в соответствии с руководством КАИПП "Стандарты биологической защиты для ветеринарных учреждений" (1) и "Справочником по уходу за экспериментальными животными и работе с ними", опубликованным Канадским советом по уходу за животными, КСУЖ (2), и другими руководствами и правилами, которые периодически пересматриваются и издаются КСУЖ. Организации, которые используют животных для исследований, образовательных нужд и тестирования, должны учесть желательность получения сертификата КСУЖ о хорошей практике работы с животными (good animal practice, GAP). Существуют другие международные рекомендации, которые могут оказать дополнительную помощь в оценке риска, связанного с содержанием и использованием лабораторных животных (3-5).

В идеале помещения для содержания животных и работы с ними должны находиться в отдельном здании. Если же они примыкают к лаборатории, то помещения должны быть отделены от других участков, чтобы обеспечить их изоляцию и надлежащее обеззараживание. Поскольку общие правила не могут описать специфические требования к каждому эксперименту, порядок входа и выхода исследователей, персонала, ухаживающего за животными, вноса и выноса биологических образцов, оборудования и кормов, удаления отходов, необходимо регламентировать для каждого отдельного проекта.

Помещения для мелких животных должны проектироваться таким образом, чтобы обеспечить легкость уборки и дезинфекции. В них содержится минимальное количество встроенного оборудования. Обычно бывает достаточно иметь небольшой препаратный участок, умывальник и

хранилище (виварий). Проект должен отдавать предпочтение использованию защищенных систем клеток и отдельных вспомогательных устройств для операций с животными, мытья клеток, удаления отходов и хранения пищи и подстилочного материала. Недавно были внесены технологические новшества в системы ухода за лабораторными животными, позволяющие контролировать такие факторы микросреды, как температура, обмен воздуха и влажность. Описание современных систем содержания животных (клетки, удаление подстилочного материала) дано в другом руководстве (6).

По крайней мере, у 20 % людей, работающих с лабораторными грызунами, морскими свинками и кроликами, развивается аллергия (7). Ее причиной может быть контакт с шерстью и выделениями животных, а также с подстилочным материалом. Аллергия может возникать немедленно или приобретаться постепенно, после длительного контакта с аллергеном. Симптомы варьируют от небольшой кожной сыпи до тяжелой бронхиальной астмы. Избыточный контакт с указанными аллергенами можно уменьшить с помощью технических систем контроля, вентиляции, изоляторов и клеток с физической защитой, а также использованием респираторов и других средств персональной защиты сотрудников.

Изолированные сооружения для крупных животных уникальны, отчасти из-за больших количеств патогенных микроорганизмов, которые могут присутствовать в помещениях для содержания животных и работы с ними. В отличие от обычных лабораторных комнат, где БББ обеспечивают первичный барьер изоляции, блоки для работы с крупными животными служат и первичным, и вторичным барьером физической защиты. Особое внимание надо обращать на использование защитной одежды и оборудования персоналом, входящим в блок для работы с крупными животными, загрязненный большими объемами инфицированных выделений. Для эффективного удаления и обработки заразных выделений животных в лабораториях с УЗ-3 и УЗ-4 используют спускные отверстия в полу, соединенные с системой обеззараживания стоков. Важное место следует уделить также профилактике серьезных ранений (например, раздробления костей), которые могут возникнуть у сотрудников при обращении с крупными животными. Для предупреждения таких травм необходимо проектировать и применять механические барьеры, приспособления, ограничивающие движения животных, и специальные пропускные ворота. Персонал должен знать об общих характеристиках данного вида животного, таких, как интеллект, инстинкты, физические качества.

7.1.2 Нечеловекообразные приматы

Работа с нечеловекообразными приматами представляет уникальную опасность, связанную как с их природными патогенами, так и с самими животными. Их длинные, как у собак, зубы и мощные челюсти могут наносить серьезные и болезненные рваные раны. Обезьяны имеют также длинные когти на передних и задних лапах, которые могут царапать и сдирать кожу у сотрудников. Обычно животные нечистоплотны, шумны и склонны к разрушению. Эти характеристики должны быть приняты во внимание при проектировании помещений и клеток.

Биологическая опасность при работе с нечеловекообразными приматами включает болезни, вызываемые бактериями (сальмонеллезы, шигеллезы, кампилобактериозы, туберкулез) и вирусами (гепатит А, иммунодефицит обезьян и, особенно, герпес В, возбудителем которого является *Cercopithecine herpesvirus 1*, СНV-1), а также протозойные и метазойные инвазии, вызываемые паразитами родов *Entamoeba*, *Blastocystis*, *Trichomonas*, *Balantidium* и т.д. Более подробные сведения на эту тему можно узнать из другой публикации (5).

СНV-1 – это энзоотический вирус, присутствующий в организме большинства отловленных макак (до 70 %), включая нечеловекообразных приматов родов *Rhesus* и *Synomolgus* (8). У этих животных, являющихся природными хозяевами, СНV-1 вызывает повреждения пасти, но в других органах и тканях (слизистая оболочка щек, конъюнктивальная жидкость и, редко, мочеполовой тракт) он присутствует без клинических проявлений. В то же время заражение человека (зарегистрировано не менее 50 случаев) приводит к тяжелой болезни или к смерти (9). За исключением одного случая передачи инфекции от человека к человеку, все люди заразились при контакте с нечеловекообразными приматами или их тканями. Инфицирование, очевидно, происходит главным образом через зараженную слюну, проникающую через укушенные раны и царапины, хотя описан один смертельный случай контакта с кожей и слизистыми оболочками без каких-либо повреждений (8). Имеется ряд руководств по безопасной работе с макаками, предупреждению инфекции, вызываемой вирусом СНV-1, и лечению таких инфекций у зараженных людей (5, 8, 10-12), и этими источниками необходимо пользоваться в работе. Риск контакта с возбудителями болезней обезьян можно снизить также с помощью адекватной программы наблюдения за здоровьем животных, основой которой является обнаружение и лечение больных особей. Дополнительную информацию о выявлении опасности и оценке риска см. в другом источнике (5). Люди, контактирующие с нечеловекообразными обезьянами, подлежат медицинскому наблюдению и диспансеризации (5).

Все, кто работает с приматами, должны пройти практическую подготовку по надлежащим методам обездвиживания и использованию защитной одежды для предохранения от укусов, царапин и контакта со слюной.

Такие методы включают применение клеток, позволяющих фиксировать животных к задней стенке, специальных ящиков для переноса и транспортировки животных, покатых настилов, туннелей, механизмов для захвата одной особи из группы животных. Клетки и другое оборудование не должны иметь острых краев и углов, которые могут привести к царапинам и ранам. Если возможно, перед удалением животного из клетки применяют фармакологическое обездвиживание, особенно в случае макак и других более крупных нечеловекообразных приматов. Наряду с методами надежной фиксации, можно эффективно использовать поведенческое удерживание животных. Персонал, работающий с обезьянами, должен надевать защитные усиленные кожаные перчатки длиной до локтей и халаты с длинными рукавами или комбинезоны для предохранения от царапин. Персонал и все люди, входящие в помещения, где находятся животные, должны пользоваться средствами персональной защиты от аэрозолей и брызг биологических жидкостей (хирургическими масками, щитками, очками). Защитная одежда многоразового использования, которая была в контакте с нечеловекообразными приматами, должна быть обеззаражена до отправки в прачечную. Сотрудники, работающие с обезьянами, должны быть проинструктированы о необходимости немедленной и тщательной обработки всех укусов, царапин и содранной кожи, а также немедленного доклада об инциденте руководителю. Следует сразу же начать применять постконтактные профилактические процедуры (5, 12).

Лаборатории, в которых проводятся работы с нечеловекообразными приматами, должны соответствовать рекомендациям для изолированных объектов, в которых содержатся мелкие животные. Эти рекомендации изложены в руководстве "Стандарты биологической защиты для ветеринарных учреждений" (1). Если приматы не заражены экспериментально и не являются носителями микроорганизмов, требующих более высокого уровня защиты, с ними можно работать в лабораториях УЗ-2, с дополнительными правилами и мерами предосторожности для персонала, описанными выше. Рекомендуются со всеми колониями макак обращаться как с заведомо инфицированными СНV-1, даже если было показано, что они не содержат антител к данному вирусу (5, 9). "Справочник по уходу за экспериментальными животными и работе с ними" (2) также описывает специальные требования к содержанию нечеловекообразных приматов и работе с ними. Дополнительную информацию по специализированным лабораториям, оборудованию и правилам работы с этими животными можно найти в другой публикации (13). Существуют следующие общие требования к содержанию нечеловекообразных приматов:

1. При планировании помещений надо учитывать поведенческие, эмоциональные и социальные нужды животных.

2. Контактная информация об опытных экспертах по обращению с животными и лицах, отвечающих за деятельность объекта должна быть доступна повсеместно.
3. Комнаты для содержания животных имеют тамбур или другое приспособление для того, чтобы между клеткой с приматами и коридором здания всегда было две двери. Необходимо обеспечить возможность визуального контроля всех клеток перед входом в комнату для гарантии, что животные не покинули клетку.
4. Все освещение, электрические приспособления, водопроводные и канализационные устройства должны быть защищены от порчи обезьянами.
5. Из-за необходимости ежедневной уборки комнат для содержания животных полы должны быть сделаны из нескользких материалов. Сотрудникам следует носить обувь, обеспечивающую надежное сцепление с влажным полом. Стены и потолки должны иметь отделку, устойчивую к влажной уборке и дезинфекции.
6. Лабораторию обеспечивают душевыми и комнатами для переодевания для работников, контактирующих с приматами, которые обязаны принимать душ в конце рабочего дня.
7. Комнаты и клетки, в которых содержатся животные, должны быть постоянно заперты. Доступ в них возможен только для персонала, имеющего на это разрешение. Замки и запирающие устройства должны учитывать настойчивость, творческий и интеллектуальный потенциал и склонность к разрушению большинства нечеловекообразных приматов.
8. При передвижении оборудования (тележек, весов, емкостей с кормом и черпаков, перчаток и др.) между комнатами для содержания животных обеспечивается надлежащая дезинфекция в соответствии с уровнем физической защиты при выходе из каждой комнаты.
9. Клетки должны быть достаточно прочными, чтобы их не могли сломать животные и чтобы обеспечить нормальные условия работы.
10. Клетки должны быть оборудованы механизмом для удержания животных, чтобы облегчить их иммобилизацию и обследование. Ящики для переноса и другие специальные устройства, ограничивающие движения, можно использовать для безопасного удержания животных при уборке клеток и перемещении их из одной комнаты в другую.
11. При групповом содержании приматов в клетках надо учитывать такие факторы, как совместимость между особями и динамику популяции данного вида, для уменьшения стычек между животными.

7.2 Рекомбинантная ДНК и генетические манипуляции

Генетические методы, такие как естественная селекция, межпородное скрещивание, конъюгация и трансформация многие годы использовались для изменения биологических видов и организмов. Эти методы были дополнены более новыми и намного более эффективными, из которых самыми известными являются процедуры получения рекомбинантной ДНК. Некоторые еще более новые технологии включают получение трансгенных растений и животных, клонирование генов вирулентности и токсигенности микроорганизмов в векторах экспрессии или непосредственно в ДНК хозяина, где они могут выражаться, и получение полных инфекционных вирусных частиц, включая реконструкцию вирионов из рекомбинантных молекул нуклеиновых кислот (обратная генная инженерия).

Первоначальный страх возможных опасностей, исходящих от организмов, измененных с помощью указанных технологий, привел Канаду, США, Великобританию и другие страны к разработке строгих правил биобезопасности. Опыт быстро показал, что первые опасения были необоснованными и что большинство исследований с рекомбинантной ДНК сами по себе не представляют особого риска в плане биологической безопасности (14).

Существуют правила оценки потенциального риска при работе с рекомбинантной ДНК (15, 16), но эти правила могут быть лишь очень общими. К факторам, которые надо учитывать при определении уровня защиты при работе с рекомбинантными микроорганизмами, относятся:

- уровень защиты к которому относится реципиентный организм;
- уровень защиты, к которому относится донорный организм;
- способность рекомбинантного организма к размножению;
- способность донорного белка встраиваться в рекомбинантную частицу (клетку);
- потенциальные патогенные свойства, связанные с донорным белком.

Каждый случай требует отдельной оценки риска, поскольку нереально заранее определить все возможные генно-инженерные производные, которые могут быть сконструированы и использованы в лаборатории. Помощь в оценке риска можно получить в Управлении лабораторной безопасности МЗК, по телефону (613) 957-17-79.

подавляющее большинство работ по получению рекомбинантной ДНК содержит лишь ничтожно малую возможность получения опасных последствий, так как источник передаваемой ДНК, вектор и штамм-хозяин являются безобидными. Однако некоторые генетические манипуляции существенно повышают риск. В целом, если ни один из компонентов, кото-

рые берут для генно-инженерных работ, не представляет никакой известной опасности и получение опасного продукта при их комбинации, не предвидится, то ограничений по мотивам биобезопасности не требуется. Если хотя бы один из используемых компонентов представляет опасность, необходимо начать рассмотрение требуемого уровня защиты в соответствии с уровнем известного риска. Уровень изоляции может быть повышен или понижен в зависимости от таких факторов, как специфика передаваемого гена, его экспрессия в рекомбинантном организме, биологическое окружение, которое получает ген в клетках (частицах) хозяина, ожидаемое взаимодействие между геном и биомолекулами реципиента, жизнеспособность клеток (частиц) хозяина. В любом исследовании с использованием генов, кодирующих вредные продукты, следует использовать реципиентные системы с ограниченной способностью выживать вне лаборатории. Их использование понизит требуемый уровень защиты.

