



БОКСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

П.Ляхов
marketing@awt.ru

Рассмотрены основные виды боксов биологической безопасности (БББ), используемых в микробиологической промышленности, медицинских и научно-исследовательских лабораториях. Даны главные понятия по биобезопасности и общая информация по типам таких боксов, рекомендации по их установке, сертификации и эксплуатации.

Понятие "биологическая опасность" означает "инфекционный агент (его часть), представляющий потенциальную опасность для здорового человека, животного или растения в результате прямого воздействия: заражения или непрямого влияния – через разрушение окружающей среды".

Центрами контроля заболеваний (США) (Centers for Disease Control) и национальными институтами здравоохранения (США) (National Institutes of Health) на основании лабораторной практики, используемых методик и современного оборудования для безопасной работы установлены уровни биологической опасности с 1 по 4, которые присваиваются в зависимости от применяемых в работе агентов и направлений деятельности лаборатории [1, с.11–14]. Основные характеристики уровней биологической опасности представлены в табл.1.

БББ – специальное оборудование, оснащенное ULPA-фильтрами и предназначенное для защиты оператора или одновременной защиты его и продукта от веществ, представляющих биологическую опасность. Термин может быть применим только к оборудованию, которое оснащается в соответствии с требованиями для классов I–III, регламентирующими конструкцию, скорость и распределение

воздушных потоков, системы вытяжки.

Основные международные стандарты для БББ [2, с.5]:

- американский стандарт NSF 49:2002, (US);
- европейский стандарт EN 12469:2000, (EN);
- австралийский стандарт AS 2252;
- японский стандарт JIS K 3800:2000.

КЛАССИФИКАЦИЯ БББ

В качестве примеров будем использовать модели БББ мирового лидера в этой сфере – компании ESCO (Сингапур) [3]. Основные параметры классификации таких боксов представлены в табл.2.

БББ I класса

Эти боксы характеризуются наиболее простой конструкцией. Аэрозоль, содержащий биологически опасные агенты, захватывается воздушным потоком, поступающим в рабочую зону бокса, и проходит через специальную систему фильтрации, обычно представляющую собой комбинацию префильтра и ULPA-фильтра.

БББ I класса эффективно защищают оператора и окружающую среду от агентов, представляющих биологическую опасность, но не защищают от загрязнения внешним воздухом продукт, с которым проводит-

ся работа. Эти изделия считаются устаревшими и в настоящее время их использование ограничено.

БББ II класса

Такие боксы характеризуются воздушным потоком, поступающим через открытое пространство перед рабочей зоной из окружающей среды (воздухозабор), который препятствует выбросу аэрозоля потенциально опасных агентов во внешнюю среду. В отличие от БББ I класса, входящий поток в таких боксах поступает в рабочую зону не сразу, а уходит в решетку воздухозабора, расположенную рядом с оператором. В результате предотвращается загрязнение продукта внешним воздухом.

БББ II класса характеризуются вертикальным ламинарным (однородным) нисходящим потоком воздуха, который очищается ULPA-фильтром и поступает в рабочую зону, что гарантирует отсутствие в рабочей зоне бокса микрочастиц и предотвращает загрязнение продукта.

Основное различие между БББ II класса заключается в процентном соотношении выходящего и рециркулирующего воздуха. Подобные боксы могут иметь разные системы вывода выходящего потока. Одни могут возвращать воздух непосредственно в лабораторию (ESCO: Airstream AC2,



Таблица 1. Микроорганизмы и уровни биоопасности [2, с.4].

