

Національна академія наук України

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна

Максимович Я.С., Гергалова Г.Л., Комісаренко С.В.

# **Біобезпека під час біологічних досліджень**

Навчальний посібник

Рекомендовано вченою радою Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна

Київ 2019

УДК 613.636+614.8.084

Б63

Рецензенти

В.І. Задорожна – професор, чл.-кор. НАМН України, директор ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України»

А.П. Герілович – професор, чл.-кор. НААН України, заступник директора ННЦ «Інститут експериментальної та клінічної ветеринарної медицини» НААН України

Рекомендовано до видання вченою радою Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна (протокол № 5 від 25 квітня 2017 р.)

**Максимович Я.С.**

Б63 Біобезпека під час біологічних досліджень : навчальний посібник / Максимович Я.С., Гергалова Г.Л., Комісаренко С.В. – К.: Бихун В.Ю., 2019. – 78 с.

ISBN 978-617-7699-00-1

У навчальному посібнику наведені сучасні дані з питань біобезпеки під час біологічних досліджень та про роботу лабораторій, що працюють з небезпечними біологічними матеріалами. Значна увага приділена обладнанню для забезпечення працівників та засобам індивідуального захисту, розглянута концепція управління біологічними ризиками.

Видання призначене для широкого кола читачів: біологів, викладачів та студентів біологічних, ветеринарних та медичних факультетів, працівників лабораторій, що стикаються у своїй діяльності з небезпечними біологічними матеріалами.

**УДК 613.636+614.8.084**

© Максимович Я.С., Гергалова Г.Л., Комісаренко С.В.  
© Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, 2019

ISBN 978-617-7699-00-1

## **Зміст**

<b>ВСТУП.....</b>	<b>4</b>
<b>РОЗДІЛ 1. УПРАВЛІННЯ БІОРИЗИКАМИ: ОЦІНЮВАННЯ РИЗИКІВ .....</b>	<b>6</b>
<b>РОЗДІЛ 2. РІВНІ БІОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ. ОСОБЛИВОСТІ ЛАБОРАТОРІЙ РІЗНИХ РІВНІВ БІОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ .....</b>	<b>12</b>
<b>РОЗДІЛ 3. УПРАВЛІННЯ БІОЛОГІЧНИМИ РИЗИКАМИ: ЗНИЖЕННЯ РИЗИКІВ .....</b>	<b>19</b>
<b>3.1. Стратегії зниження ризиків .....</b>	<b>19</b>
3.1.1. Захисне лабораторне обладнання .....	20
3.1.2. Належні практики та процедури .....	45
3.1.3. Засоби індивідуального захисту .....	59
<b>РОЗДІЛ 4. BSL-2 ЛАБОРАТОРІЇ: ОСОБЛИВОСТІ .....</b>	<b>69</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....</b>	<b>79</b>

## Вступ

Щодня вчені-біологи у своїй рутинній діяльності стикаються з великою кількістю біологічних об'єктів, які або вивчаються, або використовуються як тонкі і надійні інструменти під час різноманітних досліджень. Список лабораторних тварин, мікроорганізмів, вірусів, культур тканин та клітин різного походження, що є у науково-дослідних лабораторіях, надзвичайно довгий. Робота з кожним з таких об'єктів наражає дослідника на певні ризики, які, очевидно, необхідно звести до мінімуму. Широкий спектр заходів захисту від небезпек, що з'являються під час роботи з біологічними об'єктами чи матеріалами, розглядається в межах біологічної безпеки та біологічного захисту, які є порівняно новими сферами знань. Тлумачення цих термінів надзвичайно різноманітні і залежать від галузі діяльності, де вони використовуються. Так, в Законі України «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів» термін біологічна безпека визначається в такому значенні – «стан середовища життєдіяльності людини, при якому відсутній негативний вплив його чинників (біологічних, хімічних, фізичних) на біологічну структуру і функцію людської особи в теперішньому і майбутніх поколіннях, а також відсутній незворотній негативний вплив на біологічні об'єкти природного середовища (біосферу) та сільськогосподарські рослини і тварини» [1]. У контексті збереження біорізноманіття біобезпеку тлумачать як «концепцію, що включає в себе ряд заходів, політик і процедур для мінімізації потенційних ризиків біотехнології для навколишнього середовища і здоров'я людини» [2]. Засоби і заходи протидії біологічним загрозам та ризикам під час роботи в медико-біологічних лабораторіях регламентує лабораторна біобезпека. Згідно з Інструкцією з лабораторної біобезпеки, що була розроблена та опублікована Всесвітньою організацією охорони здоров'я, лабораторна біобезпека – це принципи, технології та практики, які впроваджуються для запобігання ненавмисного вивільнення

та поширення патогенів і токсинів [3]. Застосування терміну «біозахист» розширюється, однак його універсально узгодженого визначення досі нема. У різних галузях те саме слово використовується в різних значеннях, що може призводити до плутанини [4 - 6]. Термін «біозахист» спочатку використовувався стосовно тварин і рослин; пізніше – у сфері охорони здоров'я людей, в академічних [7] та політичних колах, службами безпеки. У тваринництві та ветеринарії «біозахист» означає належні методи гігієни, які допомагають запобігти появі та поширенню хвороб тварин. Біозахист у фітосанітарній справі тлумачать як елементи захисту рослин від комах-шкідників, а також від тварин або методик, які можуть несприятливо впливати на рослини. Продовольча і сільськогосподарська організація ООН (FAO) вважає біозахист «стратегічним і комплексним підходом, що включає політику та нормативні межі (включно з документами і заходами), які аналізують і управляють ризиками в галузях харчової безпеки, ветеринарії і агрокультури, зокрема пов'язаними з екологічними ризиками» [8, 9]. «Лабораторний біозахист» у «Інструкції з лабораторного біологічного захисту» [10] тлумачиться як захист, контроль та звітність цінних біологічних матеріалів у лабораторії для запобігання несанкціонованого доступу до них, їх втрати, крадіжки, неправильного використання, диверсії або ненавмисного вивільнення та поширення. Цінні біологічні матеріали – це біологічні матеріали, що потребують (на думку їхніх власників, користувачів, тих, хто зберігає їх чи опікується ними, або регуляторів) адміністративного нагляду, контролю, підзвітності та специфічних заходів охорони і контролю в лабораторіях для захисту їхньої економічної та історичної (архівної) цінності, та/або населення від їхнього потенційно шкідливого впливу. Це можуть бути патогени і токсини, а також непатогенні організми, вакцинні штами, харчові продукти, генетично модифіковані організми (ГМО), компоненти клітин, генетичні елементи і позаземні зразки [10].

У цій роботі розглядатиметься саме лабораторна біобезпека.

## **Розділ 1. Управління біоризиками: оцінювання ризиків**

Гарантування належного рівня біобезпеки та біозахисту в лабораторії ґрунтується на концепції управління біологічними ризиками. Біологічний ризик – це ризик, пов'язаний з біологічними небезпеками, який можна розглядати як можливість того, що небезпека матиме несприятливі наслідки для людського існування і здоров'я, майна та навколишнього середовища в конкретних умовах. Отже, ризик, пов'язаний з біологічним агентом або організмом, є ймовірністю настання певної несприятливої події в певний час і величиною збитків, що будуть завдані, залежно від різних факторів, таких як вплив небезпеки, частота впливу і тяжкість будь-якого подальшого збитку. Багато аспектів аналізу ризику є загальними і їх можна застосувати до всіх класів ризиків.

Біологічні ризики можна поділити на дві великі категорії: природного походження і спричинені людьми [11].

1) Ризики природного походження включають:

- появу стійких до антибіотиків бактеріальних інфекцій (туберкульоз, пневмонії);
- природні емерджентні патогени, що пов'язують з вирубкою лісів (мавпяча віспа, Ебола, лихоманка Ласса);
- поширення зоонозів, тобто інфікованих популяцій тварин, які передають захворювання людині через прямий контакт, вектори або воду / харчові продукти;
- токсини, які продукують пліснява та гриби (дезоксиніваленол, афлатоксини, охратоксин);
- спалахи паразитарних інфекцій людини;
- інвазивні чужорідні види (рослини, тварини і мікроорганізми).

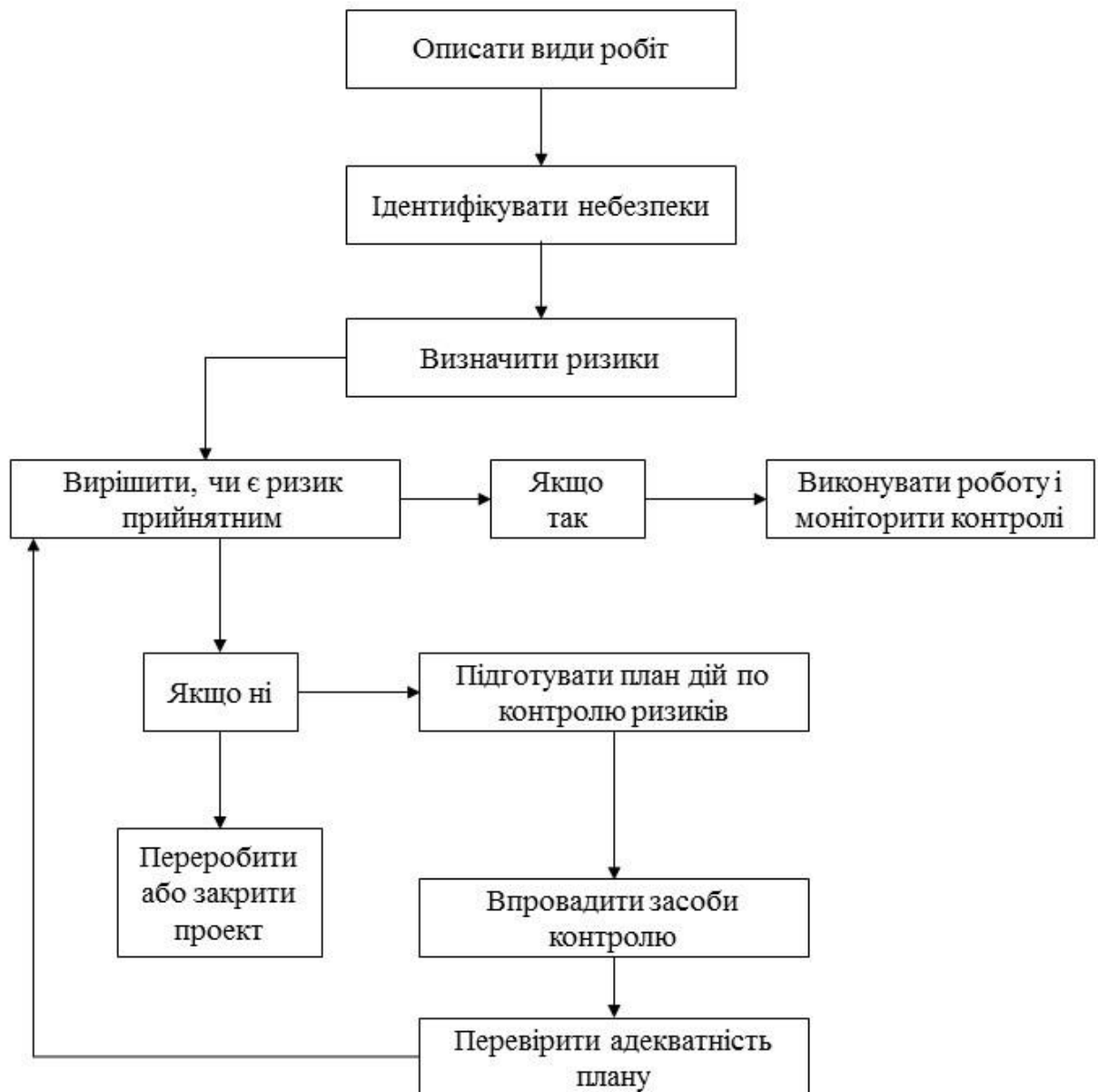
2) Спричинені людиною, або пов'язані з нею біологічні ризики можна додатково поділити на:

- навмисно індуковані ризики, такі як використання шкідливих біологічних агентів у військових чи терористичних цілях; і
- біотехнологічні ризики, такі як продукти традиційного схрещування і селекції, мутацій і сучасних біотехнологій.

Першим кроком в управлінні ризиками є оцінювання ризиків – основний процес, що допомагає визначити лабораторні ризики, контролювати та знизити їх. Основна мета оцінювання ризиків у лабораторії – інформувати про процес прийняття рішень, які знижують ризики в лабораторії, а отже ризики для людей в лабораторії, на об'єкті та / або установі, за межами біологічної лабораторії, зокрема для громадськості та флори й фауни [11].

Оцінювання обумовленого(их) біологічною(ними) небезпекою(ками) біоризику(ів) враховує адекватність будь-яких наявних механізмів контролю, а також включає прийняття рішень про те, чи є даний(і) біологічний(ні) ризик(и) прийнятним(и) чи ні [12]. Іншими словами, оцінювання ризику є процесом, який використовується для виявлення шкідливих характеристик відомих або потенційних інфекційних збудників і матеріалів та діяльності, яка може призвести до контакту співробітника зі збудником, ймовірності того, що такий контакт спричинить зараження, і можливі наслідки такого зараження. Отримана під час оцінювання ризиків інформація визначить вибір відповідних рівнів біологічної безпеки та практичних прийомів, захисного обладнання і захисту приміщень, що допоможуть запобігти зараженню співробітників [13]. Незважаючи на те, що для проведення оцінювання ризику, пов'язаного з встановленою процедурою або експериментом, є багато інструментів, все ж найважливішим елементом цього процесу залишається висновок фахівців. Оцінювання ризиків повинні проводити спеціалісти, які найкраще знають специфічні характеристики досліджуваних організмів, застосовувані обладнання та процедури, піддослідних тварин, що можуть бути

використані, і обладнання та засоби для запобігання поширення агентів. Керівник лабораторії або дослідницької групи відповідає за проведення адекватного та своєчасного оцінювання ризиків та тісну співпрацю з комітетом безпеки цієї установи й фахівцями з біобезпеки для того, щоб забезпечити відповідними засобами і обладнанням, що потрібні для здійснення запланованої роботи [3]. Стратегія оцінювання ризику представлена на рисунку 1.



**Рисунок 1.** Стратегія оцінювання ризиків (з CWA 15793:2008)



Оцінювання ризиків потрібно проводити дуже ретельно, адже негативні наслідки більш ймовірні у разі недооцінювання ризику. Але застосування більш суворих заходів захисту, ніж дійсно потрібно, теж не дуже вдалий підхід, адже це може призвести до додаткових витрат і збільшення навантаження на лабораторію, а рівень безпеки за цих умов не дуже підвищиться. Непотрібне навантаження може призвести до того, що співробітники будуть намагатися ігнорувати необхідний захист. Однак, якщо інформації для чіткого визначення ризику недостатньо, краще застосувати додаткові заходи захисту до тих пір, поки не з'являться додаткові дані [13]. Оцінювання ризиків потрібно регулярно переглядати і, за потреби, коректувати його, враховуючи нову інформацію [3].

Звичайно, різні установи мають різний обсяг фінансових та організаційних ресурсів для зниження біологічних ризиків. Основні труднощі, з якими стикаються лабораторії у всьому світі – це брак надійного електропостачання та адекватної інфраструктури об'єктів, проблеми, пов'язані з географічним місцезнаходженням та захистом, мінливі погодні умови, і персонал, що потребує навчання тощо. Багато установ взагалі не мають програм управління ризиками у сфері безпеки та захисту, або мають разові, а не постійні програми і системи управління. Однак, якщо використовувати підхід зменшення біоризиків, що базується на їх попередньому оцінюванні, то персонал зможе краще зрозуміти, які ризики вже є або можуть з'явитися в лабораторії і як такі ризики можуть вплинути на співробітників, їхні сім'ї, населення. Крім того, можна вжити найбільш прийнятних заходів для зниження ризиків в умовах обмежених ресурсів, а не використовувати наказовий підхід, що може не виконуватися взагалі або виконуватися час від часу. Отже, заходи зниження ризиків будуть набагато відрізнятися від лабораторії до лабораторії, від установи до установи, від країни до країни [14]. Надійний контроль небезпек в лабораторії захистить не тільки співробітників лабораторії, людей в будівлі, де розташована лабораторія, а і населення загалом [13].

Одним з найбільш корисних інструментів, доступних для проведення оцінювання мікробіологічних ризиків, є перелік груп ризиків, що пов'язані з мікробіологічними агентами. Згідно з рекомендаціями ВООЗ збудників захворювань, з якими працюють в лабораторіях, поділяють на так звані групи ризику на основі їх властивостей та шляхів природної передавання захворювання. Така класифікація мікроорганізмів враховує здатність інфікувати і спричиняти захворювання у сприйнятливих реципієнтів – людини або тварини, вірулентність, вимірювану тяжкістю захворювання, наявність профілактичних заходів й ефективних способів лікування тощо. Відомості про природні способи інфікування людей допомагають визначити можливі шляхи зараження персоналу в лабораторії і можливий ризик для здоров'я населення. Наприклад, якщо збудник може передаватися з виділеннями слизової оболонки дихального тракту зараженої людини, то працівники лабораторії ризикують заразитися, якщо краплі, що утворюються під час маніпуляцій з таким збудником, потраплять на їхні слизові оболонки. Однак, тяжкість захворювання і шляхи передавання збудника під час роботи з ним в лабораторії можуть відрізнитися від таких характеристик у природному середовищі [13]. Одним із можливих нетипових способів внутрішньолабораторного зараження є вдихання інфекційних аерозолів, що утворюються під час проведення певних видів робіт з патогенами. Аерозолі утворюються під час багатьох маніпуляцій, зазвичай не виявляються, дуже легко поширюються з потоком повітря і довго не осідають. Тому вони є серйозною небезпекою не тільки для тих, хто безпосередньо працює із збудником, а й для тих, хто перебувають в лабораторії, чи будівлі, де розташована лабораторія [3].

