

## Биобезопасность и боксы биологической безопасности

**В данной статье рассмотрены основные виды боксов биологической безопасности, используемые в медицинских и научно-исследовательских лабораториях. В ней даны основные понятия по биобезопасности и представлена общая информация по всем типам боксов биологической безопасности, описаны рекомендации по установке и эксплуатации и сертификации боксов.**

Понятие «биологическая опасность» означает «инфекционный агент (или его часть), представляющий потенциальную опасность для здорового человека, животного и/или растения посредством 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, наличие современного оборудования для безопасной работы и удобства использования оборудования были установлены уровни биологической безопасности с 1 по 4. Данные уровни присваиваются для обозначения биологической опасности в зависимости от используемых в работе агентов и деятельности лаборатории. Основные характеристики уровней биобезопасности сведены в таблицу 1.

Термин «бокс биологической безопасности» обозначает специальное оборудование, оснащенное ULPA фильтром/фильтрами и предназначенное для защиты оператора или одновременной защиты оператора и продукта от веществ, представляющих биологическую опасность. Этот термин может быть применим только к тому оборудованию, которое оснащается установленными требованиями для класса I, класса II или класса III, регламентирующими конструкцию, скорости и распределение воздушных потоков, системы вытяжки.

Основные международные стандарты для боксов биологической безопасности:

- Американский стандарт NSF 49:2002, (сокр. US)
- Европейский стандарт EN 12469:2000, (сокр. EN)
- Австралийский стандарт AS 2252
- Японский стандарт JIS K 3800:2000

### Классификация боксов биологической безопасности

В этой статье, в качестве примеров будем использовать модели боксов биологической безопасности мирового лидера ESCO (Сингапур). Основные параметры классификации боксов биологической безопасности представлены в таблице 2.

#### Боксы биологической безопасности I класса

Боксы биологической безопасности I класса характеризуются наиболее простой конструкцией. Аэрозоль, содержащий биологически опасные агенты захватывается воздушным потоком, поступающим в рабочую зону

бокса, и проходит через специальную систему фильтрования. Система фильтрования обычно представляет собой комбинацию префильтра и ULPA фильтра.

Боксы биологической безопасности I класса эффективно защищают оператора и окружающую среду от агентов, представляющих биологическую опасность, но не защищают от загрязнения внешним воздухом продукт, с которым проводится работа в боксе. Биологической безопасности I класса считаются устаревшими. В настоящее время использование таких боксов ограничено.

#### Боксы биологической безопасности II класса

Боксы биологической безопасности II класса и характеризуются воздушным потоком, поступающим через открытое пространство перед рабочей зоной из окружающей среды (воздухозабор). Как известно, воздухозабор препятствует возможности выброса аэрозоля потенциально опасных агентов из рабочей зоны во внешнюю среду. В отличие от боксов биологической безопасности I класса, входящий поток в боксах биологической безопасности II класса поступает не сразу в рабочую зону, а уходит в решетку воздухозабора, расположенную рядом с оператором. Таким образом, предотвращается контаминация продукта внешним воздухом.

Боксы биологической безопасности II класса характеризуются вертикальным ламинарным (т.е. строго однородным) потоком воздуха, который проходит очистку ULPA-фильтром и поступает в рабочую зону бокса. Этот поток называется нисходящим потоком. Он гарантирует отсутствие в рабочей зоне бокса микрочастиц и предотвращает контаминацию продукта.

Основное различие между боксами биологической безопасности II класса заключается, в основном, в процентном соотношении выходящего и рециркулирующего воздуха. Кроме того, боксы биологической безопасности II класса могут иметь разные системы вывода выходящего потока. Одни боксы могут возвращать воздух непосредственно в лабораторию (модели ESCO: Airstream AC2, Airstream DUO AC2, Labculture LA2, Labculture Plus LP2, Infinity FC2, Cytoculture CYT, Labculture Lead-Shielded LS2), другие должны быть подключены к внешней вытяжке (модели ESCO: Airstream AB2 и Labculture LB2).

Все боксы биологической безопасности II класса защищают и оператора и окружающую среду от агентов, представляющих потенциальную биологическую угрозу. Кроме того, боксы биологической безопасности II класса защищают продукт от возможной контаминации и подходят для работы с микроорганизмами 1, 2 и 3 уровнем биобезопасности.

# ESCO



Оборудование для чистых помещений

Боксы биологической безопасности

CO<sub>2</sub>/лабораторные инкубаторы

Оборудование для фармации

Ламинарные шкафы

Вытяжные шкафы

ПЦР



EN12469 **SFDA**

Представительство в России и странах СНГ Компания ООО «АВТ МЕДИКЭЛС»



**AWTech**

Advanced Worldwide Technologies

ISO 9001:2008

127566, г. Москва, Алтуфьевское шоссе, д. 48, корпус 1

T: +7 (495) 937-34-41, Ф: +7 (495) 937-34-18

info@awt.ru

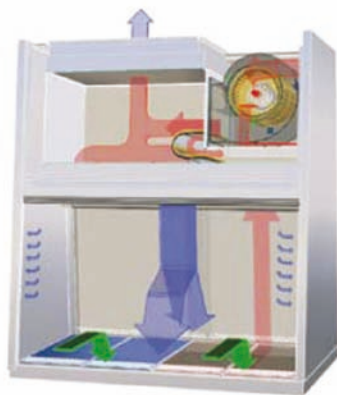
www.awt.ru

Таблица 1. Микроорганизмы и уровни биобезопасности

Уровень	Описание микроорганизмов	Пример 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, прием пищи, слизистые оболочки	Measles virus, Salmonellae, Toxoplasma spp, Hepatitis B Virus	Уровень 1 и: • ограничение доступа • знаки биологической опасности • строгие меры предосторожности • следование правилам • удаления отходов и медицинский надзор • защита дыхательных путей по необходимости	Первичный барьер: боксы биологической безопасности 1 или 2 класса и физические барьеры (защита от брызг или аэрозолей) Персональная защита: халат, перчатки, маски (по необходимости)	Уровень 1 и: • 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 и: • ограничение доступа • деконтаминация отходов • деконтаминация лабораторной одежды • медицинский контроль сотрудников	Первичный барьер: боксы биологической безопасности 1 или 2 класса и физические барьеры для всех открытых манипуляций с микроорганизмами Персональная защита: халат, перчатки, маски и защита дыхательных путей (по необходимости)	Уровень 2 и: • 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 здоровья человека. Передача воздушно-капельным или неизвестным путем	Ebola Zaire, Sin Nombre virus, Rift Valley Fever	Уровень 3 и: • смена одежды перед входом в лабораторию • душ после выхода из лаборатории • полная деконтаминация одежды после выхода из лаборатории	Первичный барьер: Боксы биологической безопасности 