Уровень	Описание ситуации	Примеры микроорганизмов	Правила безопасности	Необходимое оборудование (первичный барьер)	Дополнительное оборудование (вторичный барьер)
1	Случаи заболевания взрослого человека не известны	Bacillus subtilis Naegleria gruberi Infectious canine Hepatitis virus, E. coli	Стандартные правила микробиологической работы	Не требуется	Раковина
2	Связаны с человеческими заболеваниями. Опасность передачи: повреждение кожных покровов, слизистых оболочек, прием пищи	Measles virus Salmonellae Toxoplasma spp Hepatitis B Virus	Уровень 1 +: • ограничение доступа • значки биологической опасности • строгие меры предосторожности • следование правилам • удаления отходов и медицинский надзор • защита дыхательных путей (по необходимости)	Первичный барьер: БББ 1 или 2 классов и физические барьеры (защита от брызг или аэрозолей) Персональная защита: халат, перчатки, маски (по необходимости)	Уровень 1 +: • наличие автоклава
3	Местные или экзотические микроорганизмы. Переносятся воздушно-капельным путем. Могут привести к заболеваниям с летальным исходом	M. Tuberculosis, St. louis encephalitis virus, Coxiella Burnetii, Bacillus anthracis (production level)	Уровень 2 +: • ограничение доступа • деконтаминация отходов и лабораторной одежды • медицинский контроль сотрудников	Первичный барьер: БББ 1 или 2 классов, физические барьеры для открытых манипуляций с микроорганизмами Персональная защита: халат, перчатки, маски, защита дыхательных путей (по необходимости)	Уровень 2 +: • отделение лаборатории от общих помещений • система самозакрывающихся двойных дверей • отсутствие рециркуляции выходящего воздуха • создание в лаборатории пониженного давления
4	Опасные/экзотические микроорганизмы. Высокая опасность для человека. Передача воздушно-капельным или неизвестным путем	Ebola Zaire, Sin Nombre virus, Rift Valley Fever	Уровень 3 +: • смена одежды перед входом в лабораторию • душ после выхода из лаборатории • полная деконтаминация одежды после выхода из лаборатории	Первичный барьер: БББ 3 класса, либо БББ 1 или 2 классов в комбинации со спецкомбинезонами для персонала (полностью закрытое тело, подача воздуха, повышенное давление)	Уровень 3 +: • лаборатория расположена в отдельном здании (строго изолирована) • отдельные системы подачи/выхода вакуума, деконтаминации • дополнительные требования для микробиологических и биомедицинских лабораторий

Таблица 2. Классификация боксов биологической безопасности [2]

Класс	Скорость потока, м/с	Рециркуляция воздуха, %	Выходящий поток, %	Окружение контрольных зон	Выход воздуха	Уровень биоопасности
I	По US:0,38 По EN:0,70	0	100	Внешним воздухом	В помещение	1, 2 и 3
II A1	По US:0,38 По EN:0,40	70	30	Внешним воздухом	В помещение/негерметичную вытяжку	1, 2 и 3
II A2	По US:0,50 По EN:0,40	70	30	Зонами пониженного давления	В помещение/негерметичную вытяжку	1, 2 и 3
II B1	По US:0,50 По EN:0,40	30	70	Зонами пониженного давления	Только в закрытую вытяжку	1, 2 и 3
II B2	По US:0,50 По EN:нет	0	100	Зонами пониженного давления	Только в закрытую вытяжку	1, 2 и 3
III	Закрытая система, >12,455 кПА	0	100	Зонами пониженного давления	В помещение/закрытую вытяжку	1, 2, 3 и 4

Airstream DUO AC2, Labculture LA2 (рис.1), Labculture Plus LP2, Infinity FC2, Cytoculture CYT, Labculture Lead-Shielded LS2), другие подключаются к внешней вытяжке (ESCO: Airstream AB2 и Labculture LB2).

Все БББ II класса защищают оператора и окружающую среду от агентов, представляющих потенциальную биологическую опасность. Кроме того, эти боксы защищают продукт от возможного загрязнения и подходят для работы с микроорганизмами 1–3 уровней биоопасности.

БББ II класса, тип А (A1/A2)

Тип А – самый распространенный вариант БББ II класса. Более

того, такие боксы – самые распространенные среди всех подобных изделий. В них выходящий воздух составляет 30% общего воздушного потока, а 70% забранного воздуха поступает на рециркуляцию в рабочую зону, создавая нисходящий поток.

