

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АНАЛИТИЧЕСКОГО СТЕНДА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ АЭРОЗОЛЬНЫХ ИСПЫТАНИЙ В КОНТРОЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЯХ

Д. А. Клейменов¹✉, Б. И. Вердиев¹, А. А. Ененко², В. А. Гушчин^{1,3,4}, А. П. Ткачук¹

¹ Лаборатория трансляционной биомедицины,

Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва

² ЗАО Ламинарные системы, Миасс, Челябинская обл.

³ Лаборатория механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов,

Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва

⁴ Кафедра вирусологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва

Для обеспечения безопасности проживающих в условиях города людей необходимо контролировать воздушную среду населенных пунктов и прежде всего мегаполисов на наличие патогенных биологических агентов (ПБА). Разрабатываются различные системы контроля биологического состава воздушной среды (сбор и анализ аэрозоля) и ее очистки (фильтрация, дезинфекция). Возможность экспериментального создания аэрозолей заданного состава является необходимым условием разработки любых подобных устройств. Рабочий объем большинства установок для работы с аэрозолями, имеющихся в России, достигает нескольких сотен литров, что недостаточно. Специальные аэрозольные камеры с большим рабочим объемом (10–20 м³) характеризуются высокой стоимостью и требуют проведения капитального строительства/реконструкции помещений для их установки. В настоящей работе представлен аналитический стенд для индикации маркеров ПБА в контролируемых условиях, разработанный на основе специального варианта бокса БМБ-III-«Ламинар-С»-1,5 (380.150.01), главным назначением которого является проведение тестов и испытаний приборов для сбора и/или анализа аэрозолей модельных биопатогенов. Устройство предназначено для проведения исследований начального и среднего уровня с большинством ПБА III группы патогенности внутри отдельной лаборатории. Внешние размеры позволяют устанавливать его в помещениях площадью от 10 м² при достаточном внутреннем объеме камеры для проведения испытаний (более 4 м³).

Ключевые слова: инфекционные заболевания, аэрозольные инфекции, сбор аэрозоля, аэрозольный стенд

Финансирование: статья подготовлена при поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках программы «Национальная система химической и биологической безопасности 2015–2020» и Министерства образования и науки РФ в рамках проекта RFMEFI60117X0018.

✉ **Для корреспонденции:** Денис Александрович Клейменов
ул. Гамалеи, д. 18, г. Москва, 123098; 10000let@rambler.ru, denis.a.kleyменов@gamaleya.org

Статья получена: 06.08.2018 **Статья принята к печати:** 31.08.2018

DOI: 10.24075/vrgmu.2018.053

PERFORMANCE OF THE ORIGINAL WORKSTATION FOR AEROSOL TESTS UNDER CONTROLLED CONDITIONS

Kleyменов DA¹✉, Verdiev BI¹, Enenko AA², Gushchin VA^{1,3,4}, Tkachuk AP¹

¹ Laboratory of Translational Biomedicine,

Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow

² ZAO Laminar Systems, Miass, Chelyabinsk oblast

³ Laboratory of Population Variability Mechanisms in Pathogenic Microorganisms,

Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow

⁴ Department of Virology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow

Air quality monitoring is essential when it comes to protecting the urban population, especially that of big metropolises, from biohazards including biopathogens (BPs). This process is aided by different samplers and analyzers of aerosol pollutants, filters and disinfection systems. Their performance is tested using experimental aerosol formulations with a predetermined composition. Unfortunately, the majority of such systems available in Russia are only able to process a few hundred liters of air per time unit, which is too little. Big aerosol chambers (10 to 20 m³) are very expensive and may not fit into a lab, necessitating an extensive overhaul. In this work we present a workstation for the detection of BP markers under controlled conditions based on the microbiological safety box MSB-III-Laminar-C-1.5 (380.150.01) that was originally designed to test the performance of samplers and analyzers of experimental aerosol formulations. Our workstation can handle the majority of BSL-1-2 BPs and, given the chamber volume that satisfies the requirements of aerosol experiments (> 4 m³), can be installed in a lab with an area of >10 m².

Keywords: infection, aerosol, aerosol sampling, aerosol chamber

Funding: this work was supported by the Ministry of Health of the Russian Federation as part of the project *The National System for Chemical and Biological Security of the Russian Federation (2015-2020)* and by the Ministry of Education and Science as part of the project RFMEFI60117X0018.

✉ **Correspondence should be addressed:** Denis A. Kleyменов
Gamalei 18, Moscow, 123098; 10000let@rambler.ru, denis.a.kleyменов@gamaleya.org

Received: 06.08.2018 **Accepted:** 31.08.2018

DOI: 10.24075/brsmu.2018.053

Исследование воздуха на наличие биопатогенов приобретает все большую актуальность. В разнообразие естественных источников микроорганизмов вносит свой вклад развитие биотехнологии, а именно загрязнение от применения генно-инженерных штаммов в производстве

фармацевтических препаратов и субстанций [1]. Антропогенный городской ландшафт и агропромышленные зоны способствуют образованию благоприятных локальных условий для развития популяций бактерий и вирусов, ареалом жизнедеятельности которых становятся места

общественного пользования (больницы, роддома, метрополитен и др.), технологические сети (вентиляция, водопровод, стоки и др.), а также животные и среда их обитания. Высокая плотность и мобильность современного городского населения способствуют появлению риска широкого распространения форм заболеваний с аэрозольным механизмом передачи возбудителя [2]. Весьма актуальной остается проблема биотерроризма [3, 4].