Можно привести следующие примеры оценки планируемого уровня защиты в зависимости от вышеуказанных факторов:

- работа с рекомбинантным псевдотипом вируса везикулярного стоматита, с экспрессирующим измененный вирусный гликопротеин, может проводиться в условиях УЗ-2, поскольку псевдотип дефектен по репликации;
- манипуляции с рекомбинантным вирусом везикулярного стоматита с измененным гликопротеином должны осуществляться на том же уровне, что с исходным вирусом и требуемым уровнем защиты, так как вирус сохраняет способность реплицироваться и может приобрести измененный тропизм.
- работу с рекомбинантным вирусом осповакцины с измененным гликопротеином можно проводить в условиях изоляции, которые требует исходный вирус коровьей оспы, потому что протеин не способен встраиваться в вирус и маловероятно, что указанная манипуляция приведет к существенным изменениям биологических свойств вируса.

7.3 Культуры клеток

Культуры клеток (клеточные линии) широко используются в диагностических и микробиологических лабораториях, а также в промышленности (для производства фармацевтических препаратов). Описаны случаи лабораторного заражения патогенными микроорганизмами как результат манипуляций с первичными культурами клеток (17, 18). Хотя клеточные линии изначально не создают опасность для лиц, работающих с ними в лаборатории (19), они способны содержать инфекционные агенты (либо исходно, либо в результате случайного загрязнения, трансформации или реком-

бинации), и поэтому необходимо провести оценку степени риска при работе с каждой культурой клеток (20). Клеточные линии могут быть заражены бактериями, грибами, микоплазмами, вирусами и прионами.

7.3.1 Оценка риска

Нерекомбинантные культуры клеток. Для каждой новой клеточной линии, с которой планируется работа в лаборатории, должна быть проведена подробная оценка риска для определения мер предосторожности, которые надо принимать при манипуляциях с клетками. Детальная оценка риска должна включать следующие пункты (но не исчерпывается ими):

- источник культуры клеток – чем ближе она в филогенетическом отношении к человеку, тем выше потенциальный риск (последовательность линий от наибольшего риска к наименьшему включает аутологичные клетки человека, гетерологичные, клетки приматов, других млекопитающих, птиц, беспозвоночных) (21);
- источник ткани – определяют возможные патогенные микроорганизмы или латентные (онкогенные) вирусы, инфицировавшие культуру клеток;
- тип клеточной линии (последовательность от наиболее высокого риска к самому низкому включает первичные культуры клеток, перевиваемые и хорошо изученные);
- количество клеток в культуре;
- источник популяции клеток, из которого взят образец для культивирования.

Рекомбинантные культуры клеток (в дополнение к вышеуказанным критериям):

- свойства клеточной линии хозяина (в случае гибридом должны приниматься во внимание свойства каждой из клеток, участвующих в слиянии);
- вектор, используемый для трансформации (может повысить требуемый уровень защиты);
- передача вирусных последовательностей (может повысить требуемый уровень защиты);
- передача факторов вирулентности (может повысить требуемый уровень защиты);
- активация эндогенных вирусов (может повысить требуемый уровень защиты);
- продукт рекомбинантного гена (может повысить требуемый уровень защиты);

- присутствие вируса-помощника (может повысить требуемый уровень защиты).

Как только получена вся необходимая информация, касающаяся данной клеточной линии, включая любые вредности, связанные со средой, используемой для работы с культурой клеток, она анализируется для определения степени риска манипуляций с этой культурой клеток. Работа с клеточными культурами осуществляется затем с применением уровня защиты, соответствующего рискам, определенным при анализе.

7.3.2 Загрязнение инфекционными агентами

Бактерии и грибы. Клеточные линии, загрязненные бактериями и грибами, легко выявляются при культивировании в средах без антибиотиков, потому что бактерии и грибы быстро опережают клетки в росте (20).

Вирусные загрязнения. В отличие от бактерий и грибов, заражение культур клеток вирусами обнаружить непросто, поэтому вирусы могут представлять серьезную опасность для персонала лабораторий, работающего с первичными клеточными линиями. Например, описан случай хантавирусной инфекции, приобретенной в лаборатории при манипуляциях с опухолевыми клетками крысы (22). Из-за различий в степени риска, связанного с клеточными линиями, ВОЗ предложила их классификацию, основанную на вероятности каждой культуры клеток нести вирусы, патогенные для человека (23).

- *Низкая вероятность:* клеточные линии из тканей птиц и беспозвоночных.
- *Средняя вероятность:* клетки млекопитающих, не относящиеся к клеткам крови, – такие, как фибробласты и эпителиальные клетки.
- *Высокая вероятность:* клетки крови и клетки костного мозга, полученные от человекообразных и нечеловекообразных приматов, клетки слизистых оболочек человека, козы и овечьи клетки, в особенности, нервные; гибридные клетки, когда по крайней мере одна из клеток, участвовавших в слиянии, получена от человекообразных или нечеловекообразных приматов.
- Были обнаружены как вирусные, так и клеточные онкогены, наиболее важным из них является человеческий вирус Т-клеточной лейкемии (HTLV-I). HTLV-I – это онкогенный вирус человека, который трансформирует нормальные клетки в злокачественные (21).
- С клеточными линиями, которые загрязнены вирусами или подозрительны на их содержание, работают в условиях уровня защиты, соответствующего степени опасности возбудителя, определяющего наибольший риск.

Одной из важнейших опасностей при манипуляциях с культурами клеток является экспрессия латентных вирусов. Эндогенные вирусные последовательности были обнаружены в ряде культур клеток, полученных от млекопитающих, в том числе от человека (20). Клеточные линии культивируют различными методами (изменения в значениях рН, температуры, концентрации сыворотки, варьируют питательные добавки, используют совместное культивирование). Эти различные воздействия могут вызывать изменения в экспрессии онкогенов, латентных вирусов, поверхностных белков клеток, взаимодействие между рекомбинантными сегментами генома (21).

- Манипуляции, которые могут изменять "нормальное" поведение клеточных линий в сторону более высокой потенциальной опасности, должны выполняться в условиях защиты, соответствующих новому состоянию.

При определении уровня защиты серьезное внимание следует уделять биологической опасности, связанной с культурами клеток приматов. Первичные клеточные линии, полученные из представителей рода *Macaca*, могут содержать вирус герпеса человекообразных (вирус герпеса *Cercopithecine B-вирус*) поэтому с тканями макак работают следующим образом:

- при манипуляциях с тканями и биологическими жидкостями этих животных применяют УЗ-2;
- если предполагается или заведомо известно, что материал содержит вирус герпеса человекообразных, требуется УЗ-3;
- первичные диагностические тесты *in vitro* проводят в условиях УЗ-3;
- культивирование вируса осуществляют в лабораториях УЗ-4.

Прионы. Установлено, что белковые инфекционные частицы, или прионы, являются возбудителями контагиозных губчатых энцефалопатий, таких как губчатая энцефалопатия крупного рогатого скота (ГЭКРС), или коровье бешенство (24, 25).

- Клеточные культуры, полученные от крупного рогатого скота с установленной ГЭКРС или подозрительного на данную инфекцию, а также первичные диагностические тесты клеточных линий этих животных при подозрении или установленном факте ГЭКРС проводят с использованием специальных инструкций по манипуляциям с прионами. Информацию на эту тему и сами инструкции можно получить, позвонив в Отдел биологической защиты и безопасности КАИПП по телефону (613) 221-70-74, или на веб-сайте этого ведомства: <http://www.inspection.gc.ca/english/sci/lab/bioe.shtml>.

Микоплазмы. Хотя было установлено, что микоплазмы часто являются источником загрязнения культур клеток, до настоящего времени не зарегистрировано случаев лабораторного заражения загрязненными ими культурами. Однако ввиду наличия биологически активных веществ, продуцируемых микоплазмами, стабильности их антигенов (21) и того факта, что многие микоплазмы патогенны для человека, присутствие их в клеточных линиях расценивается как биологическая опасность в клеточных культурах.

- Манипуляции с культурами клеток, загрязненных микоплазмами, проводят по уровню защиты, соответствующему группе риска наиболее опасного загрязнителя.

Паразиты. Свежеприготовленные первичные клеточные линии могут быть контаминированы паразитами, если они получены из ткани человека или животного с известной или предполагаемой инвазией. Паразиты имеют сложные циклы развития, и не все их формы инвазивны, что следует учитывать при определении необходимого уровня защиты.

- Культуры клеток, которые содержат паразиты в неизвестной стадии развития, следует рассматривать, как материал, контаминированный наиболее опасной формой.

7.3.3 Эксперименты с собственными клетками

Манипуляции с трансформированными человеческими клетками, полученными от самого экспериментатора (человеческие аутологичные клетки) запрещены. Такие работы могут представлять опасность для данного индивидуума, поскольку при этом обходятся естественные механизмы иммунологического распознавания чужеродных клеток (20, 21).

Список литературы

1. Containment standards for veterinary facilities. Ottawa, ON: Agriculture and Agri-Food Canada, Minister of Supply and Services Canada, No. 1921/E, 1996.
2. Canadian Council on Animal Care. Guide to the care and use of experimental animals. Ottawa, ON: CCAC, 1984.
3. National Research Council. Occupational health and safety in the care and use of research animals. Washington, DC: National Academy Press, 1997.
4. National Research Council. Occupational health and safety in biomedical research // *ILAR Journal*. – 2003. – V. 44. – P. 1084-2020.
5. National Research Council. Occupational health and safety in the care and use of non-human primates. Washington, DC: The National Academies Press, 2003.
6. Hessler J.R., Broderson J.R., King C.S. Small animal research facilities and equipment. In: Richmond J.Y., McKinney R.W. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999. – P. 191-218.
7. Phipatanakul W., Wood R.A. Allergens of animal and biological systems. In: Fleming D.O., Hunt D.L. Biological safety principles and practices. Washington, DC: ASM Press, 2000. – P. 249-259.
8. Centers for Disease Control. Fatal *Cercopithecine herpesvirus 1* (B virus) infection following a mucocutaneous exposure and interim recommendations for worker protection // *MMWR*. – 1998. – V. 47. – P. 1073-1076, 1083.
9. Richmond J.Y., McKinney R.W. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999.
10. Centers for Disease Control. Guidelines for the prevention of *Herpesvirus simiae* (B virus) infection in monkey handlers // *MMWR* – 1987. – V. 36. – P. 680-682, 687-689.
11. Centers for Disease Control. Update: Ebola-related filovirus infection in non-human primates and interim guidelines for handling non-human primates during transit and quarantine // *MMWR*. – 1990. – V. 39. – P. 22-24, 29-30.
12. Holmes G.P., Chapman L.E., Stewart J.A., et al. Guidelines for the prevention and treatment of B-virus infections in exposed persons // *Clin. Infect. Dis.* – 1995. – V. 20. – P. 421-439.
13. Bennet B.T., Abee C.R., Henrickson R. Non-human primates in biomedical research. San Diego, CA: Academic Press, 1995.
14. Laboratory biosafety guidelines, 2nd edition. Ottawa: Minister of Supply and Services Canada, 1996.

15. National Institutes of Health. Guidelines for research involving recombinant DNA molecules. Federal Register (with subsequent amendments) 59 Federal Register 34496, July 5, 1995.
16. National Institutes of Health. NIH guidelines for research involving recombinant DNA molecules. 66 Federal Register 1146, January 2001.
17. Davidson W.L., Hummeler K. B virus infection in man // Ann. NY Acad. Sci. – 1961. – V. 85. – P. 970-979.
18. Gandsman E.J., Aaslestad H.G., Ouimet T.C., Rupp W.D. Sabia virus incident at Yale University // American Ind. Hyg. Assoc. J. – 1997. – V. 58. – P. 51-53.
19. National Research Council. Safe handling of infectious agents. In: Biosafety in the laboratory: prudent practices for the handling and disposal of infectious materials. Washington, DC: National Academy Press, 1989. – P. 13-33.
20. Frommer W. Safe biotechnology (5): recommendations for safe work with animal and human cell cultures concerning potential human pathogens // Appl. Microbiol. Biotech. – 1993. – V. 39. – P. 141-147.
21. Doblhoff-Dier O., Stacey G. Cell lines: applications and biosafety. In: Fleming D.O., Hunt D.L. Biological safety principles and practices. Washington, DC: ASM Press, 2000. – P. 221-239.
22. Lloyd G., Jones N. Infection of laboratory workers with hantavirus acquired from immunocytomas propagated in laboratory rats // J. Infect. – 1986. V. 12. – P. 117-125.
23. Laboratory biosafety manual. Geneva: World Health Organization, 1993. – 133 p.
24. Griffith J.S. Self-replication and scrapie // Nature. – 1967. – V. 215. – P. 1043-1044.
25. Prusiner S.B. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie // Science – 1982. – V. 216. – P. 136-144.