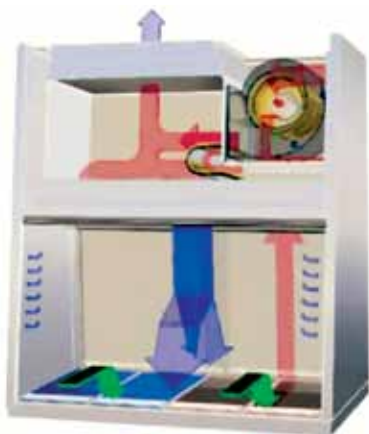
При эксплуатации боксов типа А в них создаются зоны повышенного давления, а выходящий воздух поступает непосредственно назад в лабораторию. ULPA-фильтры эффективно очищают выходящий воздух от различных аэрозолей, но не задерживают химические испарения. Если в работе наряду с биологическими опасными агентами используются токсичные химические веще-

ства, подобные боксы использовать не рекомендуется.

В БББ II класса типа А1 зоны повышенного давления непосредственно граничат с окружающей средой, а в боксах типа А2 (ESCO: Labculture LA2, Labculture Plus LP2, Infinity FC2) они дополнительно окружены специальными зонами пониженного давления. При непредвиденной протечке воздух из контрольной зоны повышенного давления, содержащий потенциально опасные вещества, не падает наружу, а задерживается зоной низкого давления [1, с.3]. Поэтому БББ II класса типа А1 считаются устаревшими, а боксы типа А2 (рис.2) – максимально безопасными для работы. Таким



Рис.1. БББ II класса, тип A2 (Labculture LA2-4A1)



- – загрязненный воздух
- – наружный воздух
- – очищенный воздух

Рис.2. Направление воздушного потока в БББ II класса типа A2 (Labculture LA2)

образом, сейчас БББ II класса типа А – это боксы типа А2, в которых 70% воздуха из зоны повышенного давления поступает на рециркуляцию в виде нисходящего потока, а 30% – проходит очистку HEPA-фильтром и выводится наружу.

Существуют боксы для специфического применения, например, Cytoculture СУТ предназначены для работы с препаратами для химиотерапии и цитотоксическими веществами; Labculture Lead-Shielded LS2 – специально для работы с радиоизотопами,

используемыми в медицине; они обеспечивают радиационную и биологическую защиту.

БББ II класса, тип В (В1/В2)

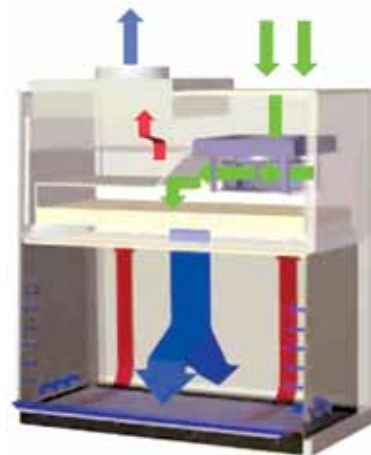
Главное отличие таких боксов в том, что их нужно обязательно подключать к внешней вытяжке с внешним вентилятором. Собственный вентилятор бокса типа В создает только нисходящий поток, а входящий поток воздуха через решетку воздухозабора, создающий динамический барьер для защиты оператора, обеспечивается внешним вентилятором. При отсутствии внешнего вентилятора воздух, содержащий потенциально опасные микробиологические агенты, будет поступать из рабочей зоны прямо на оператора.

БББ II класса типа В рекомендуются главным образом при микробиологической работе с летучими химическими соединениями. Независимо от их наличия этот тип боксов характеризуется повышенным уровнем биологической безопасности по сравнению с типом А. Поскольку в боксах типа В выходящий воздух подается непосредственно во внешнюю вытяжку, существует дополнительная гарантия безопасности оператора в случае непредвиденного нарушения работы ULPA-фильтра на выходе [2, с.7, 8].

Боксы БББ II класса типа В1 были впервые заказаны Американским национальным институтом рака. В этих боксах 30% воздуха из контрольной зоны направляется на рециркуляцию, а 70% – на выход. Если проводить все манипуляции у задней стенки рабочей зоны, в них можно пренебречь рециркуляцией. Однако из-за ее существования проводить работы с использованием летучих химических соединений в данном типе бокса не рекомендуется [2, с.8].