Для контроля за обсемененностью воздуха существует множество современных технических средств, позволяющих проводить сбор аэрозоля из воздуха, а также анализ количества и размера аэрозольных частиц и их потенциальной принадлежности к биопатогенам. Отработка технических решений для получения необходимых характеристик требует создания искусственных аэрозолей, моделирующих естественную среду и возможные отклонения при их применении. Современные фильтры высокой эффективности позволяют создать аналитический стенд в виде камеры с изолированным объемом, устанавливаемый внутри лабораторного помещения, гарантирующего безопасную работу с аэрозолями и биопатогенами в аэрозольной форме [5, 6].

Основные параметры, которым должна удовлетворять камера: внутренний объем, достаточный для размещения приборов; удобный доступ; внешние габариты, позволяющие устанавливать камеру в помещении лабораторного бокса; обеспечение фильтрации воздуха на входе и на выходе; распределение аэрозоля равномерно по всему объему; простота очистки и деконтаминации. Современные боксы микробиологической безопасности III класса (БМБ-III) соответствуют большинству условий, за исключением требований к внутреннему объему [6].

I. Дизайн эксперимента

С целью создания испытательного аналитического стенда для индикации маркеров патогенных биологических агентов в контролируемых условиях был разработан специальный вариант бокса БМБ-III-«Ламинар-С»-1,5 (380.150.01), главным назначением которого является проведение тестов и испытаний приборов для сбора и/или анализа аэрозолей модельных биопатогенов.

Опытный образец отечественного высокопроизводительного аэрозольного пробоотборника с рециркуляцией жидкой фазы и предварительным концентрированием, разработанный в Национальном исследовательском ядерном университете МИФИ (НИЯУ МИФИ), служил для сбора частиц размером более 0,5 мкм при объемных скоростях пробоотбора выше 4000 л/мин. Ближайшим аналогом для сравнения была использована система SASS4000/2300 (Research International Inc., США).

Рассмотрим подробнее основные этапы разработки аналитического стенда и его испытания для индикации патогенов.

II. Подготовительные этапы

1. Оборудование

1.1. Аналитический стенд для индикации маркеров патогенных биологических агентов в контролируемых условиях.

Бокс БМБ-III-«Ламинар-С»-1,5 (380.150.01) (Ламинарные системы; Россия) представляет собой бокс микробиологической безопасности III класса специфичной конструкции

по ГОСТ Р ЕН 12469–2010 с герметичной внутренней камерой размерами 1,5 × 1,5 × 1,9 м (рис. 1). В рабочую камеру непрерывно подается воздух, предварительно прошедший через приточный высокоэффективный HEPA-фильтр класса H14, вследствие чего имеется возможность создавать внутри рабочей камеры чистую воздушную среду с классом чистоты по частицам более 0,5 мкм вплоть до 5 ИСО по ГОСТ ИСО 14644-1-2002. Удаление воздуха происходит через каскад двух последовательно установленных выпускных HEPA-фильтров класса H14. Движение воздуха внутри бокса обеспечивается путем создания разряжения выпускными вентиляторами, причем разряжение внутри рабочей камеры бокса составляет не менее 250 Па относительно помещения установки. Полный поток воздуха через бокс составляет 800 м³/ч, однако может быть уменьшен до нуля за счет совместного регулирования скорости вращения вытяжных вентиляторов и специальной дроссельной заслонки, изменяющей аэродинамическое сопротивление приточного тракта бокса. В результате воздух, содержащий создаваемый внутри рабочей камеры аэрозоль, очищается, проходя через каскад выпускных HEPA-фильтров, и попадает обратно в помещение установки. Вследствие непрерывного наличия внутри рабочей камеры бокса разряжения в 250 Па выход аэрозольных частиц за пределы бокса сведен к минимуму, определяемому только конечной эффективностью каскада HEPA-фильтров. Вследствие конструктивных особенностей бокса воздухопроводы, по которым движется контаминированный воздух, отсутствуют и воздух из рабочей камеры сразу попадает на выпускные HEPA-фильтры первой ступени.

Загрузка испытательного оборудования внутрь рабочей камеры осуществляется через герметизируемую полноразмерную дверь. Плотность прилегания стеклянной поверхности двери к дверному уплотнителю обеспечивается за счет использования специальных двусосных петель и четырех рукояток тугого прижима двери.

Контроль параметров воздушной среды производится с помощью комплекса измерительного оборудования, подключаемого через проходную технологическую панель. Связь диагностического и измерительного оборудования с компьютером осуществляется через специальную проходную панель, содержащую как герметизированные воздушные штуцеры, так и проходные электрические соединения.

Управление режимами работы бокса осуществляется через сенсорную панель оператора. Система управления бокса устроена таким образом, чтобы в автоматическом режиме поддерживать заданный расход воздуха и разряжение внутри рабочей камеры, а также сигнализировать обо всех нештатных ситуациях при работе бокса. Автоматика также способна отслеживать засоренность HEPA- и предварительного фильтров и компенсировать изменения их аэродинамического сопротивления за счет изменения скорости вращения вентиляторов и положения дроссельной заслонки.