Глава 8. Обеззараживание

8.1 Введение

Базовым принципом биологической безопасности является необходимость обеззараживания всех загрязненных материалов перед их утилизацией. Обеззараживание включает как стерилизацию (полное уничтожение или удаление всех микроорганизмов, включая споры) так и дезинфекцию (уничтожение или удаление определенных типов микроорганизмов). Перечень препаратов, используемых для обеззараживания, их важные свойства, эффективность против различных групп микроорганизмов и наиболее рациональные способы применения в научно-исследовательских и клинических лабораториях были подробно рассмотрены в других публикациях (1-4). Все сотрудники лабораторий несут ответственность за эффективность обеззараживания материалов, оборудования и образцов, выносимых из изолированных зон, а также поверхностей, помещений и пролитых культур патогенных микроорганизмов.

Процедуры обеззараживания представляют собой критический защитный барьер. Неправильное их выполнение может привести к контакту персонала с возбудителями и/или к непреднамеренному высвобождению патогенов из закрытого контура лаборатории. Описано заражение *M. tuberculosis* сотрудника как результат контакта с загрязненными отходами (5). В литературе также имеются указания на случаи инфицирования *Coxiella burnetii* рабочих обычных прачечных, предположительно вследствие ненадлежащего обеззараживания лабораторных халатов и другой одежды перед отправкой в стирку (6, 7). Персонал обязан оставлять обработанную лабораторную одежду для стирки в строго установленных местах.

Большинство правоохранительных органов Канады подготовили или готовят директивы или положения, касающиеся обращения с отходами биомедицинских организаций. Процедуры их обработки, используемые в каждой лаборатории, нормируются в соответствии со стандартами, установленными в данной провинции или на территории. Канадский Совет Министров по окружающей среде (КСМОС) также разработал минимальные рекомендации по определению биомедицинских отходов, обращению с ними, их обработке и утилизации (8). Цель этого документа – представить универсальные правила и набор минимальных национальных стандартов для обращения с биомедицинскими отходами в Канаде. Следует также консультироваться с провинциальными, территориальными и муниципальными регулирующими органами, так как они могут устанавливать более строгие требования.

Как уже ранее упоминалось в данном руководстве, все загрязненные материалы должны быть обеззаражены перед их утилизацией или очист-

кой перед повторным использованием. Выбор метода обеззараживания определяется природой материалов, которые предстоит обрабатывать. Они включают (но не исчерпываются) лабораторные и архивные культуры микроорганизмов, клинические образцы, лабораторное оборудование, инструменты, защитную одежду и другие предметы, которые контактировали с заразным материалом. Лабораторные столы должны обрабатываться после проливания жидкостей, которые могут содержать живые микроорганизмы, и в конце рабочего дня. Лабораторные комнаты и крупное оборудование также могут потребовать обеззараживания, например, перед текущим ремонтом, техническим обслуживанием, перемещением в другие комнаты или передачей в другие подразделения. Для каждого процесса необходимо разработать и затем выполнять специальные письменные инструкции. Персонал должен пройти подготовку по всем методикам обеззараживания в соответствии с выполняемой работой и обязан знать о факторах, влияющих на эффективность обработки, которые кратко описаны ниже.

8.2 Автоклавы

Контаминированные лабораторные отходы (чашки Петри, пипетки, пробирки, другую лабораторную посуду и т.д.) можно эффективно обеззараживать в автоклавах с двумя различными системами удаления воздуха: с вытеснением воздуха паром или с предварительным вакуумированием. Предвакуулируемые автоклавы удаляют воздух из камеры с помощью разрежения в начале цикла, до поступления насыщенного пара (за исключением жидкостных циклов). При этом решается проблема воздушных ловушек, характерная для автоклавов с системой гравитационного вытеснения воздуха. Эффективность обеззараживания в паровых автоклавах зависит от различных конфигураций загрузки, которые влияют на температуру обрабатываемого материала, и времени экспозиции. Особое внимание следует уделять укладке материалов для автоклавирования, в том числе размеру контейнеров и их распределению в автоклаве. Контейнеры должны позволять проникновение пара внутрь и распределяться внутри камеры таким образом, чтобы обеспечивать свободную циркуляцию пара. Плотная укладка контейнеров препятствует проникновению пара к стерилизуемым материалам. Установка контейнеров друг на друга и перегрузка автоклава могут привести к отрицательному результату обеззараживания.

Эффективные параметры стерилизации для каждого типа автоклавов должны быть установлены путем подбора стандартных условий загрузки и продолжительности цикла, с использованием термпарных датчиков и биологических индикаторов, которые помещают в центре загружаемых материалов, то есть в зоне загрузки наиболее трудной для обеззараживания. Биологические индикаторы используют также для рутинного контро-

ля процесса стерилизации (например, раз в неделю, в зависимости от частоты использования автоклава). Биологический индикатор – это стандартизированная популяция бактериальных спор, используемая для демонстрации надлежащих условий стерилизации в данном цикле. Необходимо уделять внимание правильному выбору индикатора, поскольку его конструкция в значительной степени зависит от условий его применения (жидкие или сухие индикаторы, автономные системы, ферментативный экспресс-метод). Химические индикаторы используют наряду с биологическими и физическими (мониторинг давления и температуры) методами контроля работы автоклавов. Они обеспечивают немедленный результат проверки каждой загрузки, однако они не должны быть единственным методом контроля стерилизации. В одной из публикаций *Favero* (9) представлен подробный обзор типов биологических, химических и физических индикаторов и рекомендации по их применению. Результаты контроля работы автоклава с помощью биологических индикаторов должны документироваться и храниться в архиве.

8.3 Химическая дезинфекция

Химические дезинфектанты используются для обеззараживания поверхностей и оборудования, которое нельзя автоклавировать, например, контейнеров для образцов и других материалов, которые выносятся из изолированной зоны, а также для обработки пролитых заразных материалов, помещений, мест содержания животных и других предметов и материалов, тепловая обработка которых затруднена или невозможна. Первоначальный выбор дезинфектанта проводится, исходя из чувствительности к нему используемого возбудителя. Наиболее чувствительными являются вегетативные формы бактерий и грибов и вирусы, покрытые оболочкой (2, 3). Микобактерии и безоболочечные вирусы менее чувствительны, а бактериальные споры и цисты простейших проявляют самую высокую устойчивость к дезинфицирующим средствам (2-4). Важное значение надо придавать удобству использования дезинфектантов, их стабильности, совместимости с обрабатываемыми материалами и степени опасности для здоровья (1).

Обычно существуют значительные различия между активностью дезинфектантов при обычных условиях применения в лаборатории и при их строго контролируемом анализе в оптимальных стандартных условиях, когда проводится изучение эффективности с целью регистрации продукта. В настоящее время готовится обзор по стандартным регламентам оценки эффективности препаратов для дезинфекции. (10). На эффективность дезинфицирующих средств могут влиять многие факторы: присутствие органических материалов (например, крови, сыворотки, мокроты), которые ослабляют действие гипохлоритов (4), температура, относительная влаж-

ность, концентрация, время контакта (2, 4). В некоторых случаях для лабораторий может быть предпочтительнее проводить проверку эффективности дезинфектантов на месте, непосредственно в условиях их применения. Основной метод оценки средств для обработки поверхностей заключается в их искусственном загрязнении, нанесении дезинфектанта в надлежащей концентрации, после чего препарат нейтрализуется разбавлением и проверяется на наличие живых микроорганизмов (11). Сходную процедуру можно использовать для проверки эффективности дезинфицирующих средств, используемых в контейнерах для лабораторного мусора: в раствор дезинфектанта вносят инокулят, нейтрализуют разбавлением после установленного времени контакта, а проба проверяется на высеивание (11).

Выбор подходящего дезинфицирующего средства может оказаться чрезвычайно трудной задачей, учитывая огромное количество продуктов на рынке. Разрабатывается все больше новых дезинфектантов и исследуются все новые их варианты (12). Однако их активные компоненты принадлежат к относительно небольшому количеству классов химических веществ (в основном гипохлоритов, спиртов, четвертичных аммониевых, фенольных и йодсодержащих соединений), и понимание возможностей и ограничений каждого класса позволит выбрать продукт на основе их сравнительной эффективности.

8.4 Газовое обеззараживание помещений

Обеззараживание помещений с использованием газов обычно бывает нужна только в лабораториях УЗ-3 и УЗ-4, при особых обстоятельствах (например, после проливания или аварийного выброса заразного материала), для выноса крупного оборудования из изолированной зоны, перед техническим обслуживанием оборудования защиты, повторными испытаниями систем контроля ОВК в этой зоне. Из-за возможного контакта с опасными химическими веществами (в частности, с формальдегидом), фумигация комнат должна проводиться только хорошо подготовленным персоналом. При этом всегда используется принцип парности, и оба лица должны пройти тренировку в использовании средств защиты органов дыхания. Рекомендуемая процедура включает деполимеризацию параформальдегида в хорошо герметизированной комнате для создания концентрации формальдегида в воздухе 0,3 грамма на кубический фут, что составляет $10,6 \text{ г/м}^3$ (1). После экспозиции продолжительностью не менее шести часов формальдегид нейтрализуют карбонатом аммония (его берут в реакцию в количестве, равном 1,1 от массы формальдегида), затем вентилируют и аэрируют помещение (1). В обработанной и соседних комнатах контролируют концентрацию формальдегида в воздухе, и только когда она становится ниже предельно допустимой, помещения считают безопасными для входа в них без защитной одежды. Успешная газация требует температуры в

комнате не ниже 21 °С и относительной влажности 70 % (1). Для контроля эффективности обеззараживания следует использовать биологические индикаторы (13).

Парообразная, или газообразная перекись водорода была предложена в качестве более безопасной альтернативы обработке парами формальдегида. В процессе стерилизации испаряют 30 % жидкую перекись водорода до концентрации 1200 частей на миллион. Пары распадаются на нетоксичный кислород и воду. Парообразную перекись водорода успешно использовали в качестве неагрессивного дезинфектанта для обработки с целью выноса в "чистые" помещения лабораторного оборудования и материалов (например, телефонов, фотоаппаратов, компьютеров, пипеток, электродрейлей) (14). Будущие коммерчески доступные приложения возможно позволят преодолеть нынешние ограничения связанные с массивностью и дороговизной генераторов паров перекиси водорода, а также ограниченным пространством, которое может быть обеззаражено (например, передаточные шлюзы, небольшие комнаты).

8.5 Системы обработки стоков

Системы обработки жидких отходов используются в лабораториях УЗ-4 (а также в лабораториях УЗ-3, работающих с завозными патогенами животных), для обеззараживания стоков из раковин, душевых, камер автоклавов и т.д. Это системы вторичной обработки, поскольку материалы, которые могут содержать патогенные микроорганизмы, не сливаются в спецканализацию без первичного обеззараживания (например, добавления химических дезинфектантов). Параметры обеззараживания в системах обработки стоков (например, время и температура в системах термической дезинфекции) должны обеспечивать эффективную инактивацию всех микроорганизмов, с которыми проводится работа. Внутренняя температура и давление в резервуарах системы и время обработки должны регистрироваться и записываться в течение всего цикла обеззараживания. При относительно небольших объемах стоков могут оказаться целесообразны системы химической дезинфекции. Обеззараженные жидкие отходы, выходящие из систем обработки, должны соответствовать всем требованиям соответствующих нормативов (например, муниципальным требованиям по температуре, содержанию металлов и других химических веществ, взвешенных частиц, жидких и твердых масел и биохимического кислорода).

8.6. Облучение

Гамма-облучение (например, ^{60}Co) можно использовать для обеззараживания термочувствительных материалов. Оно также является эффективным способом обеззараживания химических веществ и растворителей, удаляемых из изолированной зоны. Эффективность этой технологии обеззараживания зависит от проникновения гамма-лучей в обрабатываемый материал, то есть как от его плотности, так и от мощности излучения (2).

Микроволновое излучение в изолированных лабораториях в целях обеззараживания широко не применяется. Как и при стерилизации паром, критическим фактором инактивации патогенных микроорганизмов здесь является температура. Другие параметры, влияющие на этот процесс, – частота излучения и длина волны, продолжительность экспозиции и процент влажности материала (15, 16).

На ультрафиолетовое (УФ) облучение нельзя полагаться, как на единственный метод обеззараживания материалов, которые выносятся из изолированных помещений. Оно имеет ограниченную проникающую способность и воздействует главным образом на незащищенные микроорганизмы, находящиеся на облучаемых поверхностях и в воздухе (1). Оно может быть эффективным методом снижения уровня загрязнения поверхностей и воздуха при условии надлежащей очистки, технического обслуживания и проверки ламп на интенсивность излучения.

8.7. Сжигание

Сжигание (кремация) традиционно было методом выбора при обработке анатомических биомедицинских отходов и трупов животных. В большинстве случаев отходы для сжигания должны быть упакованы и вывезены за пределы данного населенного пункта в соответствии с законодательством провинций и территорий Канады. Материалы, вывозимые для сжигания, должны пройти обеззараживание на границе изолированной зоны лаборатории, предпочтительно, методом автоклавирования. Эффективное сжигание зависит от правильности конструкции оборудования в части обеспечения времени, температуры, турбулентности и подачи воздуха, необходимого для полного окисления и от правильности загрузки. Большинство современных печей имеют две камеры с оптимальной температурой в первичной камере по крайней мере $800\text{ }^{\circ}\text{C}$, а во вторичной не менее $1000\text{ }^{\circ}\text{C}$ (2, 15). Загрузка содержимого с высокой влажностью может снизить температуру обработки. Не существует микробиологических стандартов для дыма, однако, такие стандарты имеются для содержания твердых частиц и для некоторых химических загрязнителей (8). С целью выяснения дополнительных требований, касающихся работы и выбросов печей необ-

ходимо обращаться за консультацией в органы управления провинций и территорий.