В БББ II класса типа В2 (ESCO: Airstream AB2 (рис.3), Labculture LB2 (рис.4) рециркуляция воздуха отсутствует. Поток воздуха забор и нисходящий очищаются ULPA-фильтром на выходе без рециркуляции. Поскольку

в боксах этого типа рециркуляция отсутствует полностью, они рекомендуются для микробиологических работ с использованием токсических химических веществ. Именно боксы типа В2 – наиболее безопасные среди всех БББ II класса. Система вытяжной вентиляции выходящего потока является дополнительной гарантией безопасной работы в случае непредвиденного сбоя в системе нисходящего



- – загрязненный воздух
- – наружный воздух
- – очищенный воздух

Рис.3. Направление воздушного потока в БББ II класса типа В2 (Airstream AB2)



Рис.4. БББ II класса типа В2 (Labculture LB2-4A1)

потока и/или ULPA-фильтрации на выходе.

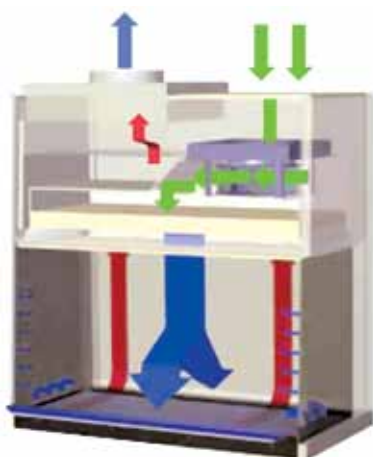
В боксах БББ II класса типа В2 может быть дополнительно усилена функция защиты окружающей среды. Между ULPA-фильтром, очищающим воздух на выходе, и в конечной точке выхода воздуха может быть установлена дополнительная система его очистки от химических соединений.

БББ III класса

Такие боксы (ESCO Airstream AC3 (AC-4B1) (рис.5, 6) обеспечивают уровень безопасности, который не может быть достигнут в боксах I и II классов. Все БББ III класса обычно имеют цельносварной каркас и абсолютно герметичную конструкцию. Работа осуществляется с помощью герметичных перчаток, встроенных в переднюю панель бокса. В боксе III класса обязательно поддерживается пониженное давление, что является дополнительной гарантией безопасности.

Во всех БББ III класса поступающий воздух проходит очистку ULPA-фильтром, что обеспечивает защиту продукта и предотвращает кросс-загрязнение. Воздушный поток на выходе проходит очистку ULPA-фильтром и прокаливается. Альтернативный способ очистки выходящего воздуха – последовательная двойная ULPA-фильтрация. Сбоку БББ III класса располагается шлюз, позволяющий переносить материалы в рабочую зону. Выходящий поток в таких боксах обычно поступает непосредственно в лабораторию, однако возможно подключение бокса и к общей вытяжке. В этом случае микробиологическая работа может проводиться с использованием токсичных веществ.

БББ III класса подходят для операций с микробиологическими агентами 1–4 уровней биопасности [2, с.9] и часто используются при работе со смертельно опасными микроорганизмами.



- – загрязненный воздух
- – наружный воздух
- – очищенный воздух

Рис.5. Направление воздушного потока в БББ III класса типа В2 (Airstream AC3)



Рис.6. БББ III класса (Airstream AC-4B1)

ВЫБОР БББ

При выборе в первую очередь следует ориентироваться на необходимый тип защиты: защита продукта; оператора от микроорганизмов 1–4 уровней биологической опасности или от воздействия радионуклидов и летучих токсичных химических веществ; от всех перечисленных факторов (табл.3).

Не следует работать с летучими или токсичными химическими веществами в боксах с системой рециркуляции воздуха, не подключенных к об-

щей вытяжке, т.е. в БББ I класса, II класса типа А1, А2. БББ II класса типа В1 подходят для работ с небольшим количеством летучих химических компонентов или радионуклидов. БББ II класса типа В2, имеющие систему выведения всего воздушного потока во внешнюю вытяжку без рециркуляции, незаменимы при микробиологических работах с использованием значительных количеств радионуклидов и летучих химических веществ [2, с.11].