Дезинфекционная обработка бокса осуществляется с учетом требований нормативных документов, а также технологического процесса проведения исследований. Для первичной дезинфекции внутри рабочей камеры установлена пара УФ-ламп. Для полной деконтаминации рабочей камеры можно применять такие методы, как деконтаминация парами формалина либо пероксида водорода. Подключение оборудования можно производить через специальные проходные штуцеры диаметром 38 мм.

1.2. *Аэрозольный пробоотборник (НИЯУ МИФИ; Россия)*

Устройство состоит из виртуального импактора, соединенного воздуховодом с циклонным коллектором (рис. 2). В основе работы лежит двухступенчатое последовательное концентрирование, что позволяет достигать больших объемных скоростей прокачки (4000 л/мин). На первой ступени осуществляется концентрирование частиц при прокачке через щелевой виртуальный импактор. Выходной воздушный поток (300 л/мин), содержащий концентрированные частицы, поступает в циклонный коллектор (вторая ступень). Вторая ступень включает в себя осаждение концентрированных частиц в пленке жидкости, непрерывно циркулирующей в циклонном коллекторе. Увеличение времени циркуляции при продолжающемся поступлении частиц приводит к возрастанию их концентрации в жидкой фазе. Объем жидкого образца на выходе 7–8 мл.

1.3. *Аэрозольный пробоотборник SASS 4000/2300 (Research International Inc.; США)*

Аэрозольный пробоотборник SASS 4000/2300 по принципу работы аналогичен устройству НИЯУ МИФИ. На первой ступени виртуальный щелевой импактор имеет объемную скорость прокачки 3600 л/мин. На второй ступени циклонный коллектор обеспечивает воздушный поток со

скоростью 325 л/мин и объем выдаваемой жидкой пробы 4–5 мл.

1.4. *Портативный аэрозольный счетчик частиц SOLAIR 3100 (Lighthouse Worldwide Solutions; США)*

Используется для тестирования целостности приточного и выпускных HEPA-фильтров. Измерения проводили в шести диапазонах 0,3; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 10,0 мкм.

1.5. *Аэрозольный счетчик субмикронных частиц 4705 (AeroNanoTech; Россия)*

Портативный аэрозольный счетчик субмикронных частиц используется для замера концентрации частиц и их распределения по размерам в субмикронном диапазоне. С помощью прибора измеряли счетную концентрацию в диапазонах 1; 2; 3; 5; 10 мкм.

III. Тестирование

1. Проверка целостности HEPA-фильтров (тест №1)

Проверку проводили перед вводом в эксплуатацию оборудования в соответствии с ГОСТ Р ИСО 14644-3-2007 [7]. Испытания выполняли путем подачи контрольного

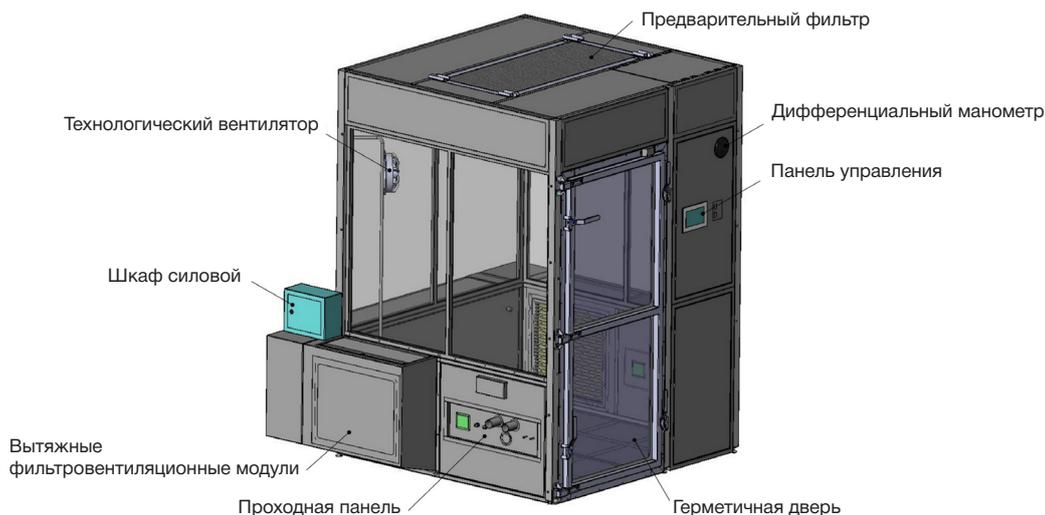


Рис. 1. Внешний вид бокса БМБ-III-«Ламинар-С»-1,5 (380.150.01)



Рис. 2. Внешний вид аэрозольного пробоотборника (НИЯУ МИФИ; Россия)

аэрозоля на вход фильтров и одновременного сканирования счетчиком частиц SOLAIR 3100 поверхности фильтров и их креплений или осуществления отбора пробы после фильтров в воздуховоде.