8.8. Новые технологии

Растущая озабоченность загрязнением воздуха привела к тому, что ведомства, издающие нормативные акты, касающиеся окружающей среды, ввели в действие более строгие стандарты для установок по сжиганию, что, в свою очередь, привело к быстрому развитию альтернативных технологий обработки отходов. Большинство таких систем используют один или несколько следующих методов: нагревание с помощью микроволн, радиоволн, горячего масла, воды, пара или перегретых газов; обработка химическими веществами, включая гипохлорит, двуокись хлора, или гидроокись натрия; обработка подогретыми дезинфектантами и облучение (15, 16). Ранее были опубликованы обзорные работы, описывающие многие из указанных технологий, их преимущества и недостатки (15, 16). Было показано, что модифицированный процесс утилизации является еще одним эффективным подходом, который успешно использовали для обеззараживания инфицированных трупов животных (17). Новые технологии обработки отходов подлежат согласованию с властными структурами провинций и территорий до закупки оборудования и его использования.

Список литературы

1. Vesley D., Lauer J.L., Hawley R.J. Decontamination, sterilization, disinfection and antisepsis. In: Fleming D.O., Hunt, D.L. Biological safety principles and practices. Washington, DC: ASM Press, 2000. – P. 383-402.
2. Dychdala G.R., Gottardi W., Block S.S., Wickramanayake G.B., Larson E.L., Morton H.E., O'Connor D.O., Rubino J.R., Merianos J.J., Lopes J.A., Denton G.W., Rossmore H.W., May O.W., Opperman R.A., Gitlitz M.H., Beiter C.B., Yeager C.C. Part III: disinfectants and antiseptics (section A: by chemical type). In: Block S.S. Disinfection, sterilization and preservation. Malvern, PA: Lea & Febiger, 1991. – P. 131-364.
3. Hugo W.B., Russell A.D. Types of antimicrobial agents. In: Russell A.D., Hugo W.B., Ayliffe G.A.J. Disinfection, preservation and sterilization. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd., 1999. – P. 5-94.
4. Russell A.D. Factors influencing the efficacy of antimicrobial agents. – Ibid. – P. 95-123.
5. Weber A.M., Boudreau U.V., Mortimer V.D. A tuberculosis outbreak among medical waste workers // J. Am. Biol. Safety Assoc. – 2000. – V. 2. – P. 570-588.
6. Collins C.H., Kennedy D.A. Laboratory-acquired infections. In: Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions. Oxford, UK Butterworth-Heinemann, 1999. – P. 1-37.
7. Richmond J.Y., McKinney R.W. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999.
8. Canadian Council of Ministers of the Environment. Guidelines for the management of biomedical waste in Canada. Toronto, ON: Canadian Standards Association. CCME EPC-WM-42E, 1992.
9. Favero M.S. Developing indicators for monitoring sterilization. In: Rutala W.A. Disinfection, sterilization and antisepsis in health care. Washington, DC: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology Inc., 1998. – P. 119-132.
10. Sattar S.A. Microbicidal testing of germicides: an update. – Ibid. – P. 225-240.
11. Best M., Sattar S.A., Springthorpe V.S., Kennedy M.E. Efficacies of selected disinfectants against *Mycobacterium tuberculosis* // J. Clin. Microbiol. – 1990. – V. 28. – P. 2234-2239.
12. Springthorpe V.S. New chemical germicides. In: Rutala W.A. Disinfection, sterilization and antisepsis in health care. Washington, DC: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology Inc., 1998. – P. 273-280.
13. Abraham C, Leblanc P.M., Smith P.M., Nguyen S. The effectiveness of gaseous formaldehyde decontamination assessed by biological monitors // J. Am. Biol. Safety Assoc. – 1997. – V. 2. – P. 30-38.

14. Best M. Efficacy of vaporized hydrogen peroxide against exotic animal viruses // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1997. – V. 63. – P. 3916-3918.
15. Salkin I.F., Krisiunas E., Thumber W.L. Medical and infectious waste management. In: Richmond J.Y. *Anthology of biosafety II: facility design considerations.* Mundelein, IL: American Biological Safety Association, 2000. – P. 140-160.
16. Turnber W.L. *Biohazardous waste: risk assessment, policy and management.* New York, NY: John Wiley & Sons Inc., 1996.
17. Thompson L., Best M., Langevin P. *Biological efficacy testing of liquid effluent and tissue/carcass sterilization systems.* Mundelein, IL: American Biological Safety Association, 1998.

Глава 9. Боксы биологической безопасности

9.1 Введение

При правильном техническом обслуживании и использовании, в сочетании с корректными лабораторными методиками, боксы биологической безопасности обеспечивают эффективную первичную физическую защиту при работе с патогенами человека. В лабораториях УЗ-2 БББ используют при манипуляциях, создающих опасность образования инфекционных аэрозолей и для работы с высокими концентрациями и большими объемами заразного материала. В лабораториях УЗ-3 и УЗ-4 все действия с открытыми сосудами, содержащими патогенные микроорганизмы, проводят в БББ. Все сотрудники, работающие в БББ, должны пройти подготовку по их правильному использованию, хорошо разбираться в различных типах боксов и в том, как они функционируют. Подробные сведения о выборе, строении и использовании БББ, были опубликованы ранее (1-3).

9.2 Классы и характеристики боксов биологической безопасности

Существует три класса БББ: I, II и III. Выбор бокса подходящего класса требует тщательной оценки планируемых работ. Горизонтальные чистые столы, которые направляют воздух на исследователя, не являются БББ, и их нельзя использовать для манипуляций с заразными, токсическими и сенсибилизирующими материалами. Для этих целей разрешается закупать только боксы, соответствующие требованиям стандарта № 49-2002 Национального фонда санитарии, НФС (самостоятельный стандарт проектирования, производства и проверки БББ), и имеющие печать НФС (4).

Боксы биологической безопасности класса I (рисунки 1а и 1б). Эти боксы имеют воздушный поток без рециркуляции, направленный от оператора и выбрасываемый в атмосферу после фильтрации через ФТО. Они обеспечивают хорошую защиту оператора, но не защищают от загрязнения материалы (продукты), находящиеся в боксе.

Боксы биологической безопасности класса II (рисунки 2-5). Строение боксов класса II предусматривает защиту персонала, продукта и окружающей среды. Они рассчитаны на работу с микроорганизмами в лабораториях УЗ-2, УЗ-3 и УЗ-4 и подразделяются на два типа (А и В), на основе конструктивных особенностей, скорости и характера воздушных потоков, а также систем вытяжки (4).

Тип А включает два подтипа, А1 (первоначально обозначавшийся как тип А) и А2 (первоначальное обозначение – тип В3) Тип В включает

подтипы В1 и В2. БББ класса II наиболее широко используются в биомедицинских исследовательских лабораториях вследствие их конструктивных характеристик.

Боксы биологической безопасности класса II, типа А1 (рисунок 2).

- Воздух из бокса может либо возвращаться в лабораторию либо выводиться из здания с использованием соединения типа «наперсток». Над кожухом вытяжного фильтра БББ крепится конический наконечник с небольшим зазором вокруг кожуха вытяжного фильтра, вследствие чего, воздушный баланс в боксе не нарушается флуктуациями в вытяжной системе здания. "Наперсток" должен иметь конструкцию, позволяющую проводить надлежащую аттестацию БББ (то есть обеспечивать доступ для инспекции ФТО).
- Обеспечивается средняя фронтальная скорость движения воздуха на уровне не менее 0,38 м/сек (75 футов в минуту).
- Могут иметь воздухопроводы и камеры, избыточного давления.
- непригодны для работы даже с низкими уровнями летучих токсинов и радионуклидов (4).

Боксы биологической безопасности класса II, типа А2 (рисунок 3).

- Воздух из бокса может либо возвращаться в лабораторию либо выводиться из здания с использованием соединения типа «наперсток». Над кожухом вытяжного фильтра БББ крепится конический наконечник с небольшим зазором вокруг кожуха вытяжного фильтра, вследствие чего, воздушный баланс в боксе не нарушается флуктуациями в вытяжной системе здания. "Наперсток" должен иметь конструкцию, позволяющую проводить надлежащую аттестацию БББ (то есть обеспечивать доступ для инспекции ФТО).
- Обеспечивается средняя фронтальная скорость движения воздуха на уровне не менее 0,5 м/сек (100 футов в минуту).
- Воздуховоды и камеры находятся под отрицательным давлением.
- Боксы можно использовать для работы с небольшими количествами летучих токсических веществ и следовыми количествами летучих радионуклидов.

Боксы биологической безопасности класса II, типа В1 (рисунок 4).

- Оснащены закрытым выделенным воздухопроводом, через который отработанный воздух выходит в атмосферу после фильтрации через ФТО. Оснащен камерой отрицательного давления.
- Обеспечивается средняя фронтальная скорость движения воздуха на уровне не менее 0,5 м/сек (100 футов в минуту).
- 30 % воздуха в боксе подвергается рециркуляции.

- Боксы можно использовать для работы с небольшими количествами летучих токсических веществ и следовыми количествами летучих радионуклидов.

Боксы биологической безопасности класса II, типа B2 (рисунок 5).

- Рециркуляция воздуха в боксе отсутствует.
- Обеспечивается средняя фронтальная скорость движения воздуха на уровне не менее 0,5 м/сек (100 футов в минуту).
- Оснащены закрытым выделенным воздуховодом, через который 100% отработанного воздуха выходит в атмосферу после фильтрации через ФТО. Оснащен камерой отрицательного давления.
- Боксы можно использовать для работы с летучими токсическими веществами и радионуклидами.

Колпаки вытяжных воздуховодов не должны затруднять работы, связанные с аттестацией БББ. Боксы должны быть обеспечены аварийной звуковой сигнализацией, срабатывающей при нарушении работы вытяжной вентиляции здания. Внутренний вентилятор БББ должен блокироваться при отказе вытяжной вентиляции здания, чтобы предотвратить создание положительного давления в боксе.

Боксы биологической безопасности класса III (рисунок 6). БББ класса III полностью закрыты, герметичны и оборудованы ФТО, через которые фильтруется как отработанный, так и приточный воздух. Работа выполняется в длинных перчатках, которые прикрепляются к передней панели. Бокс находится под отрицательным давлением не менее 120 Па, и воздушный поток поддерживается отдельной системой внешней вытяжки. БББ класса III защищают оператора и продукт. Они предназначены для работы с патогенами группы риска 4 и представляют собой альтернативу защитным костюмам с положительным давлением, которые применяют в лабораториях с максимальным уровнем изоляции. Линии, объединяющие несколько БББ класса III (для центрифуг, клеток с животными, инкубаторов, холодильников и т.п), а также передаточные устройства обычно выполняются по индивидуальному заказу. Специальные рекомендации, описывающие уникальные требования к производству, запуску, аттестации линий БББ класса III и работе с ними приведены в (5-7). Отработанный воздух фильтруется через два ФТО или через один ФТО с последующим прокачиванием. Удаление материалов из бокса производится через резервуар с дезинфицирующим раствором, двухдверный автоклав или через воздушный шлюз для обеззараживания. Во избежание одновременного открытия дверей в автоклаве или передаточном шлюзе используют либо специальный регламент, либо блокировка.

9.3 Установка и аттестация

Воздушная завеса в пред фронтальной части бокса достаточно уязвима, и легко может нарушена людьми, проходящими мимо, открытыми окнами, приточной вентиляцией, а также лабораторным оборудованием, создающим движение воздуха (вакуумными насосами, центрифугами). БББ должны устанавливаться в соответствии с требованиями КАС, изложенными в документе "Боксы биологической безопасности классов I и II: установка и проверка на месте" (8). Их необходимо располагать в стороне от маршрутов интенсивного движения, дверей, приточных и вытяжных решеток, которые могут нарушать характер воздушных потоков. Между вытяжным патрубком в верхней части БББ и любыми предметами, расположенными выше, должен быть зазор не менее 40 см. Там где это возможно, следует оставлять зазоры шириной 30 см с каждой стороны бокса для облегчения доступа при техническом обслуживании. Для БББ, оборудованных воздуховодами, вытяжные вентиляторы необходимо устанавливать в концевой части воздуховода: нарушение вытяжного воздушного потока должно сопровождаться сигналом тревоги для пользователя. Для предотвращения повышения давления в боксе используют систему блокировки внутреннего вентилятора, которая происходит при ослаблении движения воздуха наружу. Может также понадобиться устройство защиты от противотока, препятствующее возвратному движению воздуха через ФТО.

Постоянная работа БББ помогает контролировать количество пыли и других частиц, взвешенных в воздухе лабораторных помещений. Если с целью экономии энергии БББ используют только при необходимости, следует уделять внимание балансу воздуха в лабораторных помещениях. В некоторых случаях вытяжная вентиляция помещения настраивается с учетом потока из воздуховода бокса. Такие БББ должны быть включены постоянно.