РАСПОЛОЖЕНИЕ БОКСА В ЛАБОРАТОРИИ

Очень важно правильно выбрать место для установки БББ. В связи с тем, что скорость потока входящего воздуха у фронтального стекла такого бокса составляет примерно 0,45 м/с, целостность воздушного потока может быть нарушена колебаниями воздуха, возникающими при передвижениях людей по лаборатории, открывании и закрывании дверей, сквозняке из окон и т.п.

Идеальное расположение БББ – вдали от путей перемещения персонала и вне всевозможных возмущений воздушных потоков. По возможности необходимо оставлять 30-см зазор между стенками бокса и помещения для облегчения его технического обслуживания. Расстояние между крышей бокса и потолком помещения должно быть 30–35 см, что позволяет проводить корректные измерения выходящих воздушных потоков и замену фильтра на выходе [2, с.12].

ЕЖЕГОДНАЯ СЕРТИФИКАЦИЯ (ВАЛИДАЦИЯ)

Все БББ подлежат обязательной сертификации (валидации), проводимой только квалифицированными специалистами испытательной лаборатории, проверяющими и оценивающими работу бокса, функционирование и безопасность всех его систем согласно протоколам IQ, OQ и PQ. Рекомендованные



Таблица 3. Рекомендации по выбору БББ [4, с.29]

Тип защиты	Рекомендуемый класс БББ	Модели боксов
Защита при работе с микроорганизмами 1–3 уровней биопасности	I–III	Airstream AC2, Airstream DUO Class II AC2, Labculture LA2, Labculture Plus LP2, Infinity FC2, Cytoculture CYT, Labculture Lead-Shielded LS2, Airstream AC3
Защита при работе с микроорганизмами 4 уровня биопасности, лаборатория с перчаточными боксами	III	Airstream AC3
Защита при работе с микроорганизмами 4 уровня биопасности в оснащенной лаборатории	I–II	Airstream AC2, Airstream AC2, Labculture LA2, Labculture Plus LP2, Infinity FC2, Cytoculture CYT
Защита продукта	II–III при наличии ламинарного потока	Airstream AC2, Airstream DUO AC2, Labculture Class II LA2, Labculture Plus LP2, Infinity FC2, Cytoculture CYT, Labculture Lead-Shielded LS2, Airstream AC3
Защита от летучих химических веществ и радионуклидов (в следовых количествах)	II B1, II A2 с подключением к внешней вытяжке	Labculture Lead-Shielded LS2, Labculture LA2, Labculture Plus LP2, Infinity FC2
Защита от летучих химических веществ и радионуклидов	I, II B2, III	Labculture Lead-Shielded LS2 Airstream AB2 и Labculture LB2 Airstream AC3

сроки валидации: при установке бокса в лаборатории, затем регулярно с периодичностью раз в год [2, с.14].

При оценке эффективности работы бокса проверяются герметичность, возможность утечки в ULPA-фильтрах, профиль скорости нисходящего потока, скорость потока у открытого пространства, соотношение разреженного давления и мощности воздушных потоков тестируются в рабочей зоне, ра-

бота системы сигнализации и блокираторов. Дополнительно проверяется возможность утечки в электросети, интенсивность освещения ламп дневного света и УФ-ламп, уровень шума и вибрации.

Литература

1. Biosafety in Microbiological and Biomedical and Biomedical Laboratories (BMBL). 4th Edition. Office of Health and Safety (OHS), Centers for

Disease Control and Prevention (CDC). US Department of Health.

2. Боксы биологической безопасности. Справочное пособие. АВТ Медикэлс. – М.: 2006.

3. User & Service Manual. Labculture® Class II Type A2 Biohazard Safety Cabinet: ESCO Micro Pte Ltd.

4. Laboratory Biosafety Manual. Second Edition (revised). Interim guideless. World Health Organization.