2. Исследование скорости и эффективности очистки воздуха (тест №2). Тест на эффективность сбора частиц аэрозольным пробоотборником НИЯУ МИФИ.

Исследование проводили в рамках нескольких режимов работы аэрозольного бокса путем распыления внутри него компрессорным небулайзером Comp Air NE-C28 (Omron Healthcare Co., Ltd.; Япония) раствора 10% сахарозы в дистиллированной воде и измерением на фоне этого количества частиц размером 1, 3 и 5 мкм также внутри бокса аэрозольным счетчиком субмикронных частиц 4705. Исследование проводили в трех режимах работы бокса. Перед началом исследования на любом из режимов на фоне включенной системы перемешивания воздуха (технологические вентиляторы, обеспечивавшие равномерное распределение частиц по объему; рис. 1) с помощью системы очистки (выпускные HEPA-фильтры) добивались чистоты воздуха, характеризующейся наличием 0–1 частицы (0–353 частиц/м³) диаметром 1, 3, 5, 10 мкм по данным счетчика. Далее систему очистки (но не вентиляторы) отключали. Включали счетчик (представленные на рис. 3 данные получены начиная с этого момента), который при постоянном измерении количества частиц выдавал среднее их значение за 1 мин в течение 16 мин. Одновременно с включением счетчика начинали распыление раствора сахарозы в течение 5 мин. Затем распыление прекращали. Первый режим (оседание частиц без перемешивания): технологические вентиляторы отключены, система очистки включена, измерение числа частиц в течение 11 мин. Второй режим (оседание частиц с перемешиванием): технологические вентиляторы включены, система очистки отключена, измерение числа частиц в течение 11 мин. В этом режиме также отдельно проводили измерение числа частиц на фоне работы аэрозольного пробоотборника НИЯУ МИФИ. Третий режим (очистка воздуха от частиц с перемешиванием): технологические вентиляторы включены, система очистки включена, измерение числа частиц в течение 11 мин.

3. Сравнительный тест на эффективность сбора аэрозоля двумя пробоотборниками (тест №3)

Определение эффективности сбора полидисперсного аэрозоля проводили путем распыления ультразвуковым небулайзером раствора 10% сахарозы в дистиллированной воде с добавлением красителя флуоресцеина натрия в конечной концентрации 1 мкМ. Раствор готовили в объеме, достаточном для проведения всего цикла испытаний (100 мл). Детекцию интенсивности флуоресценции собранного красителя проводили на флуориметре Qubit 3.0 Fluorometer (Invitrogen; США) в относительных единицах флуоресценции (ОЕФ) при возбуждении на длине волны 470 нм и эмиссии 510–580 нм в пробирках объемом 0,6 мл (SSI; США) в карбонатном буфере с pH 9,6 (C3041; Sigma; Германия).

Все испытания в камере аналитического стенда проводили при включенных технологических вентиляторах. Каждое испытание начинали с очистки воздуха в камере аналитического стенда при предварительном включении вентиляции за 15 мин (чтобы убрать частицы из объема камеры) и дальнейшего промывания циклона

в автоматическом режиме при включенном импакторе. После окончания промывания циклона производили контрольный сбор пробы в течение 6 мин. Из полученной пробы брали на анализ 270 мкл, смешивали с 30 мкл десятикратного карбонатного буфера (pH 9,6) (C3041; Sigma; Германия) и проводили исследование уровня флуоресценции. Уровень флуоресценции не должен превышать фоновое значение флуоресценции пустых пробирок. Если значение оказывалось выше, проводили повторный цикл промывания циклона. При достижении минимального фонового свечения вентиляцию в камере отключали.

Генерацию аэрозоля проводили компрессорным небулайзером Comp Air NE-C28 в течение 5 мин. Перед каждым испытанием генератор аэрозоля отмывали и насухо вытирали безворсовой тканью. Заправляли 4 мл раствора сахарозы с флуоресцеином натрия. Одновременно с генератором аэрозоля на 6 мин включали аэрозольный пробоотборник, целиком помещенный в камеру. Таким образом, сбор аэрозоля продолжали в течение 1 мин после остановки генератора аэрозоля. Полученную пробу забирали на анализ и проводили цикл промываний, как указано выше.

Было проведено по пять повторов эксперимента для каждого из аэрозольных пробоотборников.

IV. Результаты испытания аналитического стенда

При вводе камеры в эксплуатацию в соответствии с ГОСТ Р ИСО 14644-3-2007 был проведен контроль технического состояния прибора, в рамках которого выполнена проверка целостности установленных HEPA-фильтров [7].

Результаты проверки (табл. 1) подтверждают целостность и работоспособность фильтров в соответствии со своим классом H14.

Скорость и эффективность очистки воздуха внутри камеры продемонстрирована на рис. 3. Графики А, В, Д выполнены в линейном формате шкалы ординат, дублируют графики Б, Г, Е, сделанные соответственно с использованием логарифмической шкалы ординат, но без третьего режима, и демонстрируют вклад технологических вентиляторов в работу бокса. За 11 мин исследования после распыления (см. график) при включенной системе очистки число частиц размером 1–5 мкм снизилось до единичных значений в течение 3–6 мин. Без фильтрации воздуха число частиц снижается гораздо медленнее особенно при выключенных технологических вентиляторах. Частицы по всей видимости оседают на внутренних поверхностях бокса. При включенной системе очистки достаточно 10 мин для полного очищения воздуха от частиц диаметром 1–5 мкм, распыляемых в соответствии с описанными выше условиями.