Подводить к боксам природный газ не рекомендуется. Открытое пламя в боксах создает турбулентность, нарушает структуру воздушных потоков и может повредить ФТО (1). При отсутствии разумных альтернатив (одноразовые стерильные контуры, микропечи) используют сенсорные портативные горелки с постоянно горящим фитилем, дающие пламя при необходимости.

Правильное функционирование БББ должно проверяться перед началом использования и затем регулярно, один раз в год, а также после любого ремонта или перемещения, в соответствии с тестами на месте, описанными в стандартах КАС (Z316.3-95) или НФС (NSF49, приложение F). Перестановка бокса может привести к повреждению ФТО и нарушению его герметизации. Аттестация или повторная аттестация включает проверку профиля скорости нисходящих потоков и фронтальной скорости через рабочую зону, тест ФТО на утечки, и дымовую проверку структуры воздушных потоков. Оборудование для измерения и тестирования должно калиб-

роваться и проходить техническое обслуживание в соответствии с указанным стандартом КАС. Копия аттестационного листа должна быть предоставлена пользователю и храниться в архиве. Снаружи на боксе прикрепляют этикетку с указанием даты аттестации, даты следующей аттестации, стандарта, по которому проводилась проверка, фамилии лица, проводившего тестирование. Аттестацию БББ осуществляют опытные, квалифицированные сотрудники. НФС предоставляет списки таких лиц, которые прошли аккредитацию (сдали письменные и практические экзамены по требованиям НФС и доказали свою компетентность в вопросах аттестации БББ) (9). Там, где это возможно, рекомендуется привлекать к аттестации боксов специалистов, аккредитованных НФС.

9.4 Работа в боксе биологической безопасности

Перед началом работы проведите следующие **подготовительные операции**:

1. Выключите УФ свет (если он был включен) и убедитесь, что выдвижная перегородка передней панели находится в надлежащей позиции.
2. Включите лампу дневного света и внутренний вентилятор (если он был отключен).
3. Проверьте отверстия для поступления воздуха и вытяжные решетки на наличие возможных препятствий.
4. Если бокс оборудован аварийной сигнализацией, проверьте ее и включите.
5. Убедитесь в поступлении воздуха внутрь, поместив салфетку по центру передней панели (она должна втягиваться внутрь).
6. Обработайте внутренние поверхности подходящим некоррозионным дезинфектантом.
7. Соберите вместе все материалы, необходимые для работы и загрузите их в БББ. Не закрывайте воздушные решетки. Рабочую поверхность можно выложить адсорбирующей бумагой с пластиковой подложкой. Отделите "чистые" предметы от "заразных".
8. Подождите пять минут для удаления частиц, загрязняющих воздух рабочей зоны.

Выполняйте следующие инструкции при **работе в боксе**:

1. Наденьте защитную одежду и перчатки (если это необходимо).
2. Выполняйте операции как можно ближе к задней границе рабочей зоны.
3. Во время работы избегайте двигать руками и предметами через отверстия в передней панели БББ. Если же вы все-таки вынимаете руки (предмет) из бокса или вносите в бокс, делайте это в пря-

мом направлении. Прежде чем продолжать операции, выждите некоторое время для стабилизации воздушных потоков.

4. Держите ненужные загрязненные материалы ближе к задней стенке бокса. Не выбрасывайте отходы в емкости, находящиеся вне бокса.
5. Не работайте в БББ с открытым пламенем.
6. Если произошел пролив заразного материала, проведите дезинфекцию поверхностей всех предметов в боксе. Дезинфицируйте рабочую зону при включенной вентиляции.

При завершении работы выполните следующие операции:

1. Оставьте бокс включенным на 5 мин., не совершая никаких действий.
2. Закройте (или накройте крышкой) открытые контейнеры перед удалением их из БББ.
3. Обработайте дезинфицирующим раствором поверхности предметов, контактировавших с заразным материалом, перед удалением из бокса.
4. Снимите грязные перчатки и поместите их в отходы, как положено. Помойте руки.
5. Наденьте чистые перчатки. Убедитесь, что все материалы в боксе помещены в герметичные мешки для опасных отходов.
6. С использованием некоррозионного дезинфектанта (например, 70 % этилового спирта) обработайте внутренние поверхности БББ. Периодически снимайте накладную поверхность рабочей зоны и дезинфицируйте область, расположенную под ней, включая поддон. Обработайте поверхность УФ лампы.
7. Выключите флуоресцентное освещение и (если необходимо) внутренний вентилятор бокса. Некоторые БББ следует оставлять постоянно включенными. Если Вы не уверены, как поступить, проконсультируйтесь со специалистом, проводившим аттестацию Вашего бокса, инспектором биологической безопасности или инженерно-технической службой здания.
8. Включите УФ свет, если это возможно в данный момент (не включайте, если рядом работают люди). Источник УФ света должен быть проверен на излучение ультрафиолета необходимой длины волны, оказывающего бактерицидное действие. Спросите у специалиста, аттестовавшего бокс, как выполнить этот тест.

Список литературы

1. Primary containment for biohazards: selection, installation and use of biological safety cabinets. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2000.
2. Kruse R.H., Puckett W.H., Richardson J.H. Biological safety cabinetry. // *Clin. Microbiol. Rev.* – 1991. – V. 4. – P. 207-241.
3. Stuart D.G. Primary barriers: biological safety cabinets, fume hoods, and glove boxes. In: Fleming D.Q., Hunt D.L. *Biological safety principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000. – P. 313-330.
4. NSF International. Class II (laminar flow) biohazard cabinetry. Standard 49. Ann Arbor, Michigan: NSF International, 2002.
5. Stuart D.G., Hilliard J., Kenkel R., Kelley J., Richmond J. Role of the class III cabinet in achieving BSL-4. In: Richmond J.Y. *Anthology of biosafety I: perspective on laboratory design*. Mundelein, IL: American Biological Safety Association, 1999. – P. 149-160.
6. National Cancer Institute Office of Research Safety and the Special Committee of Safety and Health Experts. *Laboratory safety monograph, a supplement to NIH guidelines for recombinant DNA research*. Bethesda, MD: NIH, 1979.
7. *Biotechnology – performance criteria for microbiological safety cabinets*. BS EN 12469:2000. European Committee for Standardization (CEN), 2000.
8. *Biological containment cabinets (class I and II): installation and field testing*. Z316.3-95. Canadian Standards Association, Toronto, ON, 1995.
9. NSF International. *NSF listings – field certifier accreditation*. Ann Arbor, Michigan: NSF International, 2000.

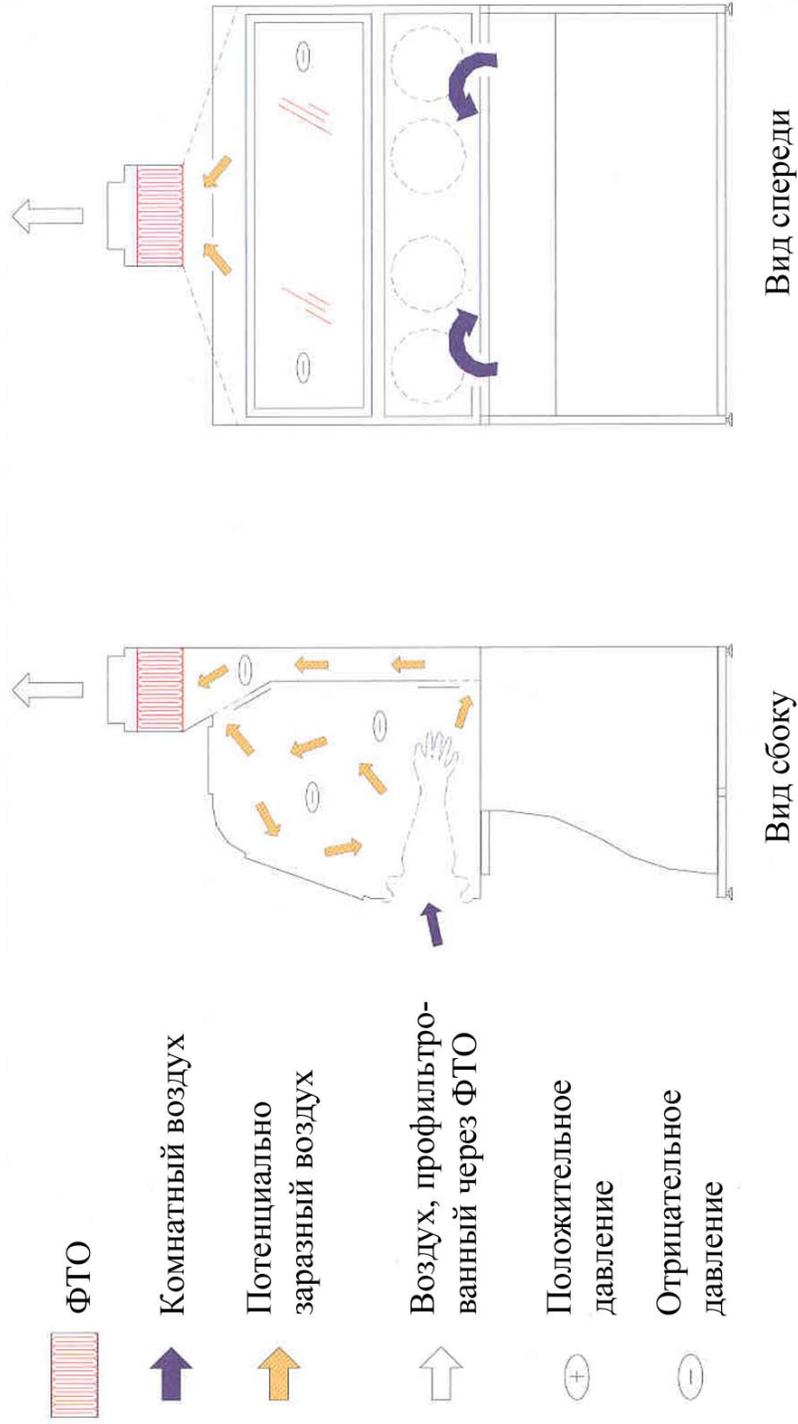


Рисунок 1а. БОКС БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КЛАССА I
 (используется в соединении с вентиляционной системой здания; отверстия для перчаток не обязательны).

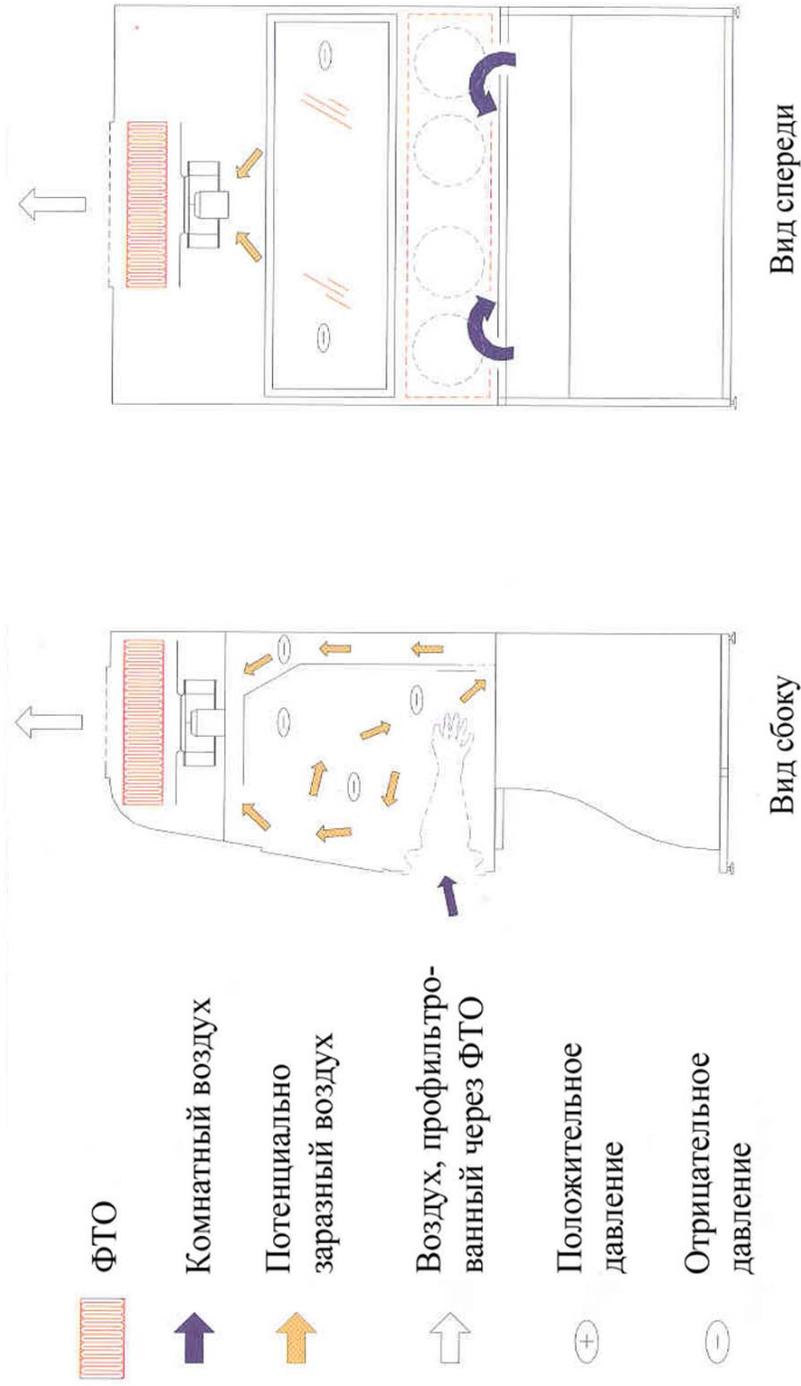


Рисунок 16. БОКС БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КЛАССА I
 (в комплекте с автономным вентилятором; отработанный воздух фильтруется
 через ФТО и выбрасывается в атмосферу; отверстия для перчаток не обязательны).