Розрізняють чотири групи ризику патогенних організмів, які описують небезпеку і для працівників лабораторії, і для населення [3, 13]:

- Група ризику 1 (немає небезпеки або низька індивідуальна та суспільна небезпека) – мікроорганізми, які потенційно не є збудниками хвороб людини або тварин.
- Група ризику 2 (помірна індивідуальна небезпека, низька суспільна небезпека) – патогенні мікроорганізми, які можуть спричинити захворювання у людини або тварин, але не є серйозним ризиком для лабораторного персоналу, населення, свійської худоби або навколишнього середовища. Необережність в лабораторії може спричинити серйозну інфекцію, однак є доступні лікувальні та профілактичні заходи і ризик її поширення обмежений.
- Група ризику 3 (високий індивідуальний і низький суспільний ризик) – патогенні агенти, які зазвичай спричинюють серйозні захворювання людини або тварин, однак, здебільшого не поширюються від хворого до здорового. Є ефективні лікувальні та профілактичні заходи.
- Група ризику 4 (високий індивідуальний і суспільний ризик) – патогенні агенти, які зазвичай викликають серйозні захворювання у людини або тварин і легко поширюються від хворого до здорового прямо або опосередковано. Ефективних лікувальних і профілактичних заходів здебільшого немає.

В Україні патогени теж розділені на чотири групи – так звані групи патогенності, або групи небезпеки. Найбільш небезпечними вважаються мікроорганізми I групи, а найменш – IV [15, 16].

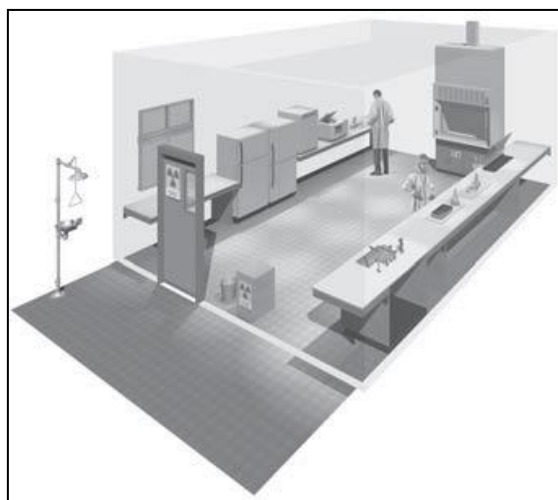
## **Розділ 2. Рівні біологічної безпеки. Особливості лабораторій різних рівнів біологічної безпеки**

Щоб захистити працівників лабораторій від можливого контакту з біологічними агентами використовуються комбінації лабораторних методів і процедур, лабораторного обладнання (первинних бар'єрів) та засобів захисту (вторинних бар'єрів). Такі поєднання називаються рівнями біобезпеки (Biosafety Level – BSL) [13]. Класифікація лабораторії за рівнем біобезпеки проводиться з урахуванням їхнього призначення, конструкції, використовуваного обладнання та засобів, практики та процедур для роботи з агентами різних груп ризику. За рівнем біобезпеки лабораторії поділяються на 4 категорії: базові – рівень біобезпеки 1, базові – рівень біобезпеки 2, ізольовані – рівень біобезпеки 3 і максимально ізольовані – рівень біобезпеки 4. Розподіл патогенів за рівнями біобезпеки для роботи в лабораторних умовах потрібно проводити на основі оцінювання ризиків. Під час вибору відповідного рівня біобезпеки таке оцінювання дасть змогу врахувати інші фактори, а не тільки групи ризику. Наприклад, для безпечної роботи з агентом, що належить до групи ризику 2, необхідно, здебільшого використовувати лабораторії, обладнання, практику і процедури 2-го рівня біобезпеки. Однак, якщо деякі досліди передбачають роботу з великими об'ємами патогенів або отримання висококонцентрованих аерозолів, то для гарантування необхідної безпеки більш доцільно використовувати обладнання третього рівня біобезпеки, що дасть змогу забезпечити кращу ізоляцію аерозолів на робочому місці в лабораторії [3]. Крім того, запровадити більш (або менш) строгі правила роботи зі збудниками можна, якщо є відомості про те, що вірулентність, патогенність, характер стійкості до антибіотиків, наявність вакцин та лікування чи інші фактори суттєво змінилися. Тому рівень біобезпеки, передбачений для конкретних робіт, визначається за висновком фахівців, що базується радше на оцінюванні ризиків, ніж на автоматичному

розподілі рівнів лабораторної біобезпеки відповідно до груп ризику використовуваних патогенних агентів.

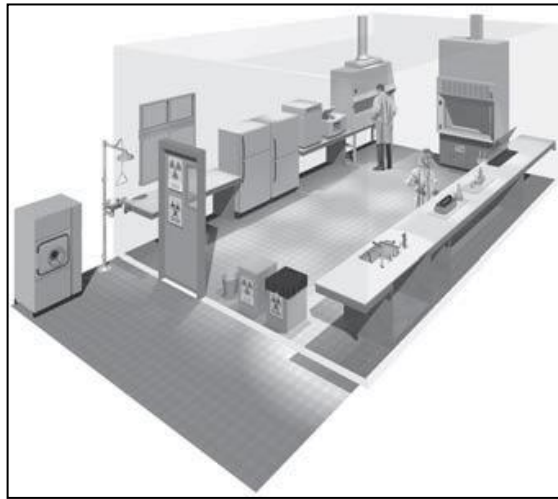
Отже, під час визначення рівня біологічної безпеки до уваги беруть використовуваний організм (патогенні агенти), доступні обладнання та засоби (первинні та вторинні бар'єри), що використовується в практичній роботі, і процедури, необхідні для безпечного проведення роботи в лабораторії [3].

*Рівень біологічної безпеки 1 (BSL-1)* включає практичні прийоми, захисне обладнання, архітектурні й технічні особливості приміщень, придатних для використання як навчальні лабораторії, а також як лабораторії для роботи з визначеними і описаними штамами живих мікроорганізмів, випадки зараженнями якими здорових дорослих людей невідомі. Однак багато мікроорганізмів, які зазвичай не є збудниками захворювань людини, є умовно-патогенними і можуть інфікувати дітей, літніх людей та людей з імунodefіцитами. Вакцинні штами, що пройшли через кілька посівів *in vivo*, не треба вважати невірулентними тільки тому, що це вакцинні штами. BSL-1 забезпечує базовий рівень безпеки, який залежить від стандартних / належних мікробіологічних прийомів і для якого не рекомендовані жодні спеціальні первинні або вторинні бар'єри крім раковин для миття рук (див. рис. 2) [13].



**Рисунок 2.** Типова лабораторія 1-го рівня біологічної безпеки [3]

Рівень біологічної безпеки 2 (BSL-2) (див. рис. 3) включає практичні прийоми, захисне обладнання, архітектурні й інженерні особливості приміщень, придатних для клінічних, діагностичних, навчальних та інших лабораторій, в яких проводяться роботи з широким спектром збудників з середнім ризиком для населення, які спричинюють захворювання людини середньої тяжкості: вірус гепатиту В, ВІЛ, сальмонели і *Toxoplasma spp.* Дотримуючись належних правил, з цими збудниками можна працювати на відкритому лабораторному столі, але якщо ймовірність утворення бризок або аерозолів низька. Якщо достеменно невідомо чи інфіковані препарати крові, рідини, тканини або первинні культури клітин людини, то з ними працюють у лабораторіях BSL-2.

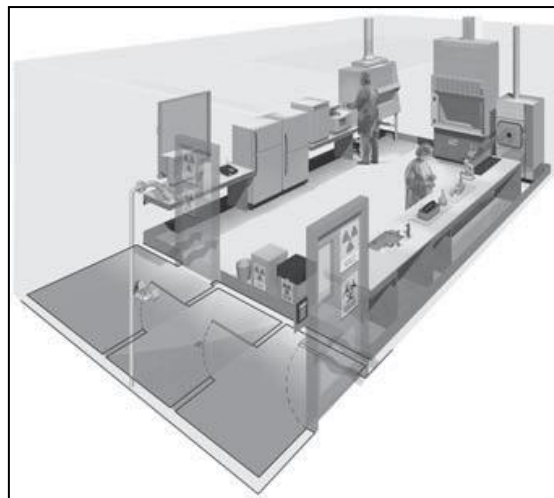


**Рисунок 3.** Типова лабораторія 2-го рівня біологічної безпеки [3]

Основною небезпекою для персоналу, що працює з цими збудниками, є випадкове проникнення інфекційного матеріалу крізь шкіру чи слизові оболонки або його проковтування. Тому особливу увагу звертають на правила роботи забрудненими голками або гострими інструментами. Незважаючи на те, що випадки передавання аерозольним способом організмів, з якими зазвичай працюють за умов BSL-2, невідомі, процедури з високою ймовірністю утворення аерозолу або бризок, потрібно проводити з використанням захисного обладнання – шаф біобезпеки (ШББ), захисних чаш для центрифугування тощо. Якщо

потрібно, треба використовувати засоби для захисту обличчя, халати, рукавички. Для зниження ймовірності забруднення навколишнього середовища потрібно передбачити використання вторинних бар'єрів (раковини для миття рук, пристроїв для знезараження відходів тощо).

*Рівень біологічної безпеки 3 (BSL-3)* включає практичні прийоми, захисне обладнання й архітектурні та інженерні особливості приміщень, придатних для клінічних, діагностичних, навчальних, дослідницьких або виробничих робіт, в яких працюють з місцевими або завезеними збудниками, що можуть передаватися повітряно-крапельним шляхом і спричинювати важкі, а то і летальні інфекційні захворювання. Це *Mycobacterium tuberculosis*, вірус енцефаліту Сент-Луїса, *Coxiella burnetii* тощо. Основна небезпека для персоналу, що працює з цими збудниками, пов'язана з автоінокуляцією, проковтуванням і впливом інфекційного аерозолію.

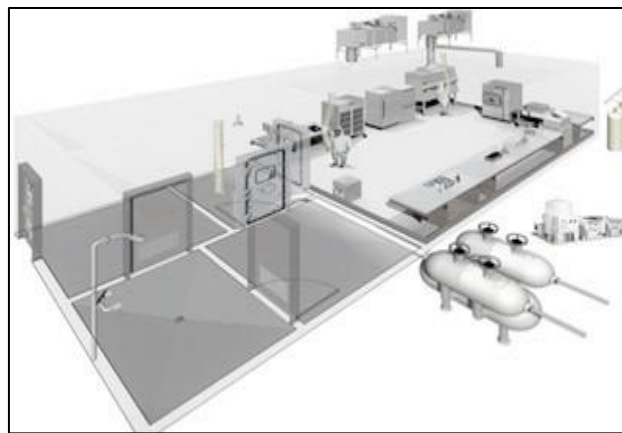


**Рисунок 4.** Типова лабораторія 3-го рівня біологічної безпеки [3]

У BSL-3 лабораторіях велика увага приділяється первинним і вторинним бар'єрам для захисту персоналу, населення і навколишнього середовища від впливу потенційно інфекційних аерозолів. Наприклад, всі маніпуляції з біологічним матеріалом потрібно проводити в ШББ або іншому герметичному обладнанні на зразок герметичних аерозольних камер. Вторинні бар'єри для цього рівня включають обмежений доступ в

лабораторію і систему вентиляції, яка забезпечить мінімальний викид інфекційного аерозолі з лабораторії (див. рис. 4). [3]

*Рівень біологічної безпеки 4 (BSL-4)* поєднує практичні прийоми, захисне обладнання та архітектурні та інженерні особливості приміщень, придатних для роботи з небезпечними і завезеними збудниками, які спричиняють серйозні чи летальні захворювання, що можуть передаватися повітряно-крапельним шляхом і для яких немає вакцин або лікування. На цьому ж рівні потрібно працювати зі збудниками, близькими або подібними за антигенними властивостями до збудників BSL-4.



**Рисунок 5.** Типова лабораторія 4-го рівня біологічної безпеки (URL <http://www.biocontencion.com/bioseguridad.php>)

Основною небезпекою для персоналу, що працює зі збудниками BSL-4, є вплив на органи дихання інфекційних аерозолів, контакт інфекційних крапель зі слизовими оболонками або пошкодженими шкірними покривами та автоінокуляція. Всі операції з потенційно небезпечним діагностичним матеріалом, ізолятами та зараженими (природно чи у лабораторії) тваринами створюють високий ризик контакту з патогеном, а також зараження лабораторного персоналу, населення і забруднення навколишнього середовища. Повна ізоляція працівників лабораторії від аерозолів здійснюється, насамперед, з допомогою ШББ III класу або герметичних комбінезонів з підвищеним тиском всередині. Зазвичай, приміщення BSL-4 – це відокремлені будівлі або повністю ізольовані зони



зі складними і спеціальними вимогами до вентиляції та системами утилізації відходів (див. рис. 5) [14].

У таблиці 1 наведені основні відмінності в проектуванні, оснащенні, застосовуваних процедур лабораторій різних рівнів біобезпеки [3].

**Таблиця 1.** Вимоги до рівнів біологічної безпеки

	Рівень біологічної безпеки			
	1	2	3	4
Ізоляція <sup>a</sup> лабораторії	Ні	Ні	Так	Так
Герметичні камери для знезараження	Ні	Ні	Так	Так
Вентиляція:				
- приточна	Ні	Бажано	Так	Так
- контрольована	Ні	Бажано	Так	Так
- з HEPA-фільтруванням на виході	Ні	Ні	Так/Ні <sup>b</sup>	Так
Вхід з подвійними дверима	Ні	Ні	Так	Так
Повітряний шлюз	Ні	Ні	Ні	Так
Повітряний шлюз з душем	Ні	Ні	Ні	Так
Тамбур	Ні	Ні	Так	-
Тамбур з душем	Ні	Ні	Так/Ні <sup>b</sup>	Ні
Обробка рідких відходів	Ні	Ні	Так/Ні <sup>b</sup>	Так
Автоклав:				
- в установі	Ні	Бажано	Так	Так
- в приміщенні лабораторії	Ні	Ні	Бажано	Так
- з двома дверима	Ні	Ні	Бажано	Так
Шафи біологічної безпеки	Ні	Бажано	Так	Так
Можливість моніторингу безпеки персоналу <sup>d</sup>	Ні	Ні	Бажано	Так

<sup>a</sup> Ізоляція від зовнішнього середовища та функціональна ізоляція від основних потоків руху

<sup>b</sup> Залежно від розміщення викиду повітря

<sup>c</sup> Залежно від того, який патогенний агент використовується в лабораторії

<sup>d</sup> Наприклад, вікна, двері, системи відеоспостереження, двосторонній зв'язок

Згідно з рекомендаціями видання «Біологічна безпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях» працювати з людськими клітинами, клітинами приматів та клінічними зразками потрібно дотримуючись правил і процедур, які визначені для другого рівня біобезпеки [13]. Типові експерименти, пов'язані з генною модифікацією *E.coli* K12/pUC18, можуть безпечно проводитися в умовах першого рівня

біологічної безпеки, якщо чужорідні продукти експресії ДНК, що вбудовується, не вимагають більш високих рівнів біобезпеки [3].

Раніше, в Україні для експериментальних, діагностичних та виробничих робіт із збудниками або матеріалами, підозрілим на їх вміст, та рекомбінованими молекулами ДНК потрібно було отримати спеціальний дозвіл [16]. Зараз він скасований.

## **Розділ 3. Управління біологічними ризиками: зниження ризиків**

### **3.1. Стратегії зниження ризиків**

Зниження біологічних ризиків – це дії та контрольні заходи, що вживаються для зменшення або усунення ризиків, пов'язаних з біологічними агентами і токсинами. Зазвичай їх розділяють на 5 категорій: усунення або заміна, технічні (інженерні) контролю, адміністративні контролю, практики та процедури, засоби індивідуального заходу [17, 18].

*Усунення або заміна* – це усунення фактору ризику, вилучення агенту з роботи або заміна фактору ризику чимось менш небезпечним, наприклад, вакцинним чи атенуйованим штамом.

*Технічні (інженерні) контролю* – це зміни на робочих місцях, заміна обладнання чи застосування більш ефективного, заміна матеріалів, виробничих потужностей або будь-яких інших відповідних аспектів робочого середовища для зменшення або запобігання впливу факторів ризику.

*Адміністративний контроль* – стратегія, стандарти та настанови, що використовуються для управління ризиками.

*Практики та процедури* – процеси та заходи, які виявилися ефективними у зниженні ризиків.

*Засоби індивідуального захисту (ЗІЗ)* – засоби, що одягаються працівниками для захисту від факторів ризику у лабораторії

Кожна з категорій заходів контролю має свої переваги та недоліки (див табл. 2) і, відповідно, мають різний внесок у загальне зниження ризиків під час роботи з біологічними матеріалами. Найбільш ефективними є усунення або заміна, найменш – засоби індивідуального захисту [17].

**Таблиця 2.** Переваги та недоліки категорій заходів контролю біологічних ризиків

Категорія контролю	Переваги	Недоліки
Усунення або заміна	Негайне зниження ризику	Не завжди доступні або допустимі
Технічний (інженерний)	Ефективний, усуває небезпеку	Вартість, складність
Адміністративний	Підхід на основі повноважень	Непрямої підхід, насамперед спрямований на людський фактор
Практики та процедури	Ґрунтуються на СОПах* (стандартизований підхід)	Вимагає навчання та нагляду
Засоби індивідуального захисту	Простота використання, відносно недорогі	Не усуває небезпеку, захищають лише користувача, незручні у використанні, обмежують можливості працівника, якщо ЗІЗ не спрацюють, то працівник наражається на небезпеку

\* СОП – стандартна операційна процедура

### 3.1.1. Захисне лабораторне обладнання

Як уже було зазначено вище, для гарантування належного рівня безпеки лабораторії її приміщення необхідно правильно спроектувати та устаткувати відповідними технічними пристосуваннями, захисним обладнанням. Умовно технічне устаткування можна поділити на первинні та вторинні бар'єри (ізоляцію). Первинні бар'єри (первинна ізоляція) захищають співробітника, який безпосередньо працює з небезпечним матеріалом, від ненавмисного контакту з ним. Вторинні бар'єри (вторинна ізоляція) захищає співробітника, тих, хто працює поруч, та тих, перебуває поза лабораторією / установою, у тих випадках, якщо небезпечний матеріал поширився за межі первинного бар'єру [13]. Деякі технічні засоби є одночасно первинними і вторинними бар'єрами.

Захисне обладнання, включно з шафами біологічної безпеки, герметичними контейнерами та іншими технічними засобами контролю, призначене для усунення або зведення до мінімуму впливу шкідливого біологічного матеріалу.

#### 3.1.1.1. Шафи біологічної безпеки.

Шафи біологічної безпеки (в країнах Європи використовують назву Microbiological safety cabinets – шафи мікробіологічної безпеки [200]) призначені для того, щоб захистити працівника, лабораторне обладнання і робочі матеріали від впливу аерозолів та бризок, які можуть утворитися під час роботи з матеріалами, що містять інфекційні агенти. Аерозоль утворюється під час будь-якої операції, яка супроводжується передаванням енергії рідині або матеріалу в напіврідкому стані. Наприклад, під час струшування, переливання, перемішування чи крапання рідини на тверду поверхню або в іншу рідину, посіву на агаризовані середовища, інокуляції піпетками клітинних культур у флаконах, використання багатоканальних піпеток для нанесення рідких суспензій інфекційних агентів у лунки планшеток, гомогенізації та переливання за допомогою лійки інфекційних матеріалів, центрифугування інфекційних рідин, а також під час роботи з тваринами. Частинки аерозолу діаметром менш, ніж 5 мкм і краплі діаметром 5-100 мкм невидимі неозброєним оком. Співробітник лабораторії здебільшого не усвідомлює, що такі частинки утворюються і їх можна вдихнути, або що вони можуть контамінувати матеріали на робочій поверхні. Доведено, що ШББ за умови їх правильного використання є дуже ефективним засобом зниження кількості внутрішньолабораторних інфікувань і перехресного зараження культур аерозолями. Крім того, ШББ захищають навколишнє середовище [3], оскільки повітря, яке контактувало з робочими матеріалами, очищується перед тим, як повертається в атмосферу лабораторії чи виводиться за межі приміщення.

За багато років первинна конструкція ШББ зазнала декількох модифікацій, основна з яких – застосування фільтрів тонкої очистки повітря (HEPA-фільтрів, *англ.* high-efficiency particulate air (HEPA) filters) у системі відведення повітря. HEPA-фільтри вловлюють 99,97% частинок розміром 0,3 мкм (розмір часток, що мають найбільшу проникну здатність). Більші і менші за розміром частинки вловлюються ще краще, тому ШББ ефективно затримують мікроорганізми та віруси і з них відводиться чисте повітря. Однак, потрібно пам'ятати, що HEPA-фільтри не вловлюють гази, випари, леткі речовини [19]. Розмір часток, що мають найбільшу проникну здатність, зумовлений тим, що процес фільтрації відбувається завдяки декільком фізичним явищам: інерції, зачеплення, дифузії, електростатичної взаємодії. Варто зазначити, що частинки розміром більші, ніж простір між волокнами фільтру, будуть його забивати, а отже, зменшувати час експлуатації фільтра. Тому контроль чистоти є важливою умовою тривалого використання фільтрів і ШББ.

Наповнювачем у стандартному фільтрі HEPA є пластини з борсилікатних волокон, що оброблені вологостійкою водовідштовхувальною речовиною. Ці пластини гофровані, щоб збільшити загальну робочу поверхню всередині корпусу фільтра, і часто відокремлені рифленими алюмінієвими розділювачами, які перешкоджають злипанню складок під тиском потоку повітря, а також спрямовують повітряний потік. Фільтр вклеюють в корпус з металу або пластику. Якщо необережно поводитися з фільтром (наприклад, кинути чи неправильно зберігати), можна пошкодити наповнювач в місцях склеювання, внаслідок чого фільтр розірветься чи зсунеться, а, отже, почне протікати. Тому потрібно обов'язково перевіряти цілісність фільтра під час першого встановлення ШББ та після будь-якого її переміщення [13].

Інша важлива характеристика ШББ – спрямування HEPA-фільтрованого ламінарного потоку повітря на робочу зону ШББ, що дає змогу захистити

матеріали, які на ній розташовані, від контамінації [3, 13]. Обладнання такого типу розробили у 1964 році на замовлення фармацевтичної компанії, у 1967 перший такий прилад був встановлений в Національному інституті раку (США), а у 1968 році – опубліковано результати випробування «шафи біологічної безпеки з ламінарним потоком» [19].

У лабораторіях використовуються три класи ШББ: I, II і III. Відкриті спереду ШББ I і II класів ефективно захищають як персонал лабораторії, так і навколишнє середовище за умов їх належного використання. Крім того, ШББ класу II забезпечують також захист від зовнішнього забруднення матеріалів (наприклад, культур клітин, мікробіологічних штамів тощо), з якими працюють в шафі. Газонепроникна ШББ класу III забезпечує максимальний захист персоналу і навколишнього середовища від можливого поширення патогенів [3].

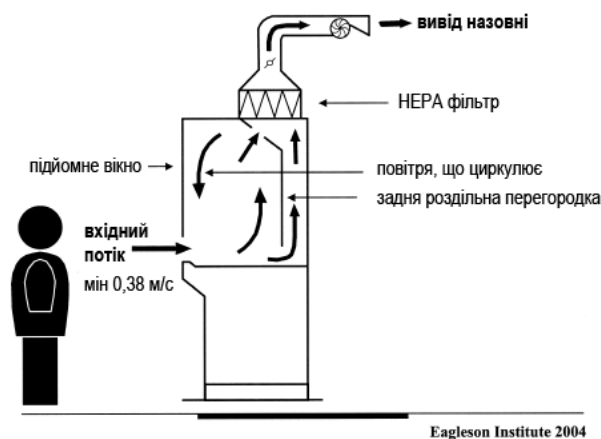
### *ШББ класу I*

Принцип роботи ШББ класу I такий же, як і у хімічних витяжних шаф – повітряні потоки в них спрямовані всередину [13, 19]. Повітря в такі ШББ надходить через відкриту передню частину з мінімальною швидкістю 0,38 м/с, проходить через робочу поверхню і виводиться з шафи через випускний патрубок [3]. Спрямований потік повітря витягує аерозоль, що може утворитися в робочій зоні, в напрямку від працівника у випускний патрубок. Відкрита передня частина дає оператору доступ до робочої поверхні всередині шафи, а спостерігати за роботою він може через скляне вікно, що підіймається. Скло можна повністю підняти, щоб дістати до всіх частин робочої поверхні під час прибирання.

Повітря з шафи виводиться через HEPA-фільтр одним з трьох способів: (а) в приміщення кімнати і потім назовні через вентиляційну систему будівлі; (б) назовні через вентиляційну систему будівлі; або (в) безпосередньо назовні. HEPA-фільтр може встановлюватися у витяжному відсіку ШББ або в витяжній системі будівлі (див. рис. 6). Деякі ШББ класу

I мають вбудований витяжний вентилятор, конструкція інших передбачає витяжний вентилятор у вентиляційній системі будівлі.

ШББ класу I почали використовувати першими і завдяки простоті їх конструкції вони, як і раніше, використовуються у всьому світі. ШББ класу I можна використовувати для роботи з радіонуклідами і леткими хімічними речовинами, якщо повітря з робочої зони виводиться у вентиляційну систему чи назовні будівлі. Однак, через те, що нестерильне повітря потрапляє на робочу поверхню, такі шафи не забезпечують постійний надійний захист продукту [3]. Часто в ШББ класу I встановлюється спеціальне обладнання (наприклад, центрифуги, пристосування для збору культур або малі ферментери) для надійнішого захисту персоналу та навколишнього середовища. Деякі моделі ШББ класу I, наприклад для пересаджування тварин в клітках, сконструйовані у такий спосіб, щоб повітря циркулювало через фільтр HEPA. У такому разі, можливо, потрібно буде частіше замінювати фільтри, оскільки збільшиться навантаження на них і з'являтимуться запахи внаслідок осідання органічних речовин [13].



**Рисунок 6.** Шафа біологічної безпеки клас I [19]

### *ШББ класу II*

З розвитком медико-біологічних наук дедалі більше використовувалися культури клітин й тканин і з'явилася потреба захистити не тільки персонал,



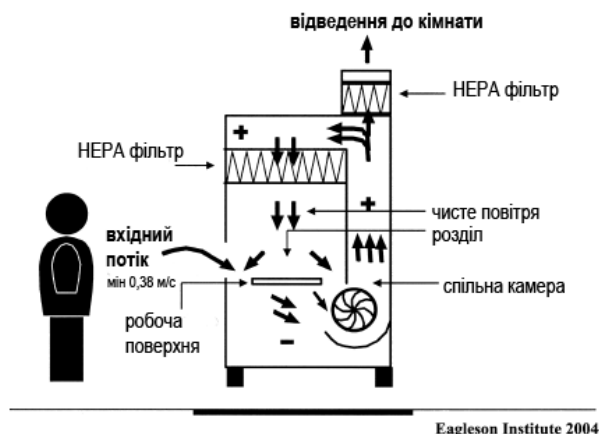
але і матеріали, з якими працюють. Для цього в робочу зону має надходити стерильне повітря – саме так сконструйовані ШББ класу II. Їх можна використовувати для роботи з патогенами 2 і 3 груп ризику; якщо використовувати захисні костюми з надлишковим тиском всередині, то можна працювати із агентами 4 групи ризику [3, 13]. У ШББ класу II також можна готувати нелеткі протипухлинні або хіміотерапевтичні засоби [13].

У «Інструкції з лабораторної біобезпеки», як і в стандарті NSF/ANSI 49-2002 [20], ШББ класу II поділяють на типи А і Б. Європейський стандарт EN 12469:2000 [21] такого поділу не передбачає.

*ШББ клас I тип А1.* У таких ШББ вбудований вентилятор засмоктує повітря з приміщення (подає повітря) через отвір попереду та передню забірну решітку (див. рис. 7). Мінімальна швидкість вхідного потоку повітря на рівні отвору має бути, не менше ніж 0,38 м/с. Втягнуте повітря проходить через вхідний НЕРА-фільтр, після чого він потрапляє вниз на робочу поверхню. Оскільки потік повітря йде вниз, він приблизно на відстані 6 – 18 см (за іншими даними на висоті 5 – 9 см [13]) від робочої поверхні «розділяється» на два потоки, з яких один проходить через передню решітку, а інший – через задню. Будь-які аерозольні частки, що утворилися в робочій зоні, одразу ж захоплюються низхідним потоком повітря і виводяться через передню або задню решітки, забезпечуючи тим самим максимальний захист матеріалів [3]. Повітря через передню та задню решітки потрапляє в повітрязабірник, де тиск повітря знижений, і вкидається в простір між фільтром подачі та вихідним фільтром. У повітропроводі і камері між фільтрами ШББ тиск вищий, ніж у приміщенні [19]. Внаслідок різниці в розмірах фільтрів приблизно 30% повітря проходить через вихідний фільтр НЕРА в приміщення або за його межі, а 70% повертається через вхідний НЕРА-фільтр назад в робочу зону.

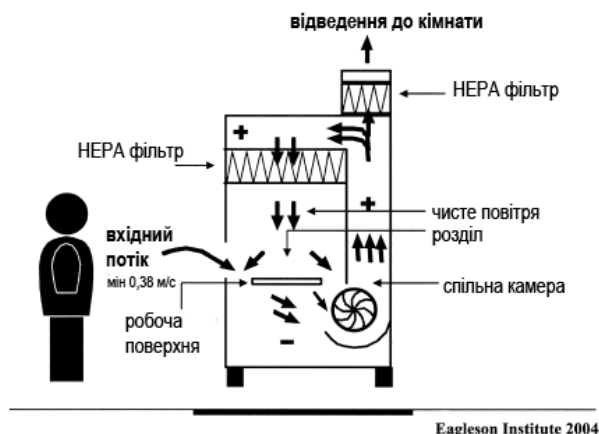
Повітря з ШББ класу ІА1 може повертатися в приміщення або виводитися за межі будівлі через вентиляційну систему. Рециркуляція

повітря в приміщення має переваги: зменшення витрат на опалення або охолодження будинку, оскільки підігрите і/або охоложене повітря не виходить за межі будівлі, та очищення повітря в кімнаті [13, 19]. Крім того, підключення деяких ШББ до витяжної системи дає змогу використовувати їх для роботи з леткими радіонуклідами і токсичними хімікатами [3].



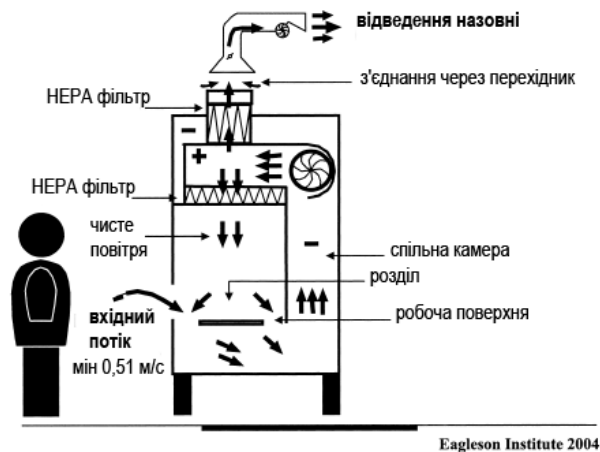
**Рисунок 7.** Шафа біологічної безпеки клас II тип A1 [19]

*ШББ класу II тип A2.* Цей тип ШББ з'явився як вдосконалений варіант ШББ класу 1A1. Швидкість вхідного потоку зросла до 0,50 м/с і тиск у повітропроводах уже негативний відносно тиску в кімнаті. Це було зроблено для того, щоб у разі можливого протікання конструкції шафи, потік повітря спрямувався всередину шафи, а не назовні в кімнату.



**Рисунок 8.** Шафа біологічної безпеки клас II тип A2 з відведенням повітря у кімнату [19]

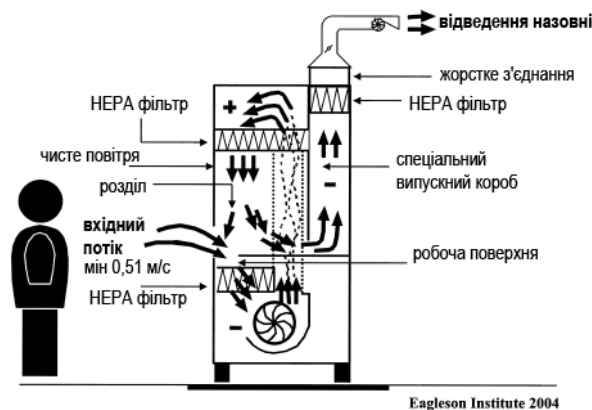
Якщо через повітропровід ШББ клас ПА2 (раніше такий тип ШББ називався В3) приєднати до витяжної системи будівлі, то в шафі можна працювати з незначними кількостями летких токсичних хімічних речовин і мінімальними кількостями радіоактивних матеріалів (див. рис. 8 і 9) [19].



**Рисунок 9.** Шафа біологічної безпеки класу II тип А2 з відведенням повітря у вентиляційну систему будівлі [19]

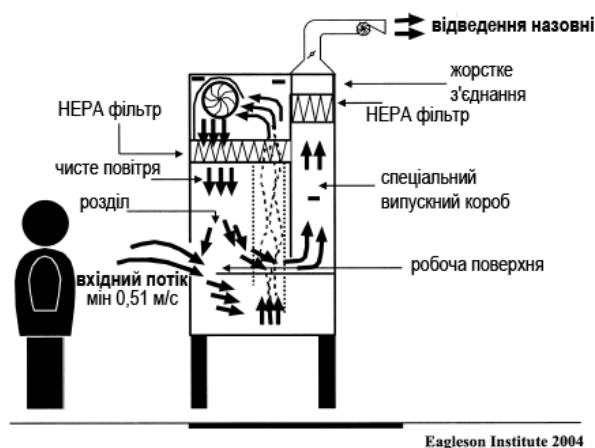
*ШББ класу 2 типу В1.* Під час деяких біомедичних досліджень потрібно захищати працівника не тільки від небезпечного біологічного матеріалу, а й від небезпечних хімічних речовин, наприклад, канцерогенів, які використовуються в роботі. Саме для цього було розроблено ШББ класу ІВ1. Вони походять від розробленого в Національному інституті ракових захворювань США шаф типу 2, який пізніше назвали типом В, і сконструйовані для робіт з надмалими кількостями небезпечних хімічних речовин в біологічних системах *in vitro* [13, 19].

Повітря з приміщення (разом з повітрям, що рециркулює) через ШББ проходить через передню решітку і вхідні фільтри НЕРА, розташовані прямо під робочою поверхнею. Очищене від твердих частинок повітря подається наверх по повітропроводах на бічних стінках камери і потім прямує вниз до робочої зони через пластину протитиску (див. рис. 10). У деяких ШББ встановлено додатковий фільтр НЕРА для усунення твердих частинок, що з'являються внаслідок роботи двигуна вентилятора.



**Рисунок 10.** Шафа біологічної безпеки клас II тип В1 з НЕРА-фільтром безпосередньо під робочою поверхнею [19].

Частина ШББ класу ІІВ1 не оснащені НЕРА-фільтром під робочою поверхнею. У таких ШББ вентилятор зазвичай буде розміщений у верхній частині шафи (див. рис. 11)



**Рисунок 11.** Шафа біологічної безпеки клас II тип В1 без НЕРА-фільтра під робочою поверхнею [19]

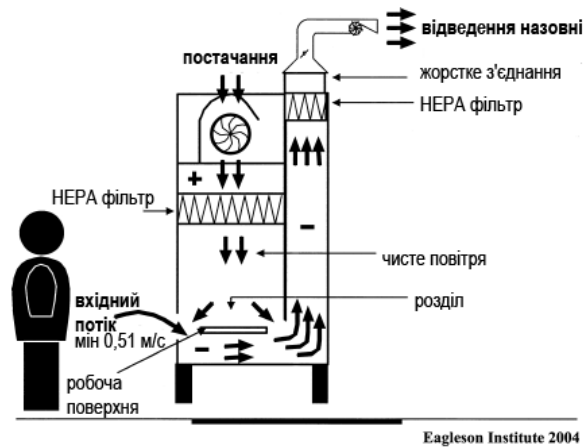
Повітря з приміщення надходить через отвір в передній стінці камери зі швидкістю не менше 0,51 м/с. Як і в ШББ типів А1 і А2, низхідний потік повітря розділяється, не досягаючи робочої поверхні. У ШББ типу В1 приблизно 70% низхідного повітря виходить в задню решітку, проходить через фільтр НЕРА і виводиться з будівлі. Решта 30% повітря проходять через передню решітку. Оскільки в витягну систему потрапляє тільки те

повітря, що проходить через задню решітку, то операції з небезпечними хімічними речовинами, треба проводити в задній частині робочого зони ШББ.

Шафи типу В1 мають бути жорстко з'єднані з витяжною системою, бажано із окремою спеціально відведеною для ШББ, або з відповідним чином сконструйованою витяжною системою будівлі. Вентилятори витяжної системи будівлі мають встановлюватися в кінці витяжного повітропроводу. Оскільки користувач може не помітити несправності витяжної системи будівлі через те, що повітрозабірники шафи будуть продовжувати роботу, необхідно встановити незалежний датчик тиску й тривожну сигналізацію, що попереджуватиме сигналом і відключить вентилятор подавання повітря в ШББ у разі несправності витяжної системи. Якщо все ж нагально потрібно продовжити роботу з ШББ типу В1, витяжний вентилятор будівлі треба підключити до запасного джерела живлення [13, 19].

*ШББ клас II тип В2* – це ШББ з повним відводом повітря, повітря в них не рециркулює. Шафа є одночасно засобом хімічної і біологічної безпеки. Необхідно враховувати, що хімікати, з якими працюють в ШББ, можуть пошкодити матеріал фільтрів, корпус і / або прокладки, внаслідок чого небезпечні речовини можуть просочуватися. Повітрозабірник зверху камери забирає повітря з приміщення або ззовні будівлі, після чого воно проходить через НЕРА-фільтр і потрапляє в робочу зону ШББ. Витяжна система будівлі витягує повітря через передню і задню решітки, додатково захоплюючи деяку кількість повітря з приміщення, щоб підтримувати швидкість вхідного потоку не менше 0,51 м/с. Все повітря, що пройшло через камеру, відводиться, проходячи через фільтр НЕРА (та інші очищувачі повітря, наприклад, вугільний фільтр, якщо того вимагають виконувані роботи) перед тим, як потрапити в зовнішнє середовище. Така шафа витрачає до 34 м<sup>3</sup> кондиціонованого повітря приміщення в хвилину,

тому її використовувати доволі дорого. Підвищений тиск, необхідний для роботи ШББ такого типу, також призводить до додаткових витрат на більш міцні повітроводи та витяжні вентилятори більшої потужності [13].



**Рисунок 12.** Шафа біологічної безпеки клас II тип В2 [19]

### *Шафи класу III*

ШББ класу III забезпечують максимальний захист навколишнього середовища і персоналу та призначені для роботи з високо патогенними збудниками та для проведення небезпечних операцій [13]. Це газонепроникні контейнери з оглядовим вікном, що не відкривається. Вносити матеріали в камеру можна або через мокрий шлюз знизу камери, або через двох дверний шлюз (наприклад, автоклав), який можна знезаразити після використання. Матеріали з робочої камери ШББ класу III витягуються в зворотному порядку через ті ж шлюзи. У ШББ класу III повітря, що подається в робочу зону і виводиться з неї, проходить через фільтри HEPA. Повітря перед тим, як потрапити назовні, повинно проходити через два фільтри HEPA або фільтр HEPA і спалювач. Потік повітря створюється незалежною витяжною системою, яка підтримує в камері тиск нижчий атмосферного (не менше 127 Па) [3].

До отворів в оглядовому вікні герметично приєднані довгі рукавички з дуже міцної гуми, в яких працюють з матеріалом усередині камери. Незважаючи на те, що ці рукавички обмежують рухи, вони виключають

прямий контакт з небезпечними матеріалами. Це компромісне рішення забезпечує максимальний захист. Ламінарних потоків повітря в камерах класу III нема.

Декілька ШББ класу III можна об'єднати в «лінію» для того, щоб збільшити робочий простір. Такі лінії роблять на замовлення разом з обладнанням, яке буде встановлюватися в ШББ (холодильники, підйомники, полиці для кліток з дрібними тваринами, мікроскопи, центрифуги, інкубатори і т.д.) [13].

У таблиці нижче показано основні відмінності між ШББ різних класів.

**Таблиця 3.** Різниця між ШББ різних класів [3]

Тип ШББ	Швидкість вхідного потоку, м/с	Потік повітря, що (%)		Відвід повітря
		рециркулює	відводиться з ШББ	
Клас I	0,38	0	100	Жорсткий повітропровід
Клас II A1	0,38 – 0,51	70	30	У кімнату або через перехідник у вентиляційну систему
Клас II A2	0,51	70	30	У кімнату або через перехідник у вентиляційну систему
Клас II B1	0,51	30	70	Жорсткий повітропровід
Клас II B2	0,51	0	100	Жорсткий повітропровід
Клас III	НЗ	0	100	Жорсткий повітропровід

Як уже зазначалося вище, стандарт EN12469:2000 не розділяє ШББ класу II на типи. У таблиці 4 наведено показники швидкості потоків повітря ШББ, які необхідні для забезпечення захисту згідно EN12469:2000 [21].

**Таблиця 4.** Швидкості повітряних потоків у різних класах ШББ

Клас ШББ	Середнє значення швидкості вхідного потоку для захисту користувача	Середнє значення швидкості низхідного потоку для захисту продукту
Клас I	> 0,7 м/с – 1 м/с	Не застосовне
Клас II	≥ 0,4 м/с	0,25 – 0,50 м/с
Клас III	≥ 0,7 м/с, якщо одна рукавичка від'єднала	Не застосовне

*Вибір шафи біологічної безпеки*

ШББ слід вибирати залежно від виду необхідного захисту: захист препарату, захист персоналу від мікроорганізмів різних груп ризику, захист персоналу від радіонуклідів і летких токсичних хімікатів або від поєднання цих небезпек. У таблиці 6 показано, які ШББ рекомендуються для кожного виду захисту [3, 13, 19].

**Таблиця 5.** Захист, який забезпечують різні типи ШББ

Захист Тип ШББ	Захист користувача	Захист продукту	Захист навколишнього середовища	Використання великих об'ємів хімічних речовин	Використання малих об'ємів хімічних речовин
Клас I	х		х		
Клас II тип A2	х	х	х		
Клас II тип B2	х	х	х		х
Клас III	х	х	х		
Робоче місце з очищеним повітрям		х			
Витяжна шафа	х			х	х

З леткими токсичними хімікатами не можна працювати в тих ШББ, які повертають повітря в приміщення, тобто в ШББ класу I, що не під'єднанні до вентиляційної систем, або в шафах ПА1 або ПА2. ШББ ПВ1 придатні для роботи з невеликими кількостями летких хімікатів і радіоактивних матеріалів. Для роботи зі значними кількостями таких матеріалів необхідна



ШББ ПВ2, яка також називається шафою з повною заміною відпрацьованого повітря [3, 13, 19].

### Використання шаф біологічної безпеки в лабораторії

#### *Розміщення ШББ*

Швидкість потоку повітря, що надходить через відкриту передню частину в ШББ, становить приблизно 0,45 – 0,51 м/с. За такої швидкості потік повітря нестабільний і його легко порушити іншими потоками повітря, що створюються людьми, які проходять близько біля ШББ, відчиненими вікнами, заслінками регулювання подачі повітря, а також дверима, що відчиняються чи зачиняються. В ідеалі, ШББ потрібно встановити в місці, віддаленому від проходів і різних повітряних потоків. Якщо можливо, треба залишити по 30 см вільного простору ззаду і з боків шафи, щоб полегшити технічне обслуговування. Простір 30-35 см над шафою може знадобитися для точного вимірювання швидкості проходження повітря через випускний фільтр і для заміни цього фільтра [3]. Перед ШББ має бути 1 м вільного простору. Робочий стіл перед ШББ має стояти не ближче ніж за 1,5 м. Від переднього краю ШББ до протилежної стіни має бути не менше 2 м. Якщо дві ШББ розташовані одна навпроти одної, то між ними має бути не менше 2 м; якщо вздовж однієї стіни чи перпендикулярних стін – 1 м. ШББ потрібно встановлювати не ближче ніж за 1,5 м до дверей, що розташовані в перпендикулярній стіні, і не ближче 1 м до дверей, що розташовані в тій самій стіні, вздовж якої стоїть ШББ [201, 22]. Виробники в інструкціях для користувачів вказують, як правильно встановити конкретну ШББ. Потрібно обов'язково дотримуватися таких інструкцій.

#### *Правила роботи в ШББ*

Неправильна робота в ШББ може сильно зменшити ефективність її захисту. Користувачам потрібно ретельно стежити за тим, щоб повітря

постійно і без перешкод надходило через відкриту передню частину шафи під час рухів всередину шафи і з неї. Руки треба пересувати повільно і перпендикулярно площині відкритої передньої частини. Маніпуляції з матеріалами можна починати тільки через хвилину після того, як руки розташували всередині шафи, щоб порушений потік повітря «заспокоївся» і почав обтікати кисті рук та передпліччя. Кількість рухів в шафу і з неї через відкриту передню частину також треба мінімізувати, помістивши всі необхідні предмети в ШББ до початку роботи [3].

Якщо руки користувача лежать на передній решітці, частково затуляючи її, потік кімнатного повітря з частинками пилу може потрапляти безпосередньо в робочу зону, а не рухатися вниз крізь передню решітку. Щоб уникнути цього, треба злегка підняти руки. Передню решітку не можна затуляти серветками, записами, використаними пластиковими упаковками, пристроями для піпетування і т.д. Всі маніпуляції треба проводити на робочій поверхні не ближче 10 см від передньої решітки. Якщо під робочою поверхнею встановлений злив, його необхідно закрити перед початком робіт в ШББ [13].

Для більш безпечної роботи в ШББ можна скористатися абсорбуючими рушником чи серветкою із пластиковою підкладкою, якими накривають робочу поверхню, але не отвори передньої і задньої решіток. Використання таких абсорбуючих матеріалів полегшує регулярне прибирання і зменшує утворення бризок і аерозолів під час розливів рідин у ШББ. Після закінчення роботи рушники можна згорнути і покласти в пакет для автоклавування або іншу відповідну ємність [13, 19].

Всередині ШББ відкрите полум'я не застосовується. Під час роботи на відкритому столі висхідний потік повітря, що утворюється внаслідок обпалення горловини колби або пробірки з культурами, перешкоджає попаданню мікроорганізмів всередину. Однак в ШББ відкрите полум'я створює турбулентний потік, що порушує проходження очищеного НЕРА-

фільтром повітря в робочу зону. Крім того, використання летких речовин (наприклад, спирту), коли горить пальник, може спричинювати загоряння. У крайньому разі в ШББ можна застосовувати мікропальники, що подають полум'я за потреби. Їх використання зводить до мінімуму прогрів робочої зони, а отже і порушення потоку повітря всередині ШББ. Після закінчення роботи мікропальник треба відключити. Для знезараження петель для посіву та голок також застосовуються маленькі електричні закриті нагрівачі, які безпечніші, ніж відкрите полум'я. Якщо є можливість, завжди слід використовувати одноразові стерильні петлі [3, 13, 19].

### *Розміщення матеріалів в ШББ*

Поверхню предметів перед тим, як розмістити їх в ШББ, треба обробити 70% спиртом. Всі матеріали розташувати якомога глибше всередині шафи, але не блокувати задню решітку. Устаткування, яке утворює аерозоль (міксери, центрифуги і т.д.), треба ставити в задній частині ШББ. Об'ємні предмети, такі як мішки для автоклавів, ємності для відпрацьованих піпеток та зливу матеріалу, треба розташовувати з одного боку всередині боксу [3]. Оскільки доведено, що горизонтально розпилені спори захоплюються низхідним потоком повітря і не переміщуються більш ніж на 22 см, то чисті матеріали треба розташовувати на відстані 30 см від місця, де утворюються аерозолі всередині ШББ під час роботи. Матеріали та інструменти потрібно розташовувати в камері у такий спосіб, щоб обмежити кількість переміщень «брудних» предметів над «чистими» [19]. Працювати на робочій поверхні треба в напрямку від чистої зони до контамінованої. Мішки для автоклавів і піддони для автоклавування використаних піпеток не можна ставити за межами боксу.

Можна вжити додаткових заходів, щоб знизити ймовірність перехресного забруднення під час роботи в ШББ. Зокрема, не тримати відкриті пробірки і пляшки у вертикальному положенні. Потрібно прикривати кришками відкриті стерильні поверхні чашок Петрі, щоб

зменшити прямий контакт із низхідним повітрям. Кришки пробірок і пляшок / флаконів не треба класти на рушники. Всі контейнери слід закривати якомога швидше [3, 13].

### *Експлуатація та обслуговування*

Конструкція ШББ дає змогу використовувати їх протягом 24 годин на добу. Вважається, що постійно увімкнуті шафи допомагають знизити кількість пилу і частинок матеріалів у лабораторії. ШББ класу ПА1 і ПА2, з яких повітря відводиться в приміщення або які під'єднанні до вентиляції через перехідник, після роботи можна вимикати. Інші види, такі як ШББ класів ПВ1 і ПВ2, які під'єднані герметично до вентиляційної системи, мають постійно отримувати повітря, щоб підтримувати повітряний баланс в приміщенні.

Шафу треба вмикати, як мінімум, за 5 хвилин до початку роботи, а після закінчення роботи необхідно залишити її працювати також впродовж 5 хвилин для «очищення», тобто видалення контамінованого повітря, що міститься всередині ШББ.

Про будь-якої несправності ШББ треба повідомляти уповноваженим особам і роботу в ній можна продовжувати тільки після усунення несправності. Тільки кваліфікований персонал може ремонтувати ШББ [13].

Лампи ультрафіолетового світла не потрібні в ШББ. Якщо ж вони використовуються, то їх треба щотижня очищати від пилу, який може знижувати бактерицидну ефективність ультрафіолетового випромінювання. Під час повторної сертифікації ШББ потрібно перевірити інтенсивність ультрафіолетового випромінювання і забезпечити її відповідність нормам. УФ-лампи не можна вимикати, коли в приміщенні хто-небудь перебуває, щоб захистити очі і шкіру від випадкового впливу

випромінювання [3]. Однак, скло підйомних вікон сучасних ШББ зазвичай оснащені захистом від УФ-випромінювання.

### *Розливи*

Настанови з біобезпеки вимагають розробити інструкції з ліквідації розливів в ШББ. Співробітники, які працюють в ШББ, мають з нею ознайомитися та засвоїти її. Якщо біологічно небезпечний матеріал розлився в ШББ, треба негайно почати знезараження в шафі, що працює. Для цього використовують ефективний дезінфікуючий засіб так, щоб мінімізувати утворення аерозолів. Всі матеріали, що контактували з розливою речовиною, потрібно продезінфікувати або проавтоклавувати [3].

Згідно «Біобезпеки в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях» невелику кількість матеріалу, що розлився всередині ШББ можна одразу прибрати, згорнувши забруднену абсорбуючу серветку та помістивши її в автоклавний пакет або контейнер. Бризки на предметах в шафі, як і на внутрішній поверхні камери, треба негайно видаляти рушником, змоченим відповідним знезаражувальним засобом. Після знезараження робочої поверхні і перед розміщенням абсорбуючої серветки в шафі потрібно міняти рукавички. Після кожної заміни або зняття рукавичок необхідно мити руки [13]. Якщо в ШББ працюють з дуже небезпечним матеріалом, то користувачу треба одягати дві пари рукавичок і знезаражувати нижню пару щоразу після знімання верхньої пари.

У разі великого розливу рідина може потрапити під передню або задню решітку і тоді потрібно вжити додаткових заходів, зокрема забрати з шафи, всі предмети попередньо їх знезаразивши. Якщо ШББ обладнана зливом під робочою поверхнею, переконайтеся, що він закритий. Після можна залити знезаражувальним засобом робочу поверхню і поверхню під робочою зоною через решітки. Вважається, що двадцять-тридцять хвилин зазвичай досить для знезараження, але його тривалість залежить від

збудника, з яким працювали, та використовуваного дезінфектанта (потрібно дотримуватися інструкцій виробника). Розлита рідина і дезінфектант витираються з поверхні паперовими рушниками, які потім складають в пакети для автоклавування. Якщо на нижній поверхні ШББ є стік, то до нього через перехідник приєднується шланг достатньої довжини, щоб була можливість занурити інший кінець шлангу у дезінфікуючий розчин в ємності, в яку збирають розливу рідину. У такий спосіб зменшується утворення аерозолів. Після цього поверхню ШББ потрібно промити водою і від'єднати шланг [13].

### *Сертифікація*

Для того, щоб упевнитися, що ШББ непошкоджена і функціонує правильно, її потрібно сертифікувати відповідно до міжнародних стандартів після встановлення у приміщенні, а потім щорічно. Позачергова сертифікація ШББ проводиться після її ремонту чи переміщення. Під час сертифікації перевіряють цілісність шафи, герметичність монтування НЕРА-фільтрів, швидкість низхідного потоку, швидкість в передній частині ШББ (швидкість вхідного потоку), показники негативного тиску / вентиляції, потік повітря за допомогою диму (візуалізація потоку), а також сигналізацію та з'єднання. Також можна перевірити електроізоляцію, інтенсивність освітлення, інтенсивність ультрафіолетового світла, рівні шуму і вібрації. Всі ці тести і перевірки мають проводити кваліфіковані фахівці [3, 13].

### *Прибирання та дезінфекція*

Всі предмети всередині ШББ, включно з обладнанням, потрібно забрати з шафи, попередньо знезаразивши, оскільки залишки поживного середовища на них сприяють розмноженню мікроорганізмів. Внутрішні поверхні ШББ необхідно знезаражувати перед кожним використанням. Робочу поверхню і стінки треба протирати дезінфікуючим засобом, що вбиває всі мікроорганізми, які можуть залишитися всередині боксу. У кінці

робочого дня потрібно остаточно знезаразити робочу поверхню, стінки і внутрішні поверхні скла за допомогою хлорвмісного деззасобу чи 70% розчину спирту, якщо вони ефективні проти мікроорганізмів, з якими працювали впродовж дня. Якщо для знезараження використовували хлорвмісний деззасіб, то його потрібно ретельно змити стерильною водою. Як уже згадувалося, ШББ рекомендують залишати увімкнутою. Якщо ж шафу потрібно вимкнути, то після знезараження перед вимкненням вона має попрацювати ще 5 хвилин, щоб повітря в робочій зоні очистилося [3, 13].

### *Деконтамінація*

Всю ШББ (робочу зону, повітропроводи, камери між HEPA-фільтрами, HEPA-фільтри тощо) треба повністю деконтаминувати перед заміною фільтрів і перед будь-яким переміщенням чи ремонтом. Найчастіше для цього використовують фумігацію (знезараження газоподібною речовиною) формальдегідом, хоча останнім часом використовують пару перекису гідрогену чи діоксиду хлору [13]. Лише навчений персонал має деконтаминувати ШББ [3, 13]. Процедура фумігації формальдегідом описана в стандартах NSF 49 та EN 12469:2000 [20], крім того, багато виробників ШББ в інструкціях для користувачів докладно описують послідовність дій для визначеної ШББ.