Аэрозольный пробоотборник НИЯУ МИФИ на фоне работы технологических вентиляторов с выключенной системой очистки воздуха за 7 мин работы собрал 92–99% пылевых частиц относительно количества, измеренного до начала сбора, но разное количество частиц на старте измерений (1 мкм — десятки миллионов, 3 мкм и 5 мкм — миллионы) здесь не учтено (табл. 2).

Результаты сравнения эффективности сбора полидисперсного аэрозоля по интенсивности трейсерного красителя представлены в табл. 3. Приведенные значения ОЕФ были нормированы на объем выдаваемой жидкой пробы для каждого устройства. Опытный образец отечественного аэрозольного пробоотборника НИЯУ МИФИ в среднем обеспечивает сбор на уровне системы

SASS, разница по *t*-критерию Стьюдента является статистически недостоверной по результатам 5 измерений ($p > 0,05$). Проведение 4 циклов промывания при включенной вентиляции в камере аналитического стенда оказалось достаточным для каждого прибора, чтобы флюоресценция красителя не детектировалась.

V. Обсуждение результатов эксперимента

Изучение свойств ПБА в воздушной среде осложнено необходимостью учитывать и минимизировать влияние на результаты исследования ряда специфических факторов. Прежде всего распыление ПБА в атмосфере, особенно ПБА с аэрозольным механизмом передачи, требует исключить воздействие этих агентов как на людей, так и на объекты окружающей среды, т. е. распыление необходимо делать в полностью изолируемых помещениях, отсеках, блоках. Такие помещения должны полностью ограничивать и защищать остальное пространство от объекта изучения, в них должна быть предусмотрена возможность быстрой и безопасной очистки воздуха от объекта предыдущего эксперимента, а также дезинфекции, и они должны отвечать требованиям официальных документов (государственных стандартов, санитарных правил и др.), регламентирующих обусловленное безопасностью устройство таких конструкций. Наконец, в эпоху высоких технологий такие конструкции должны быть созданы из высокотехнологичных и экологически безопасных материалов, а также должны быть оснащены различными датчиками (давления, температуры, скорости движения и чистоты воздуха и

др.) и электронными устройствами ввода информации и управления прибором [8–10].

Учет всех перечисленных факторов при создании конечного продукта, а также его уникальность (продукт не для массового использования) обуславливают достаточно внушительную стоимость для заказчика.

Для проведения описываемых работ в центрах коллективного пользования научным оборудованием в составе крупных специализированных учреждений РФ созданы установки для медико-биологических исследований. В качестве примера здесь приводится стенд аэрозольный испытательный статико-динамический, созданный на базе Государственного научно-исследовательского института биологического приборостроения (НИИБП), который «предназначен для проверки основных технических характеристик средств системы биологической безопасности и противодействия терроризму при контроле окружающего воздуха в динамических и статических условиях при температурах (от минус 20 до плюс 40 °С) и относительной влажности (от 30 до 95%) воздуха» [11]. Столь крупная конструкция (объем статических камер 8 и 26 м³) является примером идеального места для изучения аэрозольных ПБА и микроорганизмов, однако в настоящий момент в НИИБП отсутствует возможность работы с патогенами 3–4 группы, что ограничивает спектр тестируемых биоаэрозолей только имитаторами. Вести в таком учреждении научные исследования на постоянной основе представляется не очень удобным — скорее серию экспериментов, а строительство подобного объекта на собственной территории представляется довольно затратным.

Таблица 1. Проверка целостности НЕРА-фильтров, входящих в конструкцию оборудования

НЕРА-фильтр	Результат измерения числа частиц диаметром 0,3 мкм до фильтра (N_c)	Концентрация аэрозольных частиц до фильтра C_c (частиц/см ³) $C_c = \frac{N_c}{q_{vs} \cdot T_{stat}} \cdot dil$	Результат измерения числа частиц диаметром 0,3 мкм и более после фильтра	Верхнее референсное значение числа частиц диаметром 0,3 мкм и более за время сканирования после НЕРА-фильтра (N_{scan}) $N_{scan} \leq C_c \cdot P_{int} \cdot q_{vs} \cdot T_{scan}$	Флаг
Приточный	50109	1061	130	≤ 18779	Не превышено
Выпускной первой ступени очистки	91343	1935	4493	≤ 13701	Не превышено
Выпускной второй ступени очистки	49624	1051	281	≤ 18602	Не превышено
q_{vs}	скорость пробоотбора счетчика частиц согласно его паспорту = 472 см ³ /с				
dil	коэффициент разбавления пробы дилутором согласно его паспорту = 100				
T_{stat}	рекомендуемое время стационарного измерения = 10 с				
P_{int}	допускаемый интегральный коэффициент проскока установленных НЕРА-фильтров согласно ГОСТ Р ИСО 14644-3-2007 = 0,00025				
T_{scan}	время отбора пробы = 150 с, 60 с, 150 с соответственно				