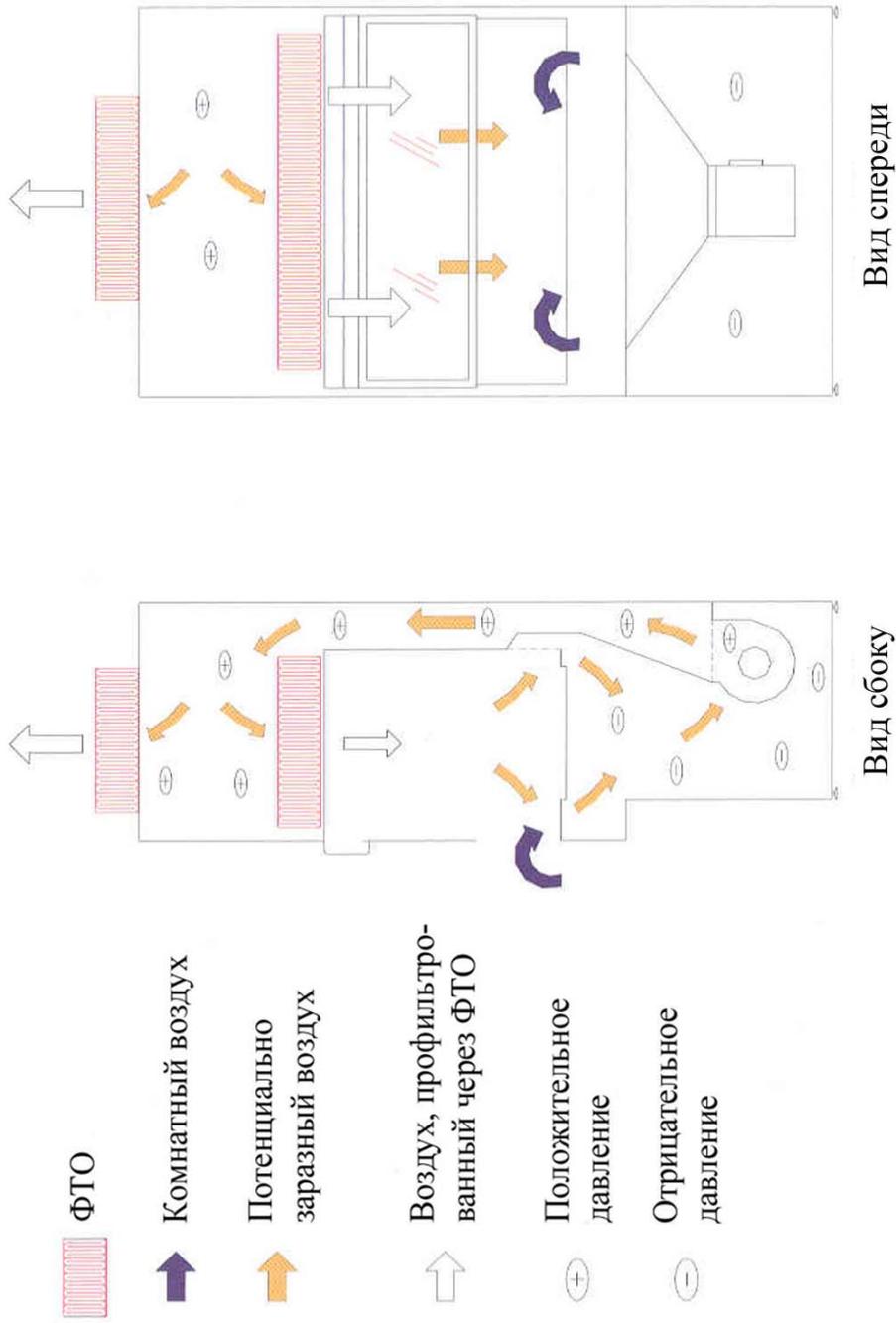


Рисунок 2. БОКС БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КЛАССА II, ТИПА A1 (может быть с комнатной рециркуляцией или с воздушным зазором).

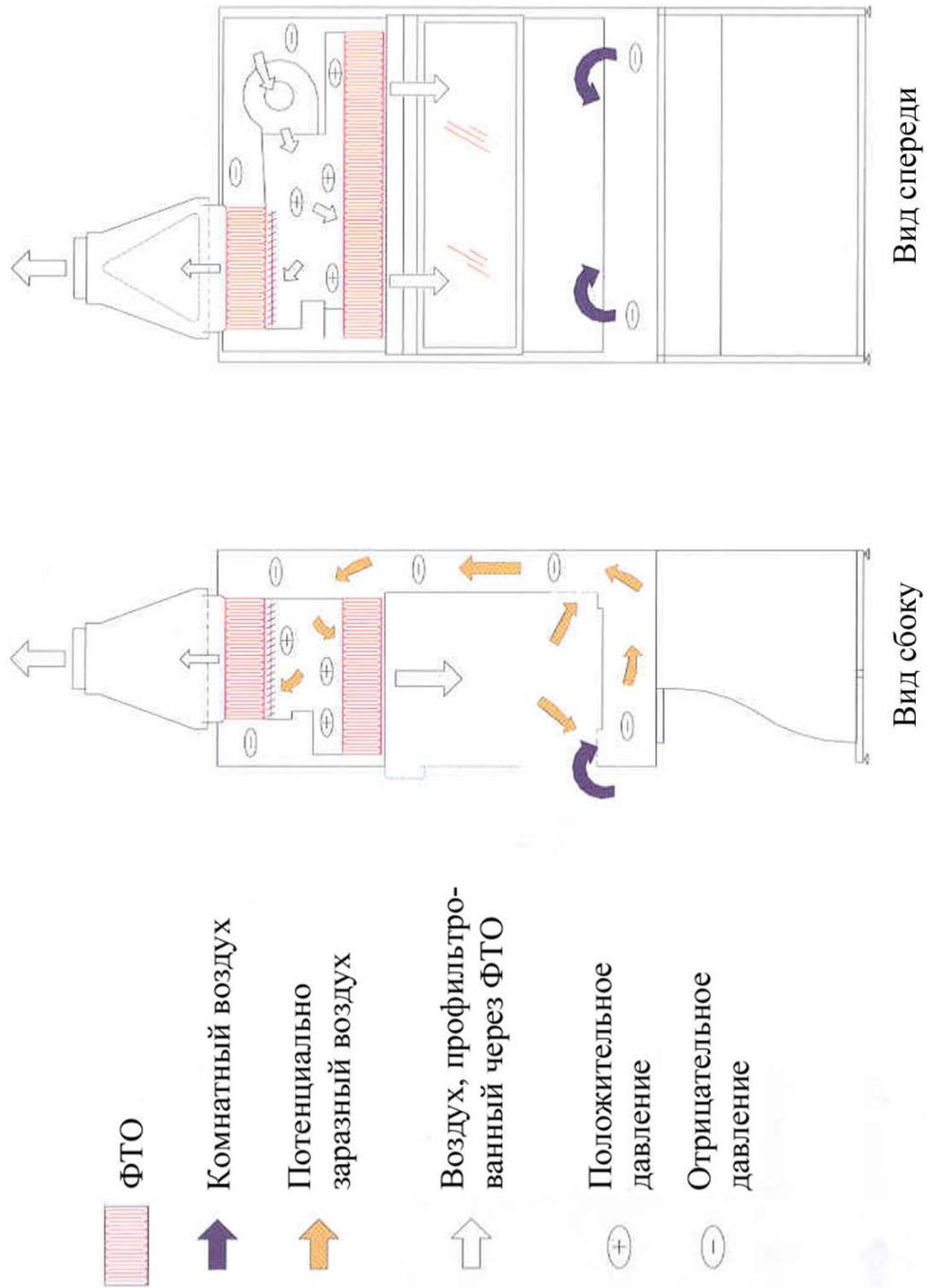


Рисунок 3. БОКС БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КЛАССА II, ТИПА A2 (может быть с комнатной рециркуляцией или с воздушным зазором).

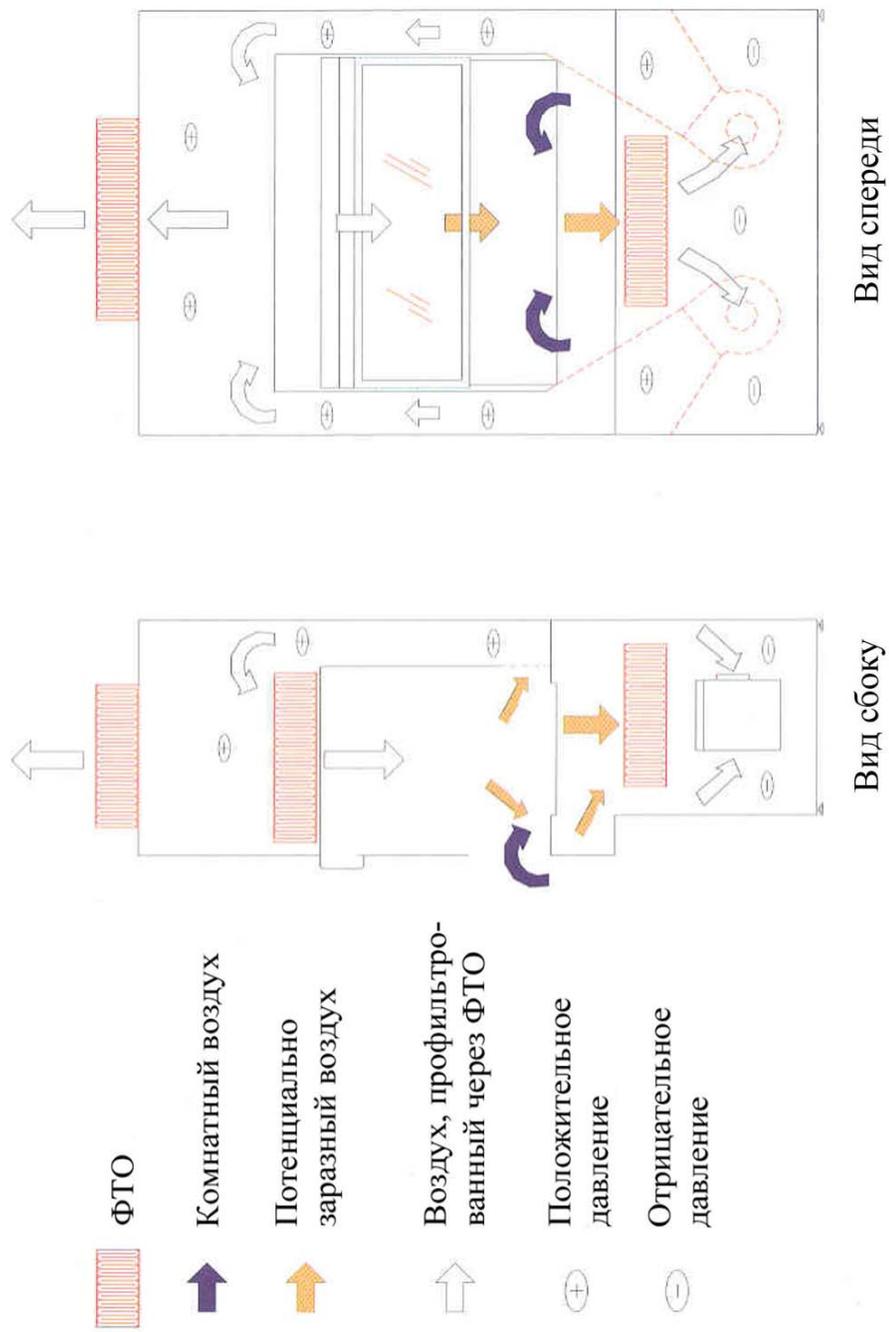


Рисунок 4. БОКС БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КЛАССА II, ТИПА B1 (с жестким воздуховодом).