#### 3.1.1.2. Інші первинні бар'єри

Іншими прикладами первинних бар'єрів, що захищають від аерозолів, можуть бути екрани з плівки, захисні ємності для центрифуг, герметичні контейнери для переміщення матеріалів в межах лабораторії тощо.

#### *Захисні ізолятори з негативним тиском, виготовлені з плівки*

Захисні ізолятори з негативним тиском, виготовлені з плівки – це автономні пристрої первинної ізоляції, які забезпечують максимальний захист від небезпечних біологічних матеріалів. Їх можна встановлювати на

мобільній підставці. Робочий простір повністю закривається прозорою поліхлорвініловою (ПХВ) плівкою, закріпленою на металевій рамі. Такий ізолятор тримається того, що тиск усередині боксу нижчий ніж атмосферний. Повітря, що подається в ізолятор проходить через один НЕРА-фільтр, а відпрацьоване повітря проходить через два НЕРА-фільтри. Отже, не потрібно спеціально відводити відпрацьоване повітря за межі приміщення. Такий ізолятор можна пристосувати до інкубатора, мікроскопу та іншого лабораторного обладнання, наприклад, до центрифуг, кліток для тварин, плиток і т.д. Матеріал вводиться під плівку і витягується з-під неї через прості дверцята. Маніпуляції виконуються в рукавниках і одноразових рукавичках. Для контролю тиску всередині ізолятора за плівкою встановлюється манометр.

Такі ізолятори найчастіше використовуються для роботи з небезпечними мікроорганізмами (групи ризику 3 або 4) в польових умовах, де немає можливості встановити традиційні шафи біологічної безпеки [3].

#### *Засоби для піпетування*

Піпетувати потрібно лише за допомогою спеціальних засобів. Піпетування ротом категорично заборонено, оскільки під час всмоктування небезпечні речовини легко можуть потрапити у ротову порожнину, а потім – у травний тракт. Саме у такий спосіб інфікувалися багато співробітників лабораторій. Крім того, кінець піпетки можна контамінувати, якщо за нього триматися чи перекривати його забрудненим пальцем під час крапання – у цьому разі під час всмоктування патогени також потраплять до рота, навіть якщо рідина не потрапила. А от вдихнути аерозолі, що утворюються в цей час, менш ймовірно.

Ватна пробка, яку вставляють у піпетку, – ненадійний мікробний фільтр за умов негативного або позитивного тиску, адже частинки можуть проходити крізь неї. Якщо пробка щільна, оператор сильніше відсмоктуватиме рідину, що може призвести до аспірації і пробки, і



аерозолі, і навіть рідини. Тому для запобігання проковтування рідин під час піпетування використовують різні технічні засоби.

Під час падіння краплі з кінчика піпетки на робочу поверхню, перемішування культур за допомогою почергового всмоктування і продування, а також видування останньої краплі з піпетки можуть утворюватися аерозолі. Щоб уникнути вдихання аерозолів, що неминуче виникають під час піпетування, потрібно працювати в шафі біологічної безпеки.

Засоби піпетування потрібно правильно вибирати. Їхня конструкція і їх використання не мають створювати додаткових небезпек, а вони самі мають легко митися і стерилізуватися. Під час роботи з мікроорганізмами і культурами клітин треба користуватися занурюваними (антиаерозольними) піпетками. Не можна використовувати піпетки з надламаним чи надщербленим всмоктувальним кінцем, оскільки вони не забезпечують герметичність і з них можуть падати краплі [3, 19].

### *Центрифуги*

Використання центрифуг може спричинити утворення аерозолів на різних етапах, наприклад, під час наповнення центрифужних пробірок чи під час зливання супернатанту. Тому, щоб захистити персонал в деяких випадках необхідно виконувати ці процедури в ШББ. Якщо під час центрифугування розбивається ємність з рідиною, кількість аерозолію може різко збільшитися.

Тому так звані безпечні контейнери для центрифугування є важливим способом запобігання поширенню аерозолів під час центрифугування. Є багато видів таких контейнерів: від герметичних пробірок і великих чаш, що закручуються і в які ставлять пробірки, до герметичних роторів. Через дуже екстремальні умови процедури саме якість герметизації є дуже важливою.

Треба обов'язково розглянути можливість великої аварії під час центрифугування інфекційних агентів, зокрема вибух ротору та вжити заходів для її запобігання: завжди дотримуватися інструкцій виробника і ніколи не перевищувати проектних параметрів центрифуги. Профілактичне обслуговування центрифуг повинно бути частиною загальної програми лабораторної безпеки. Щоб забезпечити додатковий захист персоналу і навколишнього середовища під час робіт з великими об'ємами або титрами інфекційних агентів інколи потрібно розмістити центрифугу в спеціально розроблене вентиляційне обладнання, наприклад, в ШББ класу I. Виробники ШББ класу ПА або ПВЗ можуть їх модифікувати під розмір центрифуг. ШББ захистить користувача від аерозолів, які можуть бути утворитися і, можливо, поширитися за межі центрифуги [19].

Центрифуги потрібно розмішувати так, щоб ними було зручно користуватися. Ємності з матеріалами перед центрифугуванням потрібно врівноважувати попарно водою чи спиртами (70% пропанол). Не можна перевищувати максимальний рівень рідини у пробірці, що визначений виробником.

*Гомогенізатори, блендери, шейкери, міксери і ультразвукові подрібнювачі (сонікатори)*

Блендери і схоже на них обладнання для перемішування чи подрібнення, наприклад, гомогенізатори, продукують аерозолі як під час роботи приладів, так і під відкривання кришок, якими вони закриваються [19]. Тому в лабораторії треба використовувати тільки спеціальне обладнання, яке часто має герметичні кришки, придатні для автоклавування [3, 19]. Їхня конструкція мінімізує утворення аерозолів або запобігає їх поширенню. Наприклад, зараз широко використовують лопаткові гомогенізатори типу «стомакер» для роботи з великими і малими об'ємами матеріалу. Однак потрібно пам'ятати, що наповнювати чаші

блендерів, гомогенізаторів, навіть якщо вони герметично закриваються, потрібно в ШББ [3, 19].

Сонікатори також можуть генерувати аерозолі. Працювати з ними потрібно або в шафах біологічної безпеки, або накривати їх екранами під час використання. Після завершенні треба знезаразити захисні екрани і зовнішні поверхні сонікатору [3].

#### *Контейнери для транспортування*

Закриті системи для транспортування, виготовлені з полікарбонату також є первинними бар'єрами, призначеними для гарантування безпечного та ефективного транспортування пробірок і зразків, що містять потенційно небезпечний / інфікований матеріал. Такі комерційно доступні контейнери оснащені затискачами з полісульфону, які герметично закривають їх [19].

#### *Одноразові петлі для пересіву*

Перевага одноразових петель – їх не треба прожарювати, а отже можна використовувати в шафах біологічної безпеки, де пальники або мікроспалювачі можуть порушити потік повітря. Після роботи такі петлі потрібно занурити в дезінфікувальний засіб і утилізувати разом з контамінованими відходами [3].

#### *Мікроспалювачі*

Газові або електричні мікроспалювачі мають екрани, зроблені з борсилікатного скла або кераміки, які мінімізують утворення і поширення бризок інфікованого матеріалу під час прожарювання петель. Однак мікроспалювачі можуть порушувати потік повітря і тому в шафах біологічної безпеки їх треба розміщувати в задній частині робочої поверхні [3].

## *Ферментери*

Правильно спроектовані ферментери – від простого шейкера для колб до великих баків із нержавіючої сталі – можуть відповідати вимогам для первинних бар'єрів. Для того, щоб шейкер для колб перетворився на первинний бар'єр, потрібно дуже щільно закрити колбу пробкою, що може бути з бавовни, пластикової піни, поліфторвуглецевого волокна, газопроникної плівки або мікробіологічного фільтра. Це буде зменшувати кількість аерозолу, що виходитиме з колби, або взагалі перешкоджати його поширенню.

Великі ферментери можна кваліфікувати як первинні бар'єри, якщо вони мають декілька точок захисту в найбільш уразливих місця, через які може витікати матеріал. Однією з найбільш важливих таких точок є вал ротора мішалки. Якщо вал розташований в нижній частині, то можлива розгерметизація в місцях ущільнення. Щоб запобігти цьому у багатьох ферментерах використовують подвійні механічні ущільнення або монтують мішалку зверху. Інше слабке місце – це гази, що відводяться з ферментеру і порти для відбору проб. Гази, що виходять, можна пропустити через НЕРА-фільтри або спалювач, а в порти для відбору проб можна встановити закриту систему, щоб уникнути утворення аерозолів [19].

### 3.1.1.3. Вторинні бар'єри

Архітектурні (інженерні) особливості лабораторних приміщень мають величезну вагу у захисті співробітників, людей за межами лабораторії та навколишнього середовища від інфекційних збудників, які можуть випадково поширитися з лабораторії. Підбір вторинних бар'єрів залежить від шляхів передавання конкретних збудників. Наприклад, у приміщеннях з BSL-1 і BSL-2 персонал здебільшого може інфікуватися під час лабораторних робіт внаслідок безпосереднього контакту зі збудником або через забруднене робоче середовище. У таких випадках вторинні бар'єри –

це відділення робочої зони лабораторії від зони вільного доступу, використання пристроїв для знезараження (наприклад, автоклава) і пристроїв для миття рук. Якщо є можливість зараження через інфекційний аерозоль, то для запобігання поширення інфекційного збудника використовуються більш складні з точки зору конструкції вторинні бар'єри, зокрема спеціальні вентиляційні системи для створення спрямованого потоку повітря, системи очищення та знезараження повітря, виокремлення зони обмеженого доступу, повітряні шлюзи на вході в робочу зону або використання окремих будівель чи модулів для ізоляції лабораторії [13].

В «Інструкції з лабораторної безпеки» зазначено, що під час проектування і оснащення лабораторії BSL-2, що призначені для визначеного типу робіт, особливу увагу треба приділяти проблемам, які зумовлені умовами роботи, а саме:

- а) утворенню аерозолів
- б) роботі з великими об'ємами і/або високими концентраціями мікроорганізмів
- в) тісняву та надто велика кількість обладнання в лабораторії
- г) проникнення гризунів та членистоногих
- д) вхід в лабораторію осіб, що не мають дозволу
- е) послідовність робочого процесу: використання конкретних зразків та реагентів

Там само зазначені вимоги до проектування лабораторій різного рівня захисту. Конструктивні особливості лабораторій BSL-2 наведені у розділі 3.

### **3.1.2. Належні практики та процедури**

Однак, «Інструкція з лабораторно біобезпеки» стверджує, що найголовнішим елементом запобігання поширенню патогенів є суворе виконання стандартних мікробіологічних практичних прийомів і методик,

які можна вважати прикладом категорії «практики та процедури». Зокрема: «Належна практика проведення досліджень є основою лабораторної безпеки, спеціальне лабораторне обладнання може розглядатися лише як додатковий засіб виконання відповідних процедур, але замінити їх воно ніколи не зможе» [3].

У «Біобезпеці в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях» також зазначено, що строге виконання стандартних мікробіологічних прийомів і методик є «головним елементом запобігання поширенню» [13]. Персонал, що працює з інфекційними збудниками або потенційно інфекційними матеріалами, має добре опанувати практичні прийоми і методики, потрібними для безпечної роботи з таким матеріалом, а керівництво установи і лабораторії відповідає за організацію та проведення необхідного навчання персоналу. У випадках, коли стандартних лабораторних практичних прийомів недостатньо для контролю небезпеки, пов'язаної з конкретним збудником або лабораторною процедурою, можуть знадобитися додаткові заходи [13].

#### 3.1.2.1 Стандартні належні практики та процедури

У «Інструкції з біобезпеки в лабораторних умовах» наведено вичерпні та докладні рекомендації для базових лабораторій 1-го і 2-го рівня біологічної безпеки, оскільки вони є основою для роботи всіх лабораторій. Загальні правила для ізольованих лабораторій 3-го рівня біологічної безпеки та максимально ізольованих лабораторій 4-го рівня біологічної безпеки – це правила для 2-го рівня, модифіковані і доповнені для роботи з більш небезпечними мікроорганізмами [3].

Ці рекомендації представлені як кодекс практики, що є переліком життєво важливих лабораторних процедур і практик та основою належних практик мікробіологічних досліджень [3] (в контексті біологічних досліджень з використанням потенційно небезпечного біологічного матеріалу – належні практики біологічних досліджень). Біологічні

лабораторії можуть використовувати наведений кодекс під час розроблення власних інструкцій, що гарантуватимуть безпеку діяльності закладу, і які вимагаються рекомендаціями ВООЗ. У таких інструкціях з безпеки або інструкціях про діяльність визначають як відомі і можливі небезпеки, так і практики й процедури, що мають усунути чи звести мінімізувати визначені небезпеки. Найважливіші концепції належних практик перераховані нижче.

*Доступ.*

- 1) На дверях кімнат, де проводяться роботи з мікроорганізмами 2 групи ризику, потенційно інфікованим чи небезпечним біологічним матеріалом, потрібно розмістити міжнародний знак біологічної небезпеки.



**Рисунок 13.** Знак на дверях лабораторії, що попереджає про небезпеку

- 2) У робочу зону лабораторії допускаються лише ті особи, які мають відповідний дозвіл.
- 3) Двері лабораторії потрібно тримати зачиненими.
- 4) У робочих зонах лабораторії не повинно бути дітей.
- 5) Тільки визначений персонал має допуск до віварію.

- б) Тварин, яких безпосередньо не використовують у роботі, треба утримувати поза лабораторією.

### *Безпека персоналу*

- 1) У лабораторії завжди треба носити спеціальний одяг або халати.
- 2) Під час всіх процедур, коли можливі контакти з кров'ю, біологічними рідинами та іншими потенційно інфекційними матеріалами або зараженими тваринами, треба одягати спеціальні рукавички. Після використання рукавички потрібно асептично знімати і мити руки.
- 3) Працівники лабораторії мають мити руки щоразу після маніпуляцій з інфікованими чи потенційно інфікованими матеріалами і тваринами, а також наприкінці робочого дня.
- 4) Треба одягати захисні окуляри, щитки чи інші захисні засоби, коли потрібно захистити очі і обличчя від бризок інфікованого матеріалу та джерел ультрафіолетового випромінювання.
- 5) Захисний одяг заборонено носити поза лабораторними приміщеннями, зокрема в їдальнях, буфетах, службових приміщеннях, бібліотеках, кімнатах персоналу і туалетах.
- б) У лабораторіях не можна носити взуття з відкритими носками.
- 7) Не можна їсти, пити, курити, користуватися косметикою і одягати / знімати контактні лінзи в лабораторній зоні.
- 8) У робочій зоні лабораторії заборонено зберігати їжу і напої.
- 9) Не можна зберігати захисний лабораторний одяг в тому самому місці, що і особистий.

### *Процедури*

- 1) Піпетування ротом строго заборонено.
- 2) Не можна брати до рота Будь-які матеріали чи облизувати наклейки.
- 3) Всі процедури треба проводити так, щоб мінімізувати можливість утворення аерозолів.



- 4) Потрібно обережно користуватися шприцами і голками. Їх не можна використовувати для піпетування чи для будь-чого, окрім парентеральних ін'єкцій і аспірації рідин у лабораторних тварин.
- 5) Про всі випадки розлиття інфекційного матеріалу, аварії, підозри про можливий контакт з інфекційними матеріалами треба негайно повідомляти керівництво лабораторії. Потрібно письмово звітувати про такі події.
- 6) Потрібно розробити письмову процедуру ліквідації розливів інфекційного матеріалу та дотримуватися її.
- 7) Інфіковані рідини потрібно знезаражувати (хімічним або фізичним способом) перед тим, як злити в каналізацію. Залежно від оцінювання ризику, проведеного для використовуваних патогенних агентів, може знадобитися відповідна система очистки стічних вод.
- 8) Письмові документи, які будуть виносити за межі лабораторії, мають бути захищені від контамінування на території самої лабораторії.

#### *Робочі зони лабораторії*

- 1) У лабораторних приміщеннях треба підтримувати лад і чистоту, в них не повинно бути матеріалів, що не стосуються роботи.
- 2) Робочі поверхні треба дезінфікувати після забруднення потенційно небезпечним матеріалом та в кінці робочого дня.
- 3) Всі контаміновані матеріали, проби і культури потрібно знезаражувати перед знищенням або повторним використанням.
- 4) Пакування і транспортування зразків потрібно проводити відповідно до чинних національних і / або міжнародних норм і правил.
- 5) Вікна, що відкриваються, потрібно обладнати протимоскітними сітками.

#### *Гарантування безпеки*

- 1) Завідувач лабораторією (особа, яка безпосередню відповідає за лабораторію) відповідає за розроблення і прийняття плану управління біобезпекою або інструкції з безпеки чи діяльності.

- 2) Керівник лабораторії (який підзвітний завідувачу лабораторії) відповідає за навчання персоналу з техніки безпеки.
- 3) Персонал потрібно поінформувати про особливості роботи з небезпечним матеріалом, а також зобов'язати ознайомитися з відповідними інструкціями із застосування стандартних правил техніки безпеки робіт та дотримуватися їх. Керівництво лабораторії повинно впевнитися, що персонал розуміє ці інструкції. У лабораторії має бути примірник інструкції із застосування стандартних правил і техніки безпеки.
- 4) Треба розробити програми для захисту від членистоногих і гризунів.
- 5) Якщо потрібно, забезпечити відповідний медичний нагляд і лікування, а також вести медичну документацію.

Нижче наведено спеціальні правила роботи в лабораторіях

#### 3.1.2.2. Безпечна робота зі зразками в лабораторії

Неправильний забір, транспортування зразків та поводження з ними можуть призвести до інфікування персоналу.

Контейнери для зразків (наприклад, пробірки) можуть бути скляними, але бажано, щоб вони були пластмасовими. Вони мають бути міцними і не протікати за умови правильного встановлення кришки. На зовнішній поверхні контейнера не має бути залишків біологічних матеріалів. Контейнер потрібно позначити належним чином. Не можна обгортати контейнери супровідними документами (якщо такі є); їх треба помістити в окремі, бажано водонепроникні конверти.

Транспортувати такі контейнери в межах установи потрібно у вторинних контейнерах, бажано герметичних для того, щоб запобігти випадковому протіканню чи розливу. Такі контейнери можуть бути металічними чи пластиковими, але вони мають придатні для автоклавування та стійкими до дії деззасобів. Їх потрібно регулярно знезаражувати [3].

### 3.1.2.3. Використання піпеток та інших засобів піпетування

Оскільки піпетування ротом суворо заборонено, потрібно завжди використовувати засоби піпетування. Під час піпетування потрібно дотримуватися таких правил:

- 1) у піпетках мають бути ватні пробки, щоб зменшити контамінацію засобів піпетування (наприклад, груш);
- 2) не можна продувати повітря через рідину, що містить інфекційні агенти;
- 3) інфекційні матеріали не можна перемішувати шляхом чергування всмоктування і зливання через піпетку;
- 4) не можна примусово зливати рідини з піпетки;
- 5) бажано використовувати піпетки з двома крайніми мітками, щоб не зливати останню краплю;
- 6) контаміновані піпетки потрібно повністю занурити у належний деззасіб, налитий в ударостійкий контейнер, що розміщений всередині ШББ, і залишити їх там час дії дезінфектанта;
- 7) для піпетування не можна використовувати шприци з голками;
- 8) якщо зразок міститься у флаконі з мембранною кришкою, флакон треба відкривати спеціальним пристроєм, для того щоб мати змогу скористатися піпеткою для відбору аліквоти і уникнути використання шприців з голками;
- 9) щоб уникнути розбризкувань крапель інфекційних матеріалів, що можуть впасти з кінчика піпетки, треба покласти абсорбувальний матеріал на робочу поверхню і після завершення роботи утилізувати його як і інші контаміновані відходи.

### 3.1.2.4. Запобігання ін'єкціям небезпечних матеріалів

Уникнути травм від розбитого чи тріснутого скляного посуду можна замінивши його на пластиковий та неухильно дотримуючись встановлених правил.

Мінімізувати травмування голками можна зменшивши використання шприців з голками або користуватися так званими безпечними голками. Голки для ін'єкцій не можна знову закривати ковпачками, затискати і виймати з одноразових шприців. Також не можна користуватися зламаними чи зігнутими голками. Після використання, голки треба помістити у твердостінний контейнер з кришками для подальшої обробки.

#### 3.1.2.5. Дезінфекція і стерилізація

Для біобезпеки в лабораторії надзвичайно важливе значення в лабораторії мають дезінфекція і стерилізація. Вибір способів знезараження залежить від виду експериментальної роботи та використовуваного інфекційного агента або агентів. Час контакту з дезінфікувальним засобом залежить від матеріалу і виробника, тому всі рекомендації з використання деззасобів мають відповідати інструкціям виробника.

«Інструкція з лабораторної біобезпеки» наводить такі основні визначення, що стосуються дезінфекції і стерилізації:

*Антисептичний засіб* – речовина, яка пригнічує ріст і розвиток мікроорганізмів, але не обов'язково вбиває їх. Антисептичні засоби зазвичай застосовуються на поверхні тіла.

*Бактерицид* – хімічна речовина або суміш хімічних речовин, які вбивають мікроорганізми. Цей термін часто використовується замість термінів «біоцид», «хімічний герміцид» або «протимікробний препарат».

*Біоцид* – загальний термін для будь-якого агенту, що вбиває мікроорганізми.

*Дезінфекція* – фізичні або хімічні засоби знищення мікроорганізмів, але не обов'язково спор.

*Дезінфікувальний засіб* – хімічна речовина або суміш хімічних речовин, які використовуються для знищення мікроорганізмів, але не обов'язково

спор. Дезінфікувальні засоби зазвичай застосовуються до нерухомих поверхонь або об'єктів.

*Деконтамінація* - будь-який процес видалення і / або знищення мікроорганізмів. Цей термін використовується також видалення або нейтралізації хімічних та радіоактивних матеріалів.

*Протимікробний препарат* – агент, що вбиває мікроорганізми або пригнічує їх ріст і розмноження.

*Спороцид* – хімічна речовина або суміш хімічних речовин, що використовуються для знищення мікроорганізмів і спор.

*Стерилізація* – процес, під час якого знищуються і / або видаляються всі класи мікроорганізмів і спор.

*Хімічний герміцид* – хімічна речовина або суміш таких речовин, які використовуються для знищення мікроорганізмів.

#### Прибирання та попередня очистка

Прибирання – це видалення бруду, органічних речовин і плям. Прибирати можна за допомогою щітки, пилососа, сухого протирання, миття, вологого протирання з водою, що містить мило або мийний засіб.

Для належної дезінфекції або стерилізації має велике значення попередня очистка, тому що бруд, ґрунт і органічні речовини можуть захищати мікроорганізми і перешкоджати впливу деззасобів. Багато герміцидних препаратів діють тільки після попередньої очистки. Її треба проводити дуже обережно, щоб не проконтактувати з інфекційними агентами [3].

Методи знезараження бувають фізичні (нагрівання, опромінювання) та хімічні (рідкі або газоподібні дезінфектанти).

Найбільш ефективним методом знезараження є дія тепла – вологого або сухого. Пара температурою 121°C під тиском в автоклаві – це найзручніший метод стерилізації. Сухе тепло температурою 160°C – 170°C

протягом двох – чотирьох годин вбиває життєздатні мікроорганізми на непроникному неорганічному матеріалі (наприклад, на склі), але є ненадійним навіть у неглибоких шарах органічного чи неорганічного матеріалу, який за таких умов є фактично термоізоляцією. Кип'ятіння не обов'язково убиває всі мікроорганізми, але його можна використовувати для мінімальної обробки, якщо інші методи недоступні або не підходять. Спалювання – це ще один вид теплового знезараження. Це ефективний спосіб знешкодження патматеріалів від людини та тварин.

*Хімічні дезінфектанти* у лабораторіях застосовують у рідкому або газоподібному стані. Рідкі деззасоби найчастіше використовуються для знезараження поверхонь та рідких відходів перед тим, як злити їх у каналізаційні системи.

Велика кількість газоподібних речовин знезаражувальну дію має. Найбільш широко використовують формальдегід, оксид етилену, пероксид гідрогену. Якщо дотримуватися всіх необхідних заходів: закрита система, контрольовані температура та вологість, то можна добитися ефективного знезараження. Газоподібні дезінфектанти, насамперед, використовуються для знезараження шаф біобезпеки та пов'язаних з ними систем очищення повітря та повітряних фільтрів; великого обладнання, яке неможливо знезаразити рідкими деззасобами, різних чутливих інструментів та оптики, а також приміщень, будівель та систем вентиляції.

Хімічні дезінфектанти інактивують мікроорганізми одним або декількома способами: коагуляцією або денатурацією білків, лізисом, зв'язуванням з ферментами або інактивацією ключових ферментів шляхом окислення, зв'язуванням або руйнуванням субстрату цих ферментів. Дія деззасобів суттєво залежить від концентрації дієвої речовини, тривалості контакту, рН, температури, вологості та наявності органічних речовин. Навіть невеликі відхилення цих параметрів можуть мати значний вплив на ефективність дезінфекції. Тому рідкі хімічні дезінфектанти не можна

застосовувати для стерилізації будь-яких матеріалів. Однак, неефективність дії дезінфектанту/ів пов'язана, насамперед, з тим, що він/вони не контактував/ли з мікроорганізмами, а не з його дією. Наприклад, якщо на поверхні предмету, що занурений в рідкий деззасіб є крихітні бульбашки повітря, то ділянка під ними суха, і мікроорганізми в цих сухих зонах не зазнають впливу деззасобу. Так само з плямами жиру, іржі або бруду – мікроорганізми під цими захисними покриттями не контактують з дезінфектантом. Тому, якщо є можливість, потрібно очищувати предмети перед знезараженням, як було вказано вище. До складу деззасобів мають входити поверхнево-активних речовини.

#### *Властивості деяких хімічних дезінфектантів*

Спирти. Найчастіше використовують етиловий або ізопропіловий спирт у концентрації 70-85 %; однак обидва втрачають ефективність у концентраціях нижче 50% та понад 90%. Спирти денатурують білки і їхній бактерицидний ефект повільний. Однак спирти є ефективними проти вірусів, що містять ліпіди. Час контакту - десять хвилин, однак через високу швидкість випаровування може знадобитися повторне застосування для необхідного десятихвилинного контакту. Тому спирт часто не визнають ефективним деззасобом для знезараження поверхонь. Ізопропіловий спирт зазвичай більш ефективний проти вегетативних бактерій; етиловий спирт є більш вірицидним засобом.

Формальдегід. Формальдегід як дезінфектант зазвичай продається у вигляді 37% розчину, що називається формаліном, або у вигляді твердої полімеризованої сполуки – параформальдегіду. Формальдегід в 5% концентрації є ефективним рідким дезінфектантом. За низьких температури його активність знижується, а через неприємний запах його важко використовувати в лабораторії. Пара формальдегіду, що утворюється з розчину, є ефективним засобом для знезараження будівель чи приміщень, але в газоподібному стані за наявності води може

полімеризуватися на поверхнях, утворюючи параформальдегід. Нагрівання параформальдегіду для його деполімеризації може вивільнити газ формальдегіду. Якщо у повітрі нема вологи, формальдегід в газоподібному стані утворює менше полімеризованих залишків на поверхнях і тому потрібно менше часу для очищення оброблюваних ділянок після знезараження. Однак, треба пам'ятати, що уже в концентрації 7,5% формальдегід в сухому повітрі є вибухонебезпечним.

Феноли. Сам фенол не часто використовується як дезінфікувальний засіб. Він має неприємний запах і на оброблених поверхнях залишається липкий, клейкий залишок, особливо за умов парової стерилізації. На відміну від фенолу, його гомологи та фенольні сполуки є основними компонентами багатьох популярних деззасобів. Фенольні сполуки є ефективними проти деяких вірусів, грибів та вегетативних бактерій, включно з рикетсіями, однак неефективні проти бактеріальних спор за стандартних умов.

Четвертинні сполуки амонію. Після 40 років тестування та використання досі точаться суперечки про ефективність четвертинних сполук амонію як дезінфектантів. Ці високоефективні катіонні детергенти діють проти вірусів, що містять ліпіди. Вони легко взаємодіють з білками, тому у присутності білків розчини швидко втрачають ефективність. Четвертинні сполуки амонію зазвичай формують згустки мікроорганізмів і нейтралізуються аніонними детергентами, такими як мило. Вони мають багато переваг: нетоксичні, не мають запаху, стійкі, не фарбують, не корозійні для металів та недорогі. Однак з'явилися дослідження, які показують, що до них у бактерій може формуватися стійкість [23].

Хлор. Цей галоген є універсальним знезаражувальним засобом, який діє на багато мікроорганізмів і зокрема, на бактеріальні спори. Хлор з'єднується з білком і його концентрація швидко знижується в присутності білка. Вільний хлор - це агресивний до металів сильний окиснювач.



Розчини хлору потрібно часто готувати. Зазвичай використовують гіпохлорит натрію як хлорвмісну сполуку. Ефективний дезінфікуючий засіб можна приготувати з побутового відбілювача. Вони зазвичай містять 5,25%, або 52 500 ppm вільного хлору. Якщо його розвести у співвідношенні 1:100, і додати детергент в концентрації приблизно 0,7%, в отриманому розчині стане 0,05% вільного хлору і він буде дієвим знезаражувальним засобом.

Йод. Характеристики хлору та йоду схожі. Однією з найпопулярніших груп знезаражувальних засобів для лабораторного використання є йодофори, в яких концентрація вільного йоду змінюється від 25 до 75 ppm. Треба пам'ятати, що вільний йод в цьому діапазоні може швидко поглинатися сторонніми білками. Чисті поверхні чи вода можна ефективно обробити йодом, однак можуть виникнути труднощі, якщо є значна кількість білка. Для йодофорів, дуже важливо дотримуватися письмових інструкцій виробника. Більш високі концентрації йодофорів насправді менш ефективні, оскільки йод зв'язується сам із собою або молекулоносієм.

Пероксид водню та надкислоти. Як і хлор, перекис водню ( $H_2O_2$ ) і надкислоти є сильними окисниками і тому їх можна використовувати як герміциди широкого спектру дії. Однак, вони більш безпечні, ніж хлор, для людини і навколишнього середовища. Перекис водню на ринку є або в готовому для використання вигляді (3-% розчин), або у вигляді 30% водного розчину, який можна застосовувати після розведення стерилізованою водою. Однак, 3% - 6% розчини перекису водню як однокомпонентні герміциди діють повільно і мають обмежений спектр. Наявні в даний час препарати на основі перекису містять інші інгредієнти для стабілізації його вмісту, прискорення його герміцидної дії і зниження його корозійної активності.

Перекис водню можна використовувати для деконтамінації робочих поверхонь лабораторних столів і ШББ, а більш концентровані розчини можуть підійти для дезінфекції чутливих до тепла медичних / стоматологічних інструментів і пристроїв.

Перекис водню і надкислоти є корозивами для таких металів, як алюміній, мідь, латунь і цинк, а також можуть знебарвлювати тканини, волосся, шкіру і слизові оболонки. Оброблені ними предмети треба ретельно промити до контакту з очима та слизовими оболонками. Їх завжди потрібно зберігати подалі від джерела тепла і захищати від впливу світла [3].

#### Автоклавування.

Нагріта водяна пара спричиняє денатурацію білків за більш низьких температурах і впродовж коротшого часу, як порівняти з сухим повітрям. Тому одним з найефективніших засобів фізичного знезараження є стерилізація паром у автоклаві, де в герметичній камері пара міститься під тиском. Автоклавувати можна всі термостійкі предмети. Стандартно в гравітаційних автоклавах стерилізацію проводять при температурі 121°C (тиск одна атмосфера) впродовж години. Для перевірки ефективності автоклавування застосовують хімічні інтегратори та біологічні індикатори. Хімічні інтегратори потрібно використовувати під час кожного автоклавування, біологічні – раз на місяць або у випадках, коли виникають підозри в неналежній стерилізації матеріалів.

Не можна автоклавувати герметично закриті ємності, тому що матеріали не будуть належно знезаражені та від надмірного тиску можуть розірватися під час вивантажування і завдати шкоди персоналу. Також не можна автоклавувати матеріали, що містять органічні розчинники, легкозайmistі та корозивні речовини [3].

### **3.1.3. Засоби індивідуального захисту**

Засоби індивідуального захисту (ЗІЗ) – рукавички, халати, бахіли для взуття, респіратори, щитки для обличчя, захисні окуляри тощо – часто використовують у поєднанні з ШББ та іншим устаткуванням. Часом, коли неможливо або недоцільно працювати в ШББ, наприклад, під час певних досліджень з тваринами, розтину тварин, чи під час обслуговування лабораторних приміщень або догляду за ними, засоби індивідуального захисту стають первинним бар'єром між персоналом та інфекційним матеріалом та мінімізують ризик впливу аерозолів, бризок та випадкової інокуляції [13]. Проте треба пам'ятати, що перш ніж вийти з лабораторії, захисний одяг знімають і миють руки.

Вибір захисних засобів і одягу залежить від характеру виконуваної роботи. Захисний одяг треба одягати під час роботи в лабораторії. У таблиці 6 наведена інформація про деякі види засобів індивідуального захисту, використовуваних в лабораторіях, а також про захист, який вони забезпечують [3].

#### Лабораторні халати, халати, що зав'язуються ззаду, комбінезони

За багато років набули широкого вжитку два типи халатів: ті, що зав'язуються ззаду та ті, що застібаються спереду (лабораторні халати). Халати, що зав'язуються ззаду, схожі на халати, які одягають медичні працівники в операційних, але міцніші і коротші. Основна їхня вада – зав'язки, адже щоб їх зав'язати і розв'язати потрібно докласти зусиль, а то і скористатися сторонньою допомогою, щоб не зав'язалися вузли. Крім того, їх важко швидко зняти у разі надзвичайної ситуації. Інша вада – зав'язки часто відриваються під час прання. Деякі халати спереду мають великі кишені схожі на сумки. Це зручніше, ніж кишені на грудях, з яких щоразу, коли нахилиєшся, випадає їх вміст [19].

**Таблиця 6.** Засоби індивідуального захисту [3]

Засіб захисту	Небезпека	Характеристика ЗІЗ
Медичні халати, лабораторні халати, комбінезони	Контамінація одягу	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Застібаються ззаду</li> <li>• Затуляють верхній одяг</li> </ul>
Пластикові фартухи	Контамінація одягу	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Непромокальні</li> </ul>
Взуття	Удари та бризки	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Закривають пальці ніг</li> </ul>
Захисні окуляри, що щільно прилягають	Удари та бризки	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Протиударні лінзи (повинні бути з діоптріями чи використовуватися поверх окулярів, що корегують зір)</li> <li>• Бокові екрани</li> </ul>
Відкриті захисні окуляри	Удари	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Протиударні лінзи (з оптичною корекцією)</li> <li>• Бокові екрани</li> </ul>
Щиток для обличчя	Удари та бризки	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Затуляє все обличчя</li> <li>• Легко знімається у випадку</li> </ul>
Респіратори	Вдихання аерозолів	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Є різних конструкцій, зокрема одноразові; для очищення повітря у вигляді маски чи напівмаски; для очищення повітря у вигляді маски чи ковпака з нагнітанням повітря (PAPR)*; респіратори з подаванням повітря</li> </ul>
Рукавички	Прямий контакт з мікроорганізмами Порізи	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Одноразові, які дозволені мікробіологами, латексні, вінілові чи нітрильні</li> <li>• Захист рук</li> <li>• Металічна сітка</li> </ul>

\*PAPR - powered air purifying respirator

Зрозуміло, що білі халати, що застібаються попереду, не тільки мають кращий вигляд на працівнику, особливо як символ статусу, а й більш комфортні для працівників. Тому вони витіснили халати, що зав'язуються позаду. На жаль, їх часто не застібали і носили нарозхрист, знову ж таки як символ, особливо молоді співробітники. Тому вони геть не захищали.

Однак, навіть якщо такий халат застібнутий на всі гудзики, він не затуляє шию і верхню частину грудей від бризок і контамінації. Якщо поли халату розходяться, коли працівник сидить, вони не захищають і стегна та коліна. Халати без манжетів, що щільно прилягають, не закривають манжети сорочок чи блузок, і вони виглядають з-під рукавів і ними можна зачепити те, що розлилось чи розсипалось на столі. Аерозолі та бризки можуть контамінувати зап'ястя та нижню частину передплічч через манжети, що нещільно прилягають. Такі проблеми помітили дуже давно, і тому з'явилася рекомендація носити двобортні лабораторні халати з рукавами, що щільно прилягають та затуляють манжети бузок і сорочок, і які можна заправляти в рукавички. Як і у халатів, що зав'язуються ззаду, нагрудні кишені в лабораторних халатах незручні, хоча інші варіанти є прийнятними [18].

Лабораторні халати потрібно повністю застібати. Однак халати, що зав'язуються ззаду, з довгими рукавами або комбінезони забезпечують кращий захист, ніж прості лабораторні халати, тому в мікробіологічних лабораторіях і під час роботи в шафах біологічної безпеки краще працювати в них [3, 18, 19].

Фартухи можна носити поверх халатів, якщо необхідно забезпечити додатковий захист від хімікатів або біологічних матеріалів, таких як кров і рідкі культури. Як уже згадувалося, лабораторний одяг не можна носити за межами лабораторії. В установі або поблизу неї слід організувати прання багаторазового спецодягу [3, 18].

#### Захисні окуляри, що щільно прилягають, захисні окуляри, шитки для обличчя

Є декілька типів захисних окулярів. Вибір засобів захисту очей і обличчя буде залежати від виду виконуваної діяльності. Захисні окуляри можуть бути з коригувальними лінзами, але їх не можна забирати додому [18]. Окуляри з можуть бути виготовлені в спеціальній оправі, яка дає

змогу вставити захисні скельця перед коригувальними лінзами. Така оправа зроблена з матеріалу, що не б'ється та зігнута для забезпечення захисту з боків або оснащена бічними екранами. Відкриті захисні окуляри навіть із захисними екранами не забезпечують належного захисту від бризок. Захисні окуляри, що щільно прилягають, слід носити поверх звичайних окулярів і контактних лінз (контактні лінзи не захищають від біологічних або хімічних небезпек).

Щитки (козирки) з ударостійкого пластику затуляють все обличчя, кріпляться на голові за допомогою зав'язок або їх надягають разом з капюшоном [3]. Їх використовують тоді, коли є ризик розбризкування біологічних матеріалів чи хімічних реактивів, а також коли відкривають автоклав [18] чи ємності з рідким азотом.

Ні захисні окуляри, ні щитки для обличчя, як і інші ЗІЗ, не можна носити за межами лабораторії.

#### Захист органів дихання. Респіратори

Засоби захисту органів дихання використовується, коли повітря на робочому місці непридатне для дихання через нестачу кисню або небезпечний рівень шкідливих речовин. Респіратори вважаються останнім засобом тимчасового контролю, який застосовується як допоміжний спосіб зменшення шкідливого впливу на робочому місці до прийняттого рівня або забезпечення достатньої кількості кисню для дихання. Як уже зазначалося, відповідно до ієрархії контролів, спочатку потрібно застосовувати наявні технічні заходи контролю, а потім уже засоби індивідуального захисту органів дихання [19].

Респіратори можна розділити на два класи: респіратори з подаванням чистого повітря і повітроочисні респіратори. У респіраторах з подаванням чистого повітря для дихання використовують повітря з газового балона або повітряного компресора. Респіратори, в яких забруднене повітря проходить через фільтр або хімічний патрон, називаються

повітроочисними. Респіратори з подачею чистого повітря також поділяються на два класи: автономні дихальні апарати (англ. contained breathing apparatuses – SCBAs) та ті, які підключаються до повітропровідної лінії (англ. air-line respirators). Їх часто ще називають респіратори з подаванням повітря (англ. supplied-air respirators).

Автономні дихальні апарати зазвичай застосовуються за умов, коли в повітрі є такі концентрації токсичних речовин, що можуть негайно зашкодити людині або коли вміст кисню у повітрі знижений, наприклад, під час гасіння пожеж. Респіратори з подаванням повітря через шланг з'єднані з балоном чи компресором. Вони можуть поєднуватися з повітроочисними елементами, що дає змогу виходити / заходити у приміщення із забрудненим повітрям до з'єднання з повітропровідною лінією та забезпечує захист, коли переключаються лінії. Крім того, такі респіратори можуть підключатися до балонів з чистим повітрям на випадок несправності повітропровідної лінії [19]. Ще одним типом респіраторів, що використовується в BSL-4 лабораторіях, є так звані костюми з примусовим подаванням повітря (англ. supplied-air suit). Такі герметичні костюми гарантують повну ізоляцію від робочого середовища, оскільки вони в них подається повітря, що створює надлишковий тиск порівняно з тиском в кімнаті. Тому, якщо костюм пошкоджено, повітря виходитиме з костюма, а не проникатиме в нього [19].

Повітроочисні респіратори знижують концентрацію забруднювальних речовин до прийняттого рівня, пропускаючи повітря через очищувальні елементи: фільтри, що уловлюють частки, чи хімічні картриджі. Їх можна розділити на дві категорії: з нагнітанням повітря (PAPR) та без. Респіратори з нагнітанням оснащені невеликим насосом, що проштовхує повітря через очисний елемент і подає уже очищене повітря під капюшон або ковпак.

Повітроочисні респіратори можуть бути на пів обличчя чи на все обличчя. Респіратори на пів обличчя затуляють тільки рот і ніс. Вони щільно прилягають під підборіддям, до щік і перенісся. Якщо такі респіратори повністю зроблені з фільтрувального матеріалу, то їх називають «фільтрувальні лицьові респіратори» (англ. filtering facepiece respirators). Повітроочисні респіратори на все обличчя затуляють його повністю, прилягаючи під підборіддям, за щоками і до лоба.

Повітроочисні респіратори відфільтровують гази, випари і частинки із забрудненого повітря. Чотири фізичні явища забезпечують осадження часток: перехоплення, дифузія, притягання та інерційне зіткнення. Для кожного фільтра є такий розмір частинок, за якого вказані вище механізми недостатньо ефективні – так званий розмір найбільш проникних часток. Майже всі фільтри уловлюють найгірше частинки розміром від 0,2 до 0,3 мкм. У цих межах частки занадто великі, щоб діяв механізм дифузії, і занадто малі, щоб спрацювали перехоплення, притягання та інерційне зіткнення. Частинки більшого і меншого розмірів затримуються фільтрами ефективніше [19].

Фільтри можна класифікувати залежно від їхньої ефективності і чи спрацюють вони, якщо у атмосфері будуть присутні частинки мастил / олій. Згідно американських стандартів є три рівні ефективності фільтрів 95, 99 і 99,97%, а також три серії (N, R та P) респіраторів залежно від того, чи можна їх використовувати, якщо у робочій атмосфері є мастила / олії. Це важливо, тому що мастила / олії можуть зменшувати заряд певних матеріалів фільтрів, які працюють, загалом, за рахунок механізму електростатичного притягання. Навряд чи біологічні або медичних лабораторії матимуть у повітрі частинки мастил / олій, тому для роботи в них можна використовувати респіратори серії N з ефективністю 95% [19]. Європейський стандарт EN 149 [24] визначає такі класи фільтруючих респіраторів: FFP1 (ефективність 80%, коефіцієнт просочування повітря менше 22%), FFP2 (ефективність 94%, коефіцієнт просочування повітря



менше 8%) і FFP3 (ефективність 99%, коефіцієнт просочування повітря менше 2%). Для роботи в медико-біологічних лабораторіях потрібно використовувати тип FFP3 [24].

Фільтри, які вловлюють частинки, не будуть видаляти газу чи випари. Їх можна позбутися за допомогою хімічних фільтрів, зазвичай вугільних. Для того, щоб покращити фільтрувальні властивості та розширити спектр речовин, які можуть уловлюватися вугільними фільтрами, вуглець у них додатково обробляють хімічними агентами. Хімічні фільтри вловлюють частинки, якщо їх поєднати з фільтрами для часточок [19].

Дуже часто для захисту персоналу від інфекцій, що передаються через повітря, використовують хірургічні маски. Але вони були розроблені для того, щоб захистити пацієнтів від великих краплин слизу, що утворюються під час розмови, чхання, кашлю медичних працівників, а не навпаки. Хірургічні маски щільно не прилягають до обличчя, і хоча було продемонстровано, що деякі з них мають фільтрувальні властивості, все одно через можливий доступ повітря з боків, інфекційні аерозолі доволі легко можуть проникати під маску [19], тому їх не можна використовувати в умовах лабораторій.

Респіратори потрібно використовувати під час процедур, пов'язаних з високим ризиком (наприклад, прибирання розлитого інфекційного матеріалу). Вибір типу, моделі респіратора залежить від виду небезпеки (чи небезпек). Якщо є поєднання біологічної і різноманітних хімічних небезпек, потрібно застосовувати респіратори зі змінними комбінованими фільтрами, які захищають від газів, парів, часток і мікроорганізмів. Треба звернути увагу на те, що фільтр завжди має відповідати респіратору. Повний захист забезпечують герметичні респіратори з подачею повітря [3].

Для забезпечення оптимального захисту необхідно, щоб респіратор був індивідуально підігнаний до обличчя оператора. Для того, щоб переконатися, чи підходить обраний респіратор, необхідно провести так

званий «тест на щільність прилягання». Працівник має проходити його перед тим, як вперше починає користуватися засобами захисту, перед використанням респіратора іншої моделі, іншого розміру, і принаймні раз на рік. Частіше проводити таке тестування потрібно, якщо змінюються фізичні дані працівника, які можуть вплинути на прилягання респіратору (втрата чи набір маси тіла, косметична хірургія, зубне протезування тощо). Є спеціальні набори для проведення тестів на щільність прилягання. Вони бувають кількісні та якісні. Під час кількісного рахують кількість часточок перед та під респіратором. Під час якісного перевіряють, чи відчуває користувач запах чи смак, якщо він одягнув респіратор. У таких наборах найчастіше використовують дві речовини: солодку (сахарин) або гірку (Бітрекс). Проведення самого випробування докладно описано у інструкціях для користувачів та в національних стандартах багатьох країн. Обов'язковою вимогою то таких тестувань є ведення записів, що мають зберегтися до наступного тестування. Тести для перевірки щільності прилягання не проводять для тих засобів, що мають капюшони, ковпаки, або вільно прилягають [19].

### Рукавички

Під час проведення лабораторних процедур можна забруднити руки, чи навіть порізатися або вколотися. Для захисту від контамінації під час роботи з інфекційними агентами, кров'ю, препаратами крові та іншими небезпечними біологічними матеріалами широко використовуються одноразові латексні, вінілові або нітрилові рукавички. Варто додати, що рукавички виготовлені з вінілу є не такими міцними як латексні: вони швидше рвуться та частіше протікають [19], тому у багатьох установах їх застосовують лише для робіт з неінфекційними матеріалами. Використання ж латексних рукавичок, особливо опудрених, провокувало у працівників появу алергічних реакцій, зокрема дерматитів і реактивної гіперчутливості. Тому згідно з сучасними інструкціями завжди має бути доступна альтернатива опудреним латексним рукавичкам. У лабораторіях

допускається використання багаторазових рукавичок, але в такому разі їх потрібно правильно мити, знімати, чистити і дезінфікувати. На це треба звернути особливу увагу [3].

Зрозуміло, що будь-які рукавички, навіть найкращі, знижують чутливість пальців і хочеться працювати без них, особливо коли здається, що небезпека незначна. Однак, робота без рукавичок з інфекційним матеріалом може стати причиною нещасних випадків (з травмами чи без), оскільки на руках можуть бути непомітні порізи чи подряпини [18].

Після роботи з інфекційними матеріалами, роботи в шафі біологічної безпеки і перед виходом з лабораторії рукавички треба правильно знімати, а потім ретельно мити руки. Використані одноразові рукавички потрібно утилізувати разом з інфікованими лабораторними відходами.

Рукавички, виготовлені з нержавіючої сталеві сітки, кевлару слід надягати у разі використання гострих інструментів, наприклад під час розтинів, коли існує ризик порізатися. Однак потрібно пам'ятати, що такі рукавички захищають від порізів, але не від уколів. У препараторських кімнатах, де працюють з гарячими предметами та концентрованими дезінфектантами, мають бути термо- та / чи хімічно стійкі міцні рукавички. Під час робіт у приміщеннях, де утримуються тварини, також за потреби потрібно користуватися міцними рукавичками [18].

Як і інші ЗІЗ, рукавички не слід носити за межами лабораторії.

### Головні убори

Якщо потрібно захистити продукт, або коли бризки можуть потрапити на голову, найбільш часто використовуються капюшони з Tyvek® чи поліпропілену та хірургічні шапочки, які покривають волосся. Також потрібно користуватися захисними головними уборами в приміщеннях, де є примати, [19].

### Лабораторне взуття.

Взуття з відкритим носком та сандалі не підходять для роботи лабораторіях, оскільки вони не забезпечують достатній захист від небезпечних матеріалів. Рекомендовано використовувати міцне взуття, яке можна знезаражувати належним чином. У біомедичних лабораторіях для рутинних лабораторних процедур не потрібно додаткового захисту, наприклад, бахіл. Однак, вони будуть корисні під час прибирання біологічного чи хімічної розливу, у віваріях тощо. На виробництві лікарських препаратів чи в чистих приміщеннях, де захист продукту має важливе значення, можуть використовувати поліпропіленові або виготовлені з Tyvek® бахіли. Чоботи з гуми або аналогічного матеріалу, можуть знадобитися в робочих зонах, де є велика кількість води, наприклад, в кімнатах, де миють клітки тварин. Чоботи зменшують ймовірність ковзання і падіння [19].

Також чоботи можуть знадобитися під час роботи за межами лабораторії в експедиціях, виїздах. Вони використовуються під час певних робіт з особливо небезпечними патогенами згідно з українськими державними санітарними правилами [15].

## Розділ 4. BSL-2 лабораторії: особливості

Згідно з рекомендаціями видання «Біологічна безпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях» працювати з людськими клітинами та клітинами приматів потрібно дотримуючись правил і процедур, які визначені для другого рівня біобезпеки. Такі ж самі вимоги висуваються і під час досліджень клінічних зразків в біологічній лабораторії [13].

Співробітники, які працюють з клітинами, тканинами та рідинами людини й тварин або проводять з ними дослідження, можуть проконтактувати із збудниками інфекційних захворювань, що можуть бути у біологічних матеріалах. Такими збудниками є віруси гепатитів В і С, ВІЛ, Т-лімфотропний вірус людини, вірус Епштейна-Барр, папіломавірус людини, цитомегаловірус; *Mycobacterium tuberculosis*, що може бути в тканинах легень [13]. Крім того, відомі випадки ненавмисної трансплантації клітин пухлин людини здоровим реципієнтам [25-30], що свідчить про небезпеку онкогенних культур для співробітників лабораторій. Так повідомлялося, що під час прищеплення людської аденокарциноми товстої кишки мишам, лаборантка вколола голкою руку, і через два тижні на місці ін'єкції з'явився вузол, гістологічне дослідження якого виявило аденокарциному [25]. Варто пам'ятати, що штами клітин людини і тварин, які недостатньо охарактеризовані або отримані з вторинного джерела, також можуть бути джерелом інфекції в лабораторії. Зокрема, описано випадок інфікування вірусом лімфоцитарного хориоменінгіту дослідників, що працювали з безволосими мишами, яким інокулювали штаму клітин пухлини, випадково контамінований збудником [31].

Ще одним небезпечним фактором можуть бути віруси, що застосовуються для іморталізації клітин: SV-40, EBV, HPV, які можуть бути індукторами онкогенезу. Виявлені у культурах клітин послідовності,

схожі на ендogenous ретровіруси, пов'язують з гломерулонефритом у деяких випадках системного червоного вовчака, деякими імунодефіцитними станами та певними формами ревматоїдного артрити. Крім того, багато культур клітин, зокрема СНО та чимало гібридом, часто контаміновані схожими на ретровіруси частками, що також становлять певну небезпеку для дослідника. Останнім часом дедалі більшу увагу звертають на віруси тварин, які вважаються потенційно небезпечними, зокрема віруси гризунів (вірус лімфоцитарного хоріоменінгіту, Reo-3 вірус, хантавіруси), віруси великої рогатої хвороби, джерелом яких є яких є сироватка крові та інші продукти, що входять до складу середовищ культивування [19]. Треба дуже ретельно планувати роботи з використанням лентивірусних векторів, оскільки є ризик відновлення реплікаційно компетентного вірусу чи онкогенезу [32]. Крім того, потрібно пам'ятати про бактерії та гриби, паразити, пріони, які також виявляють в культурах клітин [19].

Нижче наведені вимоги до проектування, оснащення, процедур у лабораторіях BSL-2.

#### Конструктивні особливості лабораторних приміщень

1. Для безпечного проведення лабораторних процедур необхідно забезпечити достатній простір.
2. Стіни, стеля та підлога мають бути гладенькими, легко митися, бути не проникними для рідин, стійкими для реактивів і дезінфікуючих засобів, зазвичай застосовуваних в лабораторії. Підлоги мають бути неслизькими.
3. Поверхня стільців і полиць має бути водонепроникною і стійкою до дії дезінфікуючих засобів, кислот, лугів, органічних розчинників та досить жаростійкою.
4. Для проведення будь-яких робіт необхідно забезпечити достатнє освітлення. Треба уникати відбиття і відблисків.

5. Лабораторні меблі мають бути міцними. Відкриті поверхні між і під полицями, столами, шафами і обладнанням мають бути доступними для прибирання.
6. Для розміщення приладів і обладнання першої необхідності треба виділити достатній простір, щоб не створювати безладу на полицях і в проходах. Необхідно також забезпечити достатню площу під складські приміщення, які треба зручно розташовувати поза робочою зоною лабораторії.
7. Потрібно виділити приміщення для роботи з розчинниками, радіоактивними матеріалами і зрідженими (або під тиском) газами та для їх зберігання.
8. Верхній одяг і особисті речі, як мають зберігатися поза робочою зоною лабораторії.
9. Приміщення для прийому їжі і напоїв, а також кімнати відпочинку мають бути поза робочою зоною лабораторії.
10. Раковини, за можливості з проточною водою, треба розміщувати в кожній лабораторній кімнаті, переважно ближче до виходу.
11. Двері мають бути з оглядовими вікнами, відповідати правилам протипожежної безпеки та, за можливості, зачинятися самостійно.
12. У лабораторії 2-го рівня біологічної безпеки безпосередньо поруч з нею має бути автоклав або інші засоби для знезараження.
13. Системи безпеки мають включати протипожежну безпеку і електробезпеку, аварійний душ і засоби для промивання очей.
14. Необхідно забезпечити готовність належним чином обладнаних приміщень або зон для надання першої допомоги.
15. Проектуючи нові приміщення, треба розглянути можливість створення системи механічної вентиляції, що забезпечує надходження свіжого повітря і відведення відпрацьованого без його рециркуляції. Якщо такої системи немає, необхідно вжити заходів до

того, щоб вікна добре відчинялися і були оснащені протимоскітними сітками.

16. У лабораторії необхідно передбачити систему регульованого підведення води належної якості. Поєднання джерел води для лабораторних цілей і питної води не допускаються. Система загального водопостачання має бути обладнана запірними клапанами, що перешкоджають протитечії.
17. Необхідно мати надійне джерело електроживлення відповідної потужності, а також аварійне освітлення із зазначенням запасного виходу. Бажано встановити резервний генератор для живлення основного обладнання – інкубаторів, холодильників і т.д. Це необхідно, крім того, для вентиляції боксів з тваринами.
18. Необхідно передбачити надійну і належну систему газопостачання, яка має обслуговуватися відповідно до чинних вимог.
19. Лабораторії і приміщення для тварин іноді бувають об'єктами актів вандалізму. Для того, щоб виключити такі події, необхідно забезпечити надійний захист і протипожежну безпеку. Двері мають бути обов'язково укріплені, вікна заґратовані, а ключі видавати лише обмеженій кількості співробітників.

### Лабораторне обладнання

Поряд з надійними процедурами і практиками, використання обладнання, що відповідає вимогам безпеки, дасть змогу знизити ризики, пов'язані з біологічною небезпекою. Завідувач лабораторією, після консультації з особами, відповідальними за біобезпеку, і радою з безпеки (якщо така призначена) вживає заходів для забезпечення відповідними засобами і устаткуванням та їх правильного використання. Під час вибору лабораторного обладнання необхідно дотримуватися таких правил:

- 1) Обладнання має бути сконструйоване так, щоб обмежити або запобігти контакту працівника з інфекційним агентом.



- 2) Обладнання має бути виготовлене з матеріалів, непроникних для рідин, стійких до корозії і достатньої механічної міцності.
- 3) Обладнання не повинно мати гострих країв, шорстких і незакріплених деталей.
- 4) Обладнання має бути сконструйовано і встановлено так, щоб ним було зручно користуватися, а також, щоб його було легко обслуговувати, очищати, знезаражувати і сертифікувати; якщо можливо, потрібно уникати використання виробів зі скла та інших крихких матеріалів потрібно.

Для того, щоб переконатися в тому, що обладнання має всі необхідні для безпечної роботи якості, можуть знадобитися більш докладні специфікації на технічні характеристики.

#### *Основне обладнання для гарантування біобезпеки*

- 1) Засоби для піпетування – необхідні для того, щоб уникнути піпетування ротом.
- 2) Шафи біологічної безпеки, використовуються тоді, коли:
  - працюють з інфекційними матеріалами; є підвищений ризик передавання інфекції повітряно-крапельним шляхом;
  - виконуються роботи, пов'язані з високим ризиком утворення аерозолів, зокрема центрифугування, подрібнення, змішування, інтенсивне струшування або перемішування, ультразвукове подрібнення, відкриття контейнерів з інфекційним матеріалом, внутрішній тиск в яких відрізняється від атмосферного, інтраназальна інокуляція тварин, а також забір інфікованого матеріалу у тварин та ембріонів
  - інфекційні матеріали можна центрифугувати в звичайній лабораторії, якщо користуватися герметичними безпечними центрифужними пробірками. Однак, пробірки треба наповнювати і спорожнювати в шафі біологічної безпеки.

- 3) Одноразові пластикові петлі для пересіву. Як варіант, для зниження можливості утворення аерозолів в ШББ можна використовувати електричні печі для знезараження багаторазових петель.
- 4) Ємності і пробірки з кришками.
- 5) Автоклави або відповідні засоби для деконтамінації заражених матеріалів.
- 6) Одноразові пластикові пастерівські піпетки, що використовуються, за можливості, замість скляних.

Таке обладнання, як автоклави і шафи біологічної безпеки, повинно бути сертифіковане за допомогою відповідних методів згідно з чинними стандартами до введення в експлуатацію. Повторну сертифікацію потрібно проводити через певні інтервали відповідно до інструкції виробника чи чинних настанов.

#### Медичний контроль і спостереження за здоров'ям

Керівництво лабораторії в особі її завідувача відповідає за проведення належного спостереження за здоров'ям співробітників лабораторії. Мета такого спостереження – профілактика професійних захворювань. Для цього вживають таких заходів:

- 1) проводять в установлені терміни активну і пасивну імунізацію;
- 2) забезпечують ранню діагностику лабораторних інфекцій;
- 3) усувають від лабораторних робіт з підвищеною небезпекою осіб з підвищеною чутливістю до інфекцій (наприклад, вагітних жінок або осіб з ослабленим імунітетом);
- 4) забезпечують персонал ефективними засобами індивідуального захисту та запобіжними засобами.

#### Навчання

Помилки і недостатній досвід роботи у лабораторії співробітників можуть звести нанівець ефективність найнадійніших заходів безпеки. Тому

персонал, що пройшов інструктаж з техніки безпеки і добре знайомий з засобами визначення та зниження ризиків в лабораторії, – це ключовий елемент запобігання лабораторним інфекціям, аваріям та нещасним випадкам. Тому надзвичайно важливого значення набуває постійне, зокрема під час роботи, навчання персоналу відповідним заходам безпеки. Ефективна програма з безпеки починається з адміністрації лабораторії, яка має забезпечити організацію лабораторної роботи так, щоб базове навчання співробітників обов'язково включало практичні заняття з техніки безпеки. Техніка безпеки завжди має бути складовою частиною навчання новоприйнятих співробітників. Персонал лабораторії має ознайомитися з кодексом практик і загальними рекомендаціями, що стосуються роботи в цій лабораторії, включно з інструкціями з техніки безпеки і робочими процедурами. У зв'язку з цим необхідно вжити заходів (наприклад, обов'язковий підпис після ознайомлення з інструкцією), які гарантуватимуть, що працівники лабораторії прочитали і засвоїли загальні рекомендації. Основну роль у навчанні безпосередньо підпорядкованих співробітників лабораторії мають відігравати керівники груп.

Навчання персоналу обов'язково має включати вивчення безпечних методів виконання робіт, під час яких такі ризики є досить високими.

### Знищення відходів

Відходи – це все те, чого необхідно позбутися. Фактично, впродовж дня лише частину їх потрібно видалити або знищити, тому що здебільшого багаторазовий посуд, інструменти і лабораторний одяг використовують повторно. Основний принцип роботи з відходами полягає в тому, що інфіковані матеріали потрібно знезаразити, проавтоклавувати або знищити в самій лабораторії.

Перед тим, як видалити з лабораторії будь-які об'єкти або матеріали, які контактували з небезпечними біологічними матеріалами, мікроорганізмами або тваринами, необхідно переконатися в тому, що а) ці

об'єкти і матеріали ефективно простерилізовані або продезінфіковані за допомогою відповідних встановлених процедур; б) якщо ні, то чи належно запаковані ці об'єкти або матеріали для того, щоб їх негайно знищили на території лабораторії або перевезли в інше місце, де їх можна знищити. Обов'язково з'ясувати, чи пов'язана утилізація продезінфікованих або стерилізованих матеріалів або об'єктів з можливою додатковою небезпекою (біологічною або іншою) для тих, хто безпосередньо утилізує відходи, або для тих, хто може контактувати з такими матеріалами або об'єктами поза лабораторією / установою.

*Деконтамінація* (зnezараження). Як уже згадувалося, найкращим методом деконтамінації (зnezараження) є автоклавування. Матеріали, що потрібно зnezаразити і знищити, поміщають в контейнери, наприклад, в пластикові пакети для автоклавування з різнокольоровим маркуванням залежно від передбаченої процедури – автоклавування і / або знищення. Альтернативні методи зnezараження можуть застосовуватися тільки тоді, коли вони ефективно видаляють і / або знищують мікроорганізми.

*Процедури обробки і знищення контамінованих матеріалів і відходів.* Необхідно встановити систему ідентифікації і визначити категорій контамінованих матеріалів і відповідних контейнерів. Водночас треба дотримуватися національних і міжнародних норм і правил. Необхідно розрізняти такі категорії відходів:

- 1) контаміновані (інфекційні) відходи, які можуть бути повторно використані або знищені разом з загальними «побутовими» відходами;
- 2) контаміновані (інфекційні) «гострі предмети» – голки, скальпелі, ножі і уламки скла, – необхідно скласти в контейнери з твердими стінками та кришкою, і обробляти як контаміновані;
- 3) контаміновані матеріали, що зnezаражуються автоклавуванням, а потім миються і використовуються повторно;

4) контаміновані матеріали, які автоклавуються і знищуються;

5) контаміновані матеріали, які спалюються.

*Гострі предмети.* Голки для ін'єкцій складають в одноразові контейнери з твердими стінками в зібраному вигляді. Одноразові шприци, що використовуються окремо або з голками, потрібно помістити в одноразові контейнери для гострих предметів з твердими стінками і віддати на знищення. Якщо потрібно, їх попередньо автоклавують.

Одноразові контейнери з твердими стінками мають бути стійкими до проколювання і їх не можна заповнювати до країв. Після заповнення на три чверті їх поміщають в спеціальні «контейнери для контамінованих відходів» і знищують, попередньо проавтоклавували, якщо це потрібно. Одноразові тверді контейнери для голок не можна викидати на смітник.

Контаміновані (потенційно інфекційні) предмети, що автоклавуються і можуть використовуватися повторно, попередньо не миються. Будь-яку необхідну очистку або ремонт проводять після автоклавування або дезінфекції.

Всі контаміновані (потенційно інфекційні) матеріали, які підлягають знищенню (крім голок, про які йшлося вище) треба автоклавувати в водонепроникних контейнерах, тобто в пластикових пакетах для автоклавування з різнокольоровим маркуванням. Після автоклавування матеріали можна в переносних контейнерах транспортувати до місць спалювання. За можливості, медичні відходи, включно з лабораторними, не треба викидати на смітник навіть після їх знезараження. Якщо такі відходи можна спалити на території лабораторії, то їх можна не автоклавувати: контаміновані предмети в промаркованих контейнерах (тобто різнокольорових пакетах) транспортують без посередньо до місця спалювання. Багаторазові контейнери для транспортування мають бути водонепроникними і щільно закриватися кришкою. Перед подальшим використанням їх треба продезінфікувати і вимити.

На кожному робочому місці мають бути одноразові контейнери чи ємності, бажано такі, які не б'ються (тобто пластикові), з дезінфікувальним засобом. У такі ємності можна зливати рідкі відходи або класти для дезінфекції предмети, які не можна чи недоцільно поміщати в пакети для автоклавування. Вони мають безпосередньо контактувати з використовуваним деззасобом (тобто нема повітряних бульбашок, які перешкоджатимуть контакту) протягом визначеного часу залежно від властивостей дезінфектанту. Багаторазові контейнери треба дезінфікувати і мити перед їх повторним використанням.

Спалювання контамінованих відходів необхідно проводити за згоди органів охорони здоров'я та органів захисту навколишнього середовища, а також відповідального за біологічну безпеку лабораторії.

Виконання наведеного вище кодексу практик з «Інструкцій з лабораторної біобезпеки» – основа біобезпеки в лабораторії. І хоча кодекс розроблений для установ, що працюють з інфекційним матеріалом, його потрібно застосовувати під час роботи і в біологічній лабораторії, тому що правила, вказані в ньому, гарантують безпечну роботу з біологічним матеріалом, який у багатьох випадках є небезпечним для дослідника. Крім того, варто пам'ятати, що запровадження належної культури біобезпеки, що включає дотримання наведених в цьому посібнику правил, в науковій установі не тільки знизить ризик аварій та нещасних випадків, а й підвищить якість виконуваних досліджень.

## Список використаної літератури:

1. «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів» Закон України від 31.05.2007 № 1103-V (доступно: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/1103-16>)
2. Biosafety and the environment. An introduction to the Cartagena Protocol on Biosafety. The Secretariat of the Convention on Biological Diversity, June 2003
3. Laboratory biosafety manual. 3rd edition. Geneva: World Health Organization; 2004; 178 p.
4. Kinderlerer J. Biotechnology: A comparative look at governing science. *Science*, 2005, 309:704-706.
5. Research policy and management of risks in life sciences research for global health security. Report of the meeting. Bangkok, Thailand, 10-12 December 2007. Geneva, World Health Organization, 2008 (WHO/ HSE/EPR/2008.4) (доступно <http://apps.who.int/iris/handle/10665/69943>).
6. Rappert B, Gould C (eds). Biosecurity: Origins, transformations and practices. New Security Challenges Series, Basingstoke: Palgrave Macmillan, 2009. XIV, 250
7. Zmorzynska A, Hunger I. Restricting the role of biosecurity. Op-Eds, Bulletin of the Atomic Scientists, December 2008 (доступно <http://thebulletin.org/restricting-role-biosecurity-0>)
8. Biosecurity for agriculture and food production (доступно <http://www.fao.org/biosecurity/>, accessed May 2017)
9. The Sunshine Project. Biosafety, biosecurity, and bioweapons. Three agreements on biotechnology, health, and the environment, and their potential contribution to biological weapons control. Background Paper 11, 2003. 50 p.
10. Laboratory biosecurity guidance. Geneva: World Health Organization, 2006, 33 p.
11. Biosafety Resource Book. Module C. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2011, 81 p.

12. CEN Workshop Agreement, Laboratory biorisk management, CWA 15793:2011, September 2011. доступно: [ftp://ftp.cenorm.be/CEN/Sectors/TCandWorkshops/Workshops/CWA15793\\_September2011.pdf](ftp://ftp.cenorm.be/CEN/Sectors/TCandWorkshops/Workshops/CWA15793_September2011.pdf)
13. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5<sup>th</sup> ed, Washington: U. S. Government Printing Office, 2007, 409 p. (доступно <https://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/bmbl.pdf>)
14. Laboratory Biosafety and Biosecurity Risk Assessment Technical Guidance Document, Sandia National Laboratories in collaboration with The International Federation of Biosafety Associations, July 2014 (доступно <http://prod.sandia.gov/techlib/access-control.cgi/2014/1415939r.pdf>)
15. Державні санітарні правила ДСП 9.9.5.035-99 «Безпека роботи з мікроорганізмами I-II груп патогенності», Міністерство охорони здоров'я, Київ, 1999
16. Державні санітарні правила. Порядок видачі дозволів на роботу із мікроорганізмами I-IV групи патогенності та рекомбінантними молекулами ДНК. ДСП 9.9.5-064-2000. Міністерство охорони здоров'я, Київ, 2000
17. WHO Biorisk Management Advanced Trainer Programme (доступно [http://www.who.int/ihr/training/biorisk\\_management/en/](http://www.who.int/ihr/training/biorisk_management/en/))
18. Collins CD, Kennedy DA Laboratory-acquired Infections: History, Incidence, Causes and Preventions, 4th ed.) Butterworth Heinemann, 1999, 324 p.
19. Biological safety: principles and practices 4th ed / editors, Diane O. Fleming, Debra L. Hunt. Washington: ASM Press, 622 p.
20. NSF/ANSI 49:2008, Biosafety Cabinetry Certification.
21. European Standard EN 12469:2000, Biotechnology - Performance criteria for microbiological safety cabinets.
22. Microbiology Safety Cabinets: Recommendations for Cabinet Installation, British Standards Institution, BS 5726:2005.



23. McDonnell G. and Russell D. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 1999, 12 (1), P. 147-179.
24. European standard EN 149:2001+A1:2009 Respiratory protective devices - Filtering half masks to protect against particles - Requirements, testing, marking.
25. Gugel EA, Sanders ME. Needle-stick transmission of human colonic adenocarcinoma (letter) *N. Engl. J. Med.* 1986, 315, P. 1487.
26. Doblhoff-Dier O, Stacey G. Cell lines: applications and biosafety. In: Fleming D, Hunt D, editors. *Biological safety: principles and practices.* Washington, DC: ASM Press; 2000. P. 221-39.
27. Gartner H.V., Seidl C., Luckenbach C. et al. Genetic analysis of a sarcoma accidentally transplanted from a patient to a surgeon. *N. Engl. J. Med.* 1996, 335, P. 14194-7.
28. Southam CM. Homotransplantation of human cell lines. *Bull. N. Y. Acad. Med.* 1958, 34, P. 416-23.
29. Nadler SH, Moore GE. Immunotherapy of malignant disease. *Arch. Surg.* 1969; 99, P. 376-81.
30. Scanlon EF, Hawkins RA, Fox WW, Smith WS. Fatal homotransplanted melanoma: a case report. *Cancer* 1965; 18, P. 782-9.
31. Dykewicz CA, Dato VM, Fisher-Hoch SP, et al. Lymphocytic choriomeningitis outbreak associated with nude mice in a research institute. *JAMA.* 1992; 267, P. 1349-53.
32. Office of Science Policy, National Institutes of Health 2006, "Biosafety Considerations for Research with Lentiviral Vectors." Доступно: [http://oba.od.nih.gov/rdna\\_rac/rac\\_guidance\\_lentivirus.html](http://oba.od.nih.gov/rdna_rac/rac_guidance_lentivirus.html)

Навчальний посібник

**Максимович** Ярослава Сергіївна

**Гергалова** Галина Леонідівна

**Комісаренко** Сергій Васильович

## **Біобезпека під час біологічних досліджень**

Підп. до друку 10.12.2019. Формат 64х90/16.  
Папір офсетн. Друк цифровий  
Тираж 60 прим. Зам. № 12/02

ФОП Бихун В.Ю.  
вул.Леонтовича, 9, к. 18, м. Київ, 01601  
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи  
до Державного реєстру видавців, виготівників  
і розповсюджувачів видавничої продукції  
ДК № 5366 від 26.06.2017 р.  
тел./ факс: +38 044 235 000 9  
моб.: +38 050 310 22 04  
e-mail: lk@ukr.net