Таблица 2. Интенсивность сбора пылевых частиц разного диаметра аэрозольным пробоотборником НИЯУ МИФИ

Время от начала эксперимента (мин)	1 мкм		3 мкм		5 мкм	
	Число	Процент	Число	Процент	Число	Процент
5	56829268	100%	6700900	100%	1289540	100%
7	41036585	72%	3322200	50%	555680	43%
8	21097561	37%	1062200	16%	160966	12%
10	11707317	21%	497200	7%	51038	4%
11	6951220	12%	265550	4%	17032,8	1%
12	4512195	8%	172890	3%	6402,4	0,5%

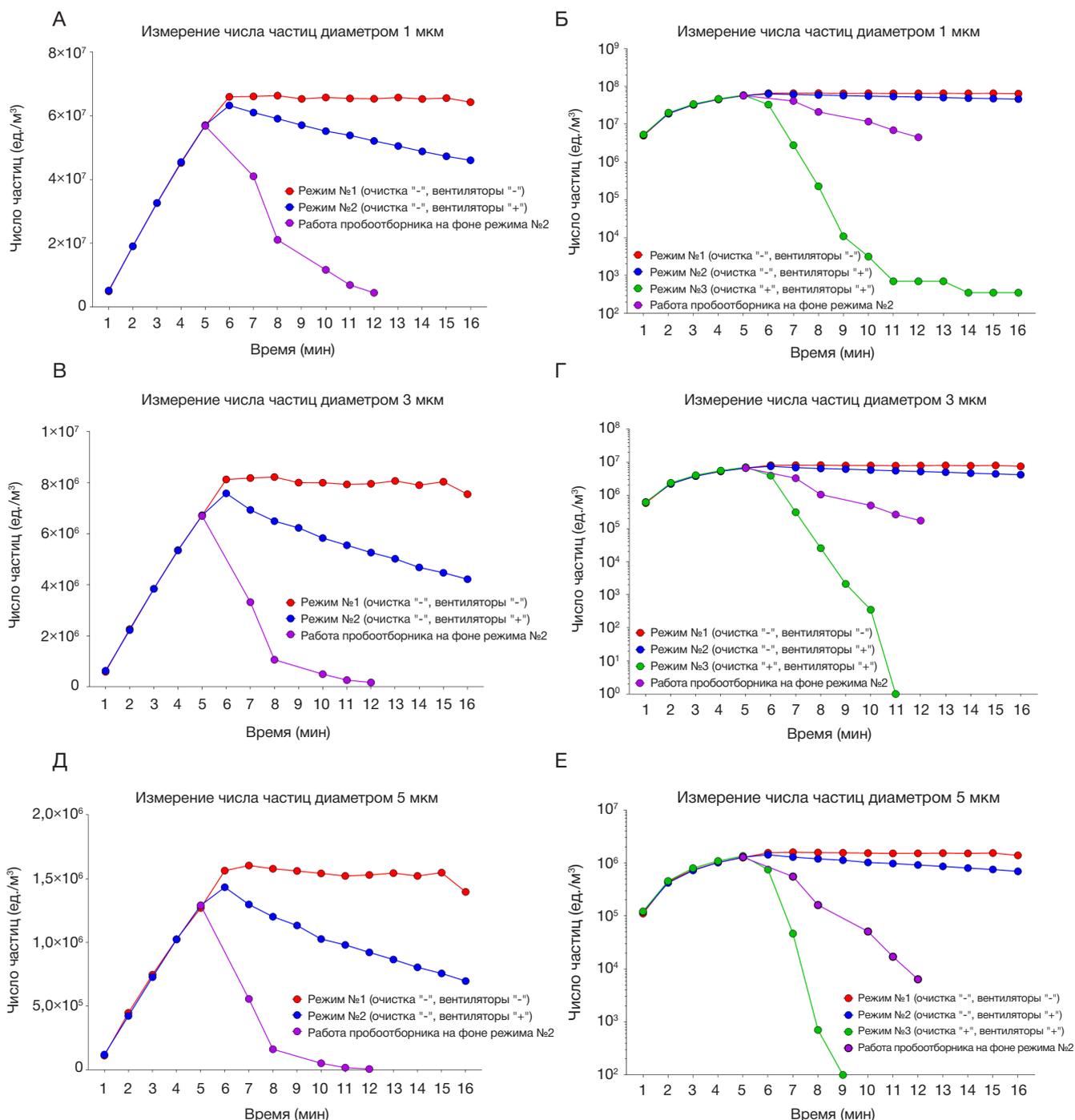


Рис. 3. Динамика очистки воздуха бокса БМБ-III-«Ламинар-С»-1,5 от частиц 1–5 мкм (А–Е) после 5 мин распыления с учетом работы технологических вентиляторов и установленной системы очистки

Более доступные варианты представлены на рынке различными БМБ III класса, которые защищают оператора и окружающую среду от заражения аэрозолями, возникающими при работе с ПБА, в том числе высших (особо опасных) групп патогенности, а также защищают рабочие агенты внутри рабочей камеры от внешней контаминации. Эти конструкции предназначены для решения определенных задач обычно с одним-двумя рабочими местами и с небольшим внутренним рабочим объемом до 1 м³.