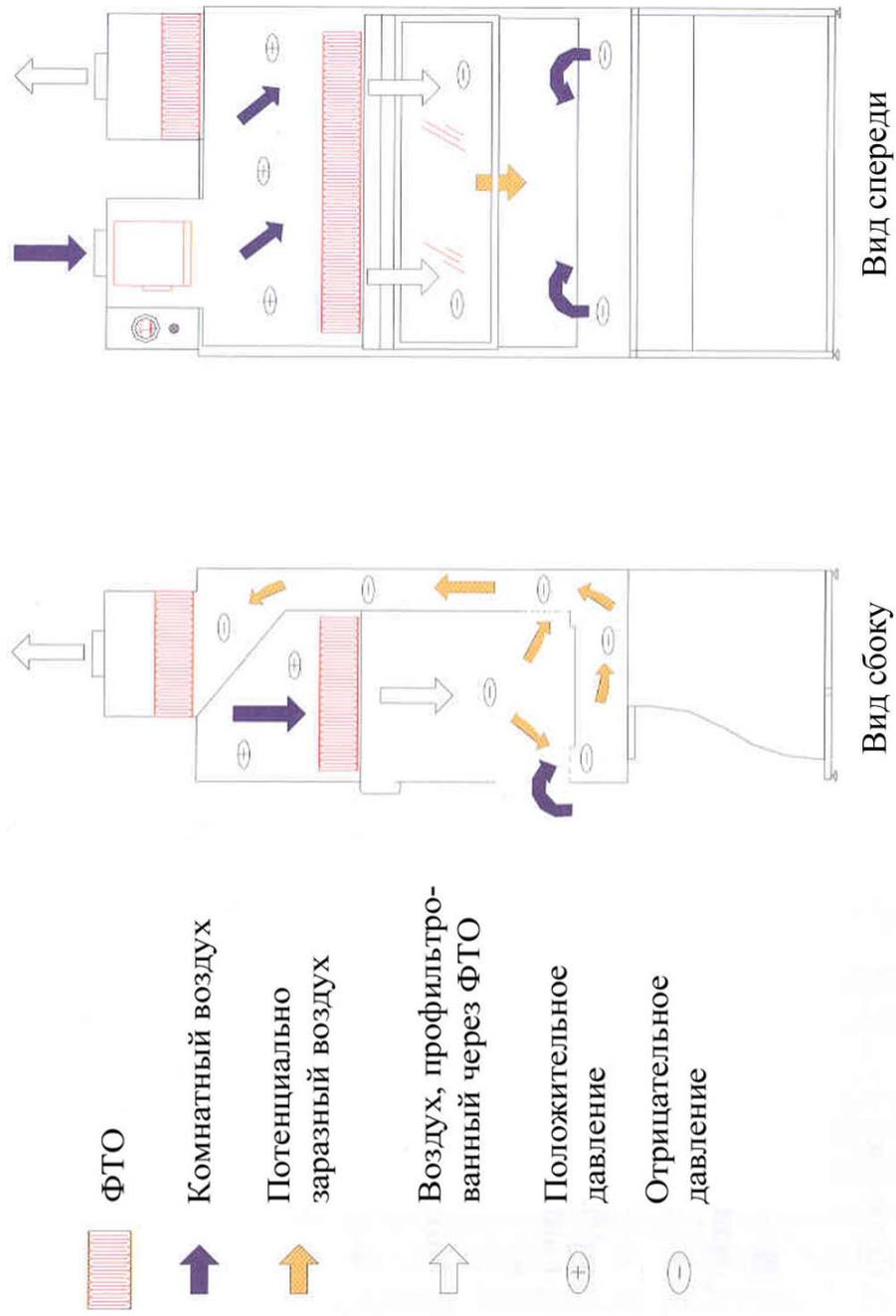


Рисунок 5. БОКС БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КЛАССА II, ТИПА B2 (с жестким воздуховодом).

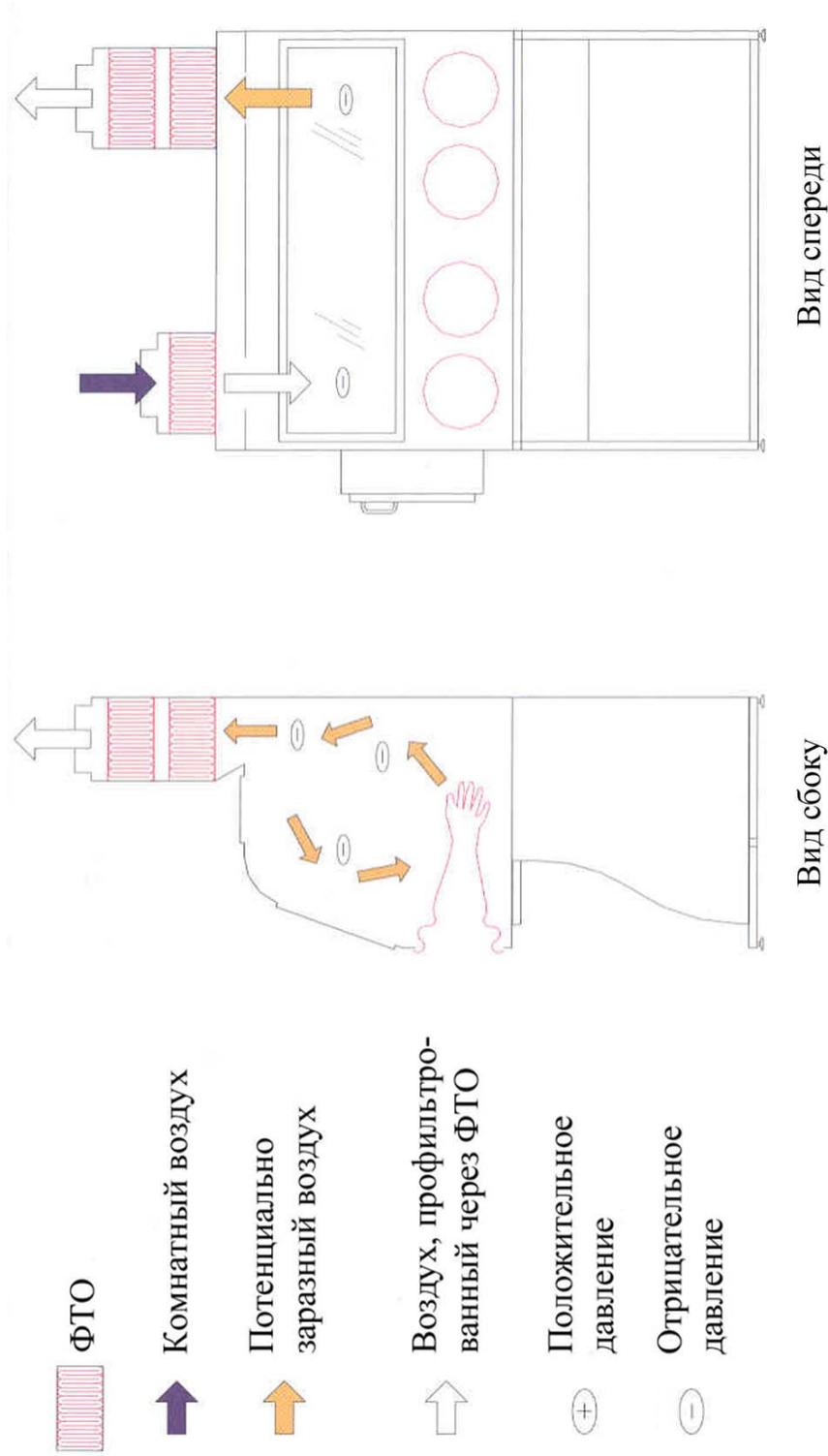


Рисунок 6. БОКС БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КЛАССА III (с жестким воздуховодом).

Глава 10. Правовые Аспекты работы с патогенными микроорганизмами

10.1 Импорт и передача возбудителей инфекционных болезней, патогенных для человека

"Правила импорта патогенов человека" SOR/94-558 (ПИПЧ) представляют собой нормативный акт, который должен исполняться всеми лабораториями, планирующими ввозить в Канаду микроорганизмы, патогенные для человека, или передавать образцы внутри страны. Эти правила были разработаны для получения гарантий, что организации, предполагающие работать с данным возбудителем, имеют для этого необходимый уровень защиты. Любая лаборатория, планирующая ввезти патогены человека групп риска 2, 3 или 4, должна иметь на это действующее разрешение МЗК. Инфекционные агенты группы риска 1 не регулируются ПИПЧ и, следовательно, не требуют разрешения на импорт. Формы заявки на получение такого разрешения можно получить, позвонив непосредственно в Управление лабораторной безопасности МЗК по телефону (613) 957-17-79, или загрузить их с веб-сайта Управления по адресу: <http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgsp/ols-bsl/>. Здесь же можно найти полный текст ПИПЧ и часто задаваемые вопросы о ввозе патогенных микроорганизмов.

Лаборатории, подающие заявки на импорт или передачу возбудителей инфекционных болезней человека, по соблюдению специальных правил безопасности и степени физической изоляции должны соответствовать уровням защиты, описанным в настоящем руководстве. Лабораториям, желающим ввезти патогены, требующие УЗ-3 и УЗ-4, до получения разрешения на импорт необходимо получить сертификат МЗК о том, что лаборатория соответствует требованиям настоящего руководства. Критерии, используемые при аттестации лабораторий, описаны в главе 5. Организации, планирующие ввоз микроорганизмов группы риска 2, должны пройти самопроверку на соответствие требованиям настоящего руководства к УЗ-2. Корректность этой самопроверки могут в любой момент проконтролировать инспекторы МЗК. Кроме того, на вышеуказанном веб-сайте Управления лабораторной безопасности МЗК имеется список патогенов человека по группам риска.

Многие возбудители инфекционных болезней человека одновременно являются патогенами животных. Ввоз и передачу микроорганизмов, патогенных для животных, регулирует КАИПП (см. раздел 10.4 в этой главе). Для импорта возбудителей антропоонозов требуется получить разрешение как от КАИПП, так и от МЗК. Импортер несет ответственность за по-

лучение всех необходимых разрешительных документов до ввоза инфекционного агента в Канаду.

10.2 Экспорт патогенных микроорганизмов

Многие патогены и оборудование для работы с ними, предназначенные для экспорта из Канады, требуют письменного разрешения. Канада является государством, подписавшимся под Конвенцией по биологическому и токсинному оружию 1972 года. Конвенция имеет целью нераспространение биологического и токсинного оружия посредством запрета на разработку, производство, накопление и приобретение микробиологического (биологического) и токсинного оружия и их разрушение. Департамент иностранных дел и Министерство международной торговли Канады в настоящее время контролируют экспорт определенных токсикологических и биологических агентов, а также имеющие к ним отношение оборудование, компоненты, материалы и технологии, которые определены п. 2007 перечня экспортконтроля указанной международной Конвенции. Помощь и консультации на эту тему можно получить в Департаменте иностранных дел и Министерстве международной торговли Канады, отделе экспортконтроля, тел. (613) 996-23-87, а также на их веб-сайте: <http://www.dfait-maeci.gc.ca/eicb/>.

10.3 Транспортировка

Транспортировка инфекционных материалов является важной частью повседневной лабораторной работы, как в научно-исследовательском, так и в диагностическом секторе. Образцы могут перевозиться автомобильным или воздушным транспортом с целью оказания помощи одними исследователями – другим, находящимся в удалении, или для постановки первичных диагностических тестов с образцами, полученными от больных людей. Несмотря на то, что не было зарегистрировано ни одного случая заболевания людей, связанного с транспортной аварией при перевозке инфекционных агентов (1), такие аварии имеют место (2). Поэтому важно упаковывать и транспортировать заразные материалы в соответствии с проверенными и утвержденными методами.

Перевозка инфекционных агентов внутри Канады регулируется "Правилами транспортировки опасных грузов" (SOR/85-77), разработанными Министерством транспорта Канады. Это министерство определяет требования к маркировке, упаковке и документации, необходимым для перевозки заразных материалов, включая диагностические образцы, внутри Канады. Этот процесс требует также специальной подготовки лиц, осуществляющих транспортировку опасных грузов (инфекционных агентов). Кроме того, перевозчики материалов, относящихся к группе риска 4, обя-

заны иметь план содействия при устранении последствий аварий, для реагирования в случае любой нештатной ситуации на всей территории Канады. Больше информации на тему перевозки инфекционных агентов внутри страны можно получить в Министерстве транспорта Канады, в отделе стандартов опасных грузов, по тел. (613) 990-10-59, или при переписке по адресу Place de Ville, Tower C, 330 Sparks St., 4th Floor, Ottawa ON K1A 0N8, или на веб-сайте отдела по адресу: <http://www.tc.gc.ca/civilaviation/commerce/dangerousgoods/>.

Перевозка патогенов по воздуху между странами регулируется Международной организацией гражданской авиации (ИКАО) (3). Поскольку большинство перевозчиков в мире (пассажирских, почтовых и грузовых) являются членами этой организации, в подавляющем большинстве случаев международная транспортировка заразных материалов осуществляется в соответствии с правилами ИКАО. Они определяют требования к маркировке, упаковке и документации, необходимым для перевозки инфекционных агентов из одной страны в другую по воздуху. Эти правила требуют также специальной подготовки лиц, осуществляющих транспортировку опасных грузов (инфекционных агентов). Требования ИКАО базируются на документе ООН, который называется "Рекомендации по транспортировке опасных грузов". Для получения дальнейшей информации, касающейся перевозки патогенов по воздуху, связывайтесь, пожалуйста, непосредственно с представителем ИКАО в Канаде: Джудит Коуд, руководитель отдела стандартов опасных грузов, коммерческой и служебной авиации, Министерство транспорта Канады, тел. (613) 990-10-60 (почтовый адрес Министерства транспорта указан выше).

Транспортировка заразных материалов по воздуху регулируется также "Положением об опасных грузах" Международной ассоциации воздушного транспорта (4). Это положение излагает все обязательные требования ИКАО и универсальные авиационные правила применительно к безопасной упаковке и транспортировке инфекционных агентов. Копию этого документа можно получить в Международной ассоциации воздушного транспорта, позвонив по телефону +1 (800) 716-63-26, или на ее веб-сайте: <http://www.iata.org/>.

10.4 Импорт, передача и изоляция возбудителей инфекционных болезней животных

"Акт здоровья животных" (1990) и "Положение о здоровье животных" предоставляют КАИПП законодательные полномочия контролировать использование импортируемых возбудителей инфекционных болезней животных, а также патогенов животных, подлежащих сообщению. Последние включают материалы от животных, которые содержат потенци-

альные инфекционные агенты. Для более подробной информации следует обращаться к двум вышеуказанным документам.

Для ввоза в Канаду всех патогенов животных необходимо получить разрешение. В случае возбудителей антропозоонозных инфекций требуются разрешения как от МЗК, так и от КАИПП. Если патоген ввозится в страну по разрешению, которое предусматривает ограничение его распространения, для передачи культур в другие организации должно быть получено дополнительное разрешение от КАИПП.

КАИПП также определяет условия, при которых лаборатория планирует хранить и использовать культуры возбудителей болезней животных. Рассматривается не только риск для здоровья человека, но также уровень изоляции, необходимый для предотвращения утечки патогенов из лаборатории и попадания их в окружающую среду, где это может представлять опасность для местной фауны. Руководство "Стандарты биологической защиты для ветеринарных учреждений" (5), изданное КАИПП, описывает минимальные требования к проектированию, параметрам физической защиты и операционным процедурам для канадских лабораторий и объектов, которые импортируют возбудители зоонозных и антропозоонозных инфекций. Организации, которые обращаются в КАИПП за разрешением на ввоз таких патогенов, вначале должны продемонстрировать, что они отвечают требованиям указанного руководства.

Возбудители болезней животных, включая те, которые поражают и людей, контролируются КАИПП и включены в базу данных, которую ведет отдел биологической защиты и безопасности данного ведомства. Это постоянно редактируемый перечень, в него вносятся новые патогены, которые требуют ограничительных мер. Микроорганизмы, которые вызывают инфекции животных, не встречающиеся на территории Канады (неэнзоотические), составляют отдельную часть перечня и подлежат наиболее строгим мерам ограничения. Для получения консультаций по вопросам ввоза, использования и распространения каждого отдельного патогена животных следует обращаться в КАИПП. Адрес для переписки: Biohazard Containment and Safety Division, Canadian Food Inspection Agency, 159 Cleopatra Drive, Ottawa, Ontario, K1A 0Y9; тел. (613) 221-70-68; факс (613) 228-61-29; веб-сайт: <http://www.inspection.gc.ca/english/sci/lab/bioe.shtml>. Информацию о статусе патогенов растений, которые подпадают под "Акт защиты растений", можно получить в отделе защиты и разведения растений Лицензионного управления по адресу: Plant Protection and Production Division, Permit Office, 59 Camelot Drive, Ottawa, Ontario, K1A 0Y9; тел. (613) 228-23-42 (добавочный 4334 или 4333); факс (613) 228-66-05.

Список литературы

1. Guidelines for the safe transport of infectious substances. Geneva: Division of Emerging and Other Communicable Diseases Surveillance and Control, WHO, 1997.
2. Transport Canada. 1999 statistics. Canadian Transport Emergency Centre, 2000.
3. International Civil Aviation Organization. Technical instructions for the safe transport of dangerous goods by air. 2001-2002. Doc 9284-AN/905, 2000.
4. International Air Transport Association. Dangerous goods regulations. 43th edition. January 2003.
5. Containment standards for veterinary facilities. Ottawa: Agriculture and Agri-Food Canada, Minister of Supply and Services Canada, No. 1921/E, 1996.

Предметный указатель

Аварии	11, 18, 20, 21, 24, 25, 56, 97
Автоклавы	6, 20, 23, 37, 40, 45, 46, 53, 55, 74, 75, 77, 84
Автоклавирование.....	20, 42, 74, 78
Аттестация	11, 44-46, 48-51, 83-87, 96
Аэрозоли	6, 7, 17, 19, 20, 23, 39, 55-57, 63, 82

БББ см. *Боксы биологической безопасности*

Боксы биологической безопасности (БББ)	5, 6, 25, 82-86
Боксы биологической безопасности, классы и характеристики	82-84
Боксы биологической безопасности, уровень защиты 1	82
Боксы биологической безопасности, уровень защиты 2	83-84
Боксы биологической безопасности, уровень защиты 3.....	6, 21, 58
Боксы биологической безопасности, изолированные лаборатории	94
Боксы биологической безопасности, обеззараживание	97

Вакцины	6, 55, 66
Введение (инъекция) заразного материала случайное	17
Ввоз патогенов см. <i>Импорт патогенов</i>	
Вентиляция	4, 22, 24, 28, 33, 34, 49, 50, 53, 61, 84, 85, 87
Вентиляция лабораторий.....	34, 61, 85
Воздухообмена системы	42, 58-61
Водоснабжение лаборатории	28, 39
Возбудители туберкулеза	8, 62
Вспомогательные персонал см. <i>Инженерно-технические службы</i>	
Вывоз патогенов см. <i>Экспорт патогенов</i>	
Вывоз патогенов	97

Газовое обеззараживание помещений	76
Газовые баллоны	41
Герметичная заслонка обратной тяги	33, 35, 36, 47, 49, 50
Группы риска см. <i>Патогенные микроорганизмы, группы риска</i>	
Группы риска.....	2, 4, 5, 7, 55, 70, 84, 96
Группа риска 1	4, 55, 96
Группа риска 2	4, 96
Группа риска 3.....	4, 55, 96
Группа риска 4.....	5, 56, 84, 96, 97
Грызуны и насекомые, программа контроля	20, 61

Дезинфектанты химические (дезинфицирующие средства)	24, 25, 37,
.....	41, 52, 56, 57, 75-77, 79, 86, 87
Дезинфекция	11, 20, 31, 42, 55, 60, 64, 73, 75, 77, 87
Дезинфекция, отходы и стоки	77
Дезинфицирующие средства см. <i>Дезинфектанты химические</i>	
Диагностические образцы см. <i>Образцы диагностические</i>	
Диагностические тесты.....	7, 8, 69, 97
Диспансеризация см. <i>Медицинское наблюдение и диспансеризация</i>	
Документация, транспортировка заразных материалов	11, 20, 97, 98
Душ водяной	23, 24, 29, 64
Душ химический	24, 25, 30, 41, 52
З аразные материалы	2, 11, 13, 17-20, 23, 55, 74-76, 82, 87, 97, 98
Заразные материалы, автоклавирование	84
Заразные материалы, удаление	16, 28
Защита глаз и лица	6, 18
Защитное оборудование персональное см. <i>Персональное защитное оборудование; Одежда защитная</i>	
Защита, инструкции	7, 9, 86
Защита, оборудование.....	23, 41, 52, 56, 58, 61
Защитные материалы	6, 10, 55
Знаки и указатели	30, 37, 68
И глы, безопасное использование	17, 19
Изолированные лаборатории	22, 30, 78
ИКАО (Международная организация гражданской авиации, от англ. "International Civil Aviation Organization, ICAO")	108
Изолированные помещения	10, 13, 22, 45, 61, 63, 73, 78
Иммунизация	9
Импорт патогенов	96, 98
Инженерно-технические службы	12, 21, 33, 87
Инженерно-технические службы, подготовка	21
Инспектор биологической безопасности , 9, 10, 20, 25, 46, 49, 50, 51, 56, 87	
К омиссия по биологической безопасности.....	7, 9, 20, 46, 49-51
Коммуникации	46, 47, 52
Контейнеры	18-20, 22, 58, 74-76, 87
Контейнеры герметичные	20, 22
Контейнеры открытые	87
Контейнеры центрифужные (пробирки, стаканы)	76

Комиссия по биологической безопасности	18
Костюм с положительным давлением воздуха	6, 24, 25, 39, 41, 52, 84
Кремационные.....	78

Лабораторное оборудование *см. Оборудование, лаборатории*

Лабораторные животные
 8, 19, 21, 25, 60, 61 |

Лабораторный персонал, подготовка *см. Подготовка лабораторного персонала*

Маркировка.....
 13, 28, 97, 98 |

Масштабное культивирование микроорганизмов
 5, 8, 10, 55 |

Медицинское наблюдение и диспансеризация
 9, 62 |

Международная ассоциация воздушного транспорта (МАВТ)
 98 |

Международная организация гражданской авиации (ИКАО, от англ. ICAO).....
 98 |

Микроорганизмы, генетические манипуляции
 65 |

Микроорганизмы, группы риска.....
 4, 7, 56, 84, 96 |

Надзор
 9, 21 |

Нечеловекообразные приматы
 1, 62-64 |

Обеззараживание, боксы биологической безопасности *см. Боксы биологической безопасности*

Обеззараживание, воздух и поверхности *см. Газовое обеззараживание помещений*

Обеззараживание, кровь и другие биологические жидкости
 32 |

Обеззараживание, проливание культур, аварии
 20, 32, 56, 74, 76 |

Оборудование.....
 12, 13, 18, 19, 22, 23, 28, 30, 37, 39, 41, 44, 46, 51, 52, 55-58, 60, 61, 63, 64, 73-79, 85, 97 |

Оборудование аварийное
 39, 41, 48, 51, 52, 84, 86 |

Оборудование, безопасность
 39, 41, 48-52, 84, 86 |

Оборудование, изолированные лаборатории *см. Физическая защита (изоляция), оборудование*

Оборудование электрическое
 34, 64 |

Образцы
 18, 22, 37, 56, 60, 73, 74, 96 |

Образцы, анализ
 56 |

Образцы диагностические
 97 |

Образцы, сбор.....
 56 |

Образцы, транспортировка.....
 97 |

Образцы, хранение
 75 |

Обувь
 18, 23-25, 58, 64 |

Одежда защитная	18, 19, 23-25, 58, 61-63, 74, 76, 84, 86
Одежда лабораторная	18, 19, 23, 25, 29, 39, 73
Одежда личная	22, 23, 25, 29, 39, 58
Освещение	64, 87
Острые предметы	17, 19, 63

П атогены животных	77, 96, 98, 99
Первичная защита	6, 23, 39, 58, 82
Передаточные шлюзы	23, 77
Персонал лабораторий.....	1, 2, 4, 6, 9, 10-14, 17, 18, 21-24, 28, 33, 41, 45, 52, 55, 58, 64, 68, 73, 82
Персонал, подготовка <i>см. Подготовка лабораторного персонала</i>	
Персональное защитное оборудование	41, 52, 56, 58, 61, 63
Перчатки	6, 19, 23, 58, 63, 64, 84, 86, 87
Пипетирование	17, 18
План действий при нештатных ситуациях	11-14, 20-22, 24, 55
План реагирования на чрезвычайные ситуации	12-14
Повторная аттестация	11, 44-46, 49-51
Подготовка лабораторного персонала	14, 18, 21-23, 45, 61, 63, 74, 76
Предбокс.....	22
Прионы	67, 69
Проглатывание возбудителя случайное	17
Проливание жидкого заразного материала	20, 56, 74, 76

Р екомбинантная ДНК	10, 65
Респираторы	23, 58, 61

С анитарный пропускник (санпропускник)	29, 30, 39, 50
Стерилизация <i>см. Автоклавы</i>	
Стоки, жидкие отходы	40, 77
Сыворотки	18, 45

Т ранспортировка опасных грузов.....	11, 12, 20, 97, 98
---	--------------------

УЗ *см. Уровни защиты*

Указатели, предупреждающие об опасности	58
Упаковка культур микроорганизмов для транспортировки	97-98
Уровень защиты 1 (УЗ-1)	5, 56
Уровень защиты 2 (УЗ-2)	5, 7, 8, 10, 14, 20, 24, 57, 63, 66, 69, 82, 96
Уровень защиты 3 (УЗ-3)	6-8, 10, 11, 14, 21, 22, 29, 31, 33-37, 40, 41, 44, 58, 61, 69, 76, 77, 82, 96

Уровень защиты 4 (УЗ-4)	6, 11, 14, 24, 25, 39, 44, 52, 53, 61, 69, 76, 77, 82, 96
Уровни защиты (УЗ)	5-8, 10, 11, 14, 20, 21, 24, 25, 29, 31, 33-41, 44, 52, 53, 56, 58, 61, 63, 66, 69, 76, 77, 82, 96
Ф изическая защита.....	7, 8, 12, 24, 28, 46, 56, 58, 61, 64, 82, 99
Фильтры тонкой очистки (ФТО)	4, 6, 33-36, 40, 41, 45, 48-50, 57, 82-85
Фильтры тонкой очистки, боксы биологической безопасности	48-50
Формальдегид	24, 76, 77
Формальдегид, обеззараживание помещений	76, 77
ФТО см <i>Фильтры тонкой очистки</i>	
Фумигация	31, 53, 76
Х олодильники	84
Ц	
<i>Cercopithecine herpesvirus 1</i>	62, 71
CHV-1 см. <i>Cercopithecine herpesvirus 1</i>	1
Центрифуги	6, 17, 84, 85
Центрифужные герметично закрывающиеся адаптеры	23
Циркуляция воздуха см. <i>Вентиляция</i>	
Ш прицы.....	17, 19
Шприцы, использование.....	19
Э кспорт патогенов см. <i>Вывоз патогенов</i>	
Электричество, снабжение лабораторий	28, 39, 41, 51

Перевод с английского А.А. Филиппова