Промежуточным вариантом из приведенных нам представляется описанный и апробированный в работе бокс БМБ-III-«Ламинар-С»-1,5 (380.150.01), главным назначением которого является проведение тестов и испытаний приборов для сбора аэрозолей модельных

биопатогенов и/или их анализа. Установленные в конструкцию современные HEPA-фильтры класса H14 задерживают более 99,995% всех частиц величиной более 0,3 мкм [12]. Созданные изначально для фильтрации воздуха от радиоактивных частиц с эффективностью не менее 99,97% такие фильтры имеют некоторые ограничения. Так, основные (но не все) бактерии имеют размеры от 0,4 (*Proteus mirabilis*) до 10 мкм (*Clostridium perfringens*), а патогенные грибы от 1 (*Pneumocystis jirovecii*) до 20 мкм (*Fusarium sp.*). Вирусы же «располагаются» в диапазоне от 0,02 (*Rhinovirus*) до 0,3 (*Mumps virus*) мкм [13]. Кроме того, инфекционная доза некоторых патогенов чрезвычайно мала и составляет, например для возбудителя Ку-лихорадки *Coxiella burnetii*, менее десяти

Таблица 3. Сравнение эффективности сбора полидисперсного аэрозоля

Аэрозольный пробоотборник	Средний объем пробы (мл)	Среднее ОЕФ/мл с погрешностью	Относительно SASS (%)
НИЯУ МИФИ	7,5	1441 ± 98	97,7
SASS	4,5	1475 ± 122	100

бактерий, которые вполне могут войти в число тех 0,005%, проскакивающих через фильтр при гипотетическом опыте с распылением этой бактерии в боксе в количестве 10^7 КОЕ и выше [14]. Исследования НЕРА-фильтров с использованием фага MS2 показали прямую зависимость эффективности фильтрации от скорости воздушного потока [15]. Таким образом, при выборе подобного оборудования необходимо учитывать специфику стоящих перед исследователем задач. Конструктивное исполнение бокса БМБ-III-«Ламинар-С»-1,5 (380.150.01) с двухкаскадной фильтрацией на выходе (расчетное значение на проскок частиц при такой конфигурации составляет $3 \times 10^{-9}\%$) и активной регуляцией для поддержания оптимальной скорости воздушного потока обеспечивает достаточный уровень защиты при работе с концентрациями ПБА 10^6 – 10^7 КОЕ/м³. Результаты оценки целостности и работоспособности фильтров (см. табл. 1), соответствующие требованиям официальных регламентирующих документов, указывают на допустимость использования бокса для решения большинства стандартных задач.

Исследование на скорость и эффективность очистки воздуха внутри бокса от частиц основных исследуемых размеров (1, 3 и 5 мкм) показало, что после распыления при выключенных системе очистки и технологических вентиляторах концентрация частиц в воздухе бокса

остаётся практически неизменной в течение достаточно длительного времени — 11 мин. При включенной системе технологических вентиляторов (принудительное перемешивание) в течение того же времени отмечалось объяснимое, но незначительное снижение концентрации частиц во всех трех диапазонах. Система очистки продемонстрировала высокую скорость и эффективность, удалив из воздуха примеси за период от 3 до 6 мин в зависимости от размера и количества распыленных частиц. В тесте №3 бокс позволил оценить некоторые характеристики прибора для сбора аэрозоля, разработанного в НИЯУ МИФИ, в сравнении с импортным аналогом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бокс БМБ-III-«Ламинар-С»-1,5 (380.150.01) является высококачественным продуктом для проведения аэрозольных исследований внутри отдельной лаборатории, с характеристиками биологической (микробиологической) безопасности III класса. Объем его рабочей камеры 4,275 м³ позволяет проводить аэрозольные исследования начального и среднего уровня с большинством ПБА, например по оценке и настройке устройств для сбора аэрозолей, изменений биологических аэрозолей в разных концентрациях в статическом и динамическом режиме.

Литература

- Lacey J, Dutkiewicz J. Bioaerosols and Occupational Lung Disease. *J Aerosol Sci.* 1994; 25 (8): 1371–404.
- Li Y, Leung GM, Tang JW, et al. Role of Ventilation in Airborne Transmission of Infectious Agents in the Built Environment — a Multidisciplinary Systematic Review. *Indoor Air.* 2007; (17): 2–18.
- Tu AT. Aum Shinrikyo's Chemical and Biological Weapons: More Than Sarin. *Forensic Sci Rev.* 2014; 26 (2): 115–20.
- Scher LJ, Temple WA, Butt GA, Beasley MD. Ricin as a weapon of mass terror—separating fact from fiction. *Environ Int.* 2009; 35 (8): 1267–71.
- СП 1.3.1285-2003. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности). Минюст РФ. Рег. ном. 4545 (15 мая 2003).
- ГОСТ Р ЕН 12469-2010. Биотехнология. Технические требования к боксам микробиологической безопасности. Росстандарт. Рег. ном. 1144-ст (29 декабря 2010).
- ГОСТ Р ИСО 14644-3-2007. Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды. Часть 3. Методы испытаний. Росстандарт. Рег. ном. 616-ст (27 декабря 2007).
- Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности): Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.3118-13. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2014. 195 с.
- Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней: Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.2322-08 (с изменениями на 29 июня 2011 года). Доступно по ссылке: <http://docs.cntd.ru/document/902091086>
- Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней. Дополнения и изменения N 1 к СП 1.3.2322-08. Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.2518-09. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2009. 8 с.
- Научно-технологическая инфраструктура Российской Федерации. Центры коллективного пользования научным оборудованием и уникальные научные установки. Доступно по ссылке: <http://ckp-rf.ru/usu/73550/>
- lamsys.ru [internet]. ЗАО "Ламинарные системы" Доступно по ссылке: <http://www.lamsys.ru/nera.php>
- Kowalski W. *Hospital Airborne Infection Control.* CRC Press. 2012; p. 42–48.
- EJ van Schaik, C. Chen, K. Mertens, MM Weber, JE Samuel. Molecular pathogenesis of the obligate intracellular bacterium *Coxiella burnetii*. *Nat Rev Microbiol.* 2013; 11 (8): 561–73.
- Heimbuch BK, Hodge JE, Wander JD. Viral Penetration of High Efficiency Particulate Air (HEPA) Filters. 5th ASM Biodefense and Emerging Diseases Research Meeting; 2007 27 Feb – 2 Mar; Washington DC. Available from: https://www.researchgate.net/publication/235151297_Viral_Penetration_of_High_Efficiency_Part particulate_Air_HEPA_Filters

References

- Lacey J, Dutkiewicz J. Bioaerosols and Occupational Lung Disease. *J Aerosol Sci.* 1994; 25 (8): 1371–404.
- Li Y, Leung GM, Tang JW, et al. Role of Ventilation in Airborne Transmission of Infectious Agents in the Built Environment — a

- Multidisciplinary Systematic Review. *Indoor Air*. 2007; (17): 2–18.
3. Tu AT. Aum Shinrikyo's Chemical and Biological Weapons: More Than Sarin. *Forensic Sci Rev*. 2014; 26 (2): 115–20.
 4. Schep LJ, Temple WA, Butt GA, Beasley MD. Ricin as a weapon of mass terror--separating fact from fiction. *Environ Int*. 2009; 35 (8): 1267–71.
 5. SP 1.3.1285-2003. Bezopasnost' raboty s mikroorganizmami I-II grupp patogennosti (opasnosti). Minjust RF. Reg. nom. 4545 (15 maja 2003).
 6. GOST R EN 12469-2010. Biotehnologija. Tehnicheskie trebovanija k boksam mikrobiologicheskoy bezopasnosti. Rosstandart. Reg. nom. 1144-st (29 dekabnja 2010).
 7. GOST R ISO 14644-3-2007. Chistye pomeschenija i svjazannye s nimi kontroliruemye sredy. Chast' 3. Metody ispytanij. Rosstandart. Reg. nom. 616-st (27 dekabnja 2007).
 8. Bezopasnost' raboty s mikroorganizmami I-II grupp patogennosti (opasnosti): Sanitarno-jepidemiologicheskie pravila SP 1.3.3118-13. M.: Federal'nyj centr gigieny i jepidemiologii Rospotrebnadzora; 2014. 195 s.
 9. Bezopasnost' raboty s mikroorganizmami III-IV grupp patogennosti (opasnosti) i vzbuditeljami parazitarnyh boleznej: Sanitarno-jepidemiologicheskie pravila SP 1.3.2322-08 (s izmenenijami na 29 ijunja 2011 g). Dostupno po ssylke: <http://docs.cntd.ru/document/902091086>
 10. Bezopasnost' raboty s mikroorganizmami III-IV grupp patogennosti (opasnosti) i vzbuditeljami parazitarnyh boleznej. Dopolnenija i izmenenija N 1 k SP 1.3.2322-08. Sanitarno-jepidemiologicheskie pravila SP 1.3.2518-09. M.: Federal'nyj centr gigieny i jepidemiologii Rospotrebnadzora; 2009. 8 s.
 11. Nauchno-tehnologicheskaja infrastruktura Rossijskoj Federacii. Centry kolektivnogo pol'zovanija nauchnym oborudovanijem i unikal'nye nauchnye ustanovki. Dostupno po ssylke: <http://ckp-rf.ru/usu/73550/>
 12. lamsys.ru [internet]. ZAO "Laminarnye sistemy" Dostupno po ssylke: <http://www.lamsys.ru/nera.php>
 13. Kowalski W. *Hospital Airborne Infection Control*. CRC Press. 2012; p. 42–48.
 14. EJ van Schaik, C. Chen, K. Mertens, MM Weber, JE Samuel. Molecular pathogenesis of the obligate intracellular bacterium *Coxiella burnetii*. *Nat Rev Microbiol*. 2013; 11 (8): 561–73.
 15. Heimbuch BK, Hodge JE, Wander JD. Viral Penetration of High Efficiency Particulate Air (HEPA) Filters. 5th ASM Biodefense and Emerging Diseases Research Meeting; 2007 27 Feb–2 Mar; Washington DC. Available from: https://www.researchgate.net/publication/235151297_Viral_Penetration_of_High_Efficiency_Part particulate_Air_HEPA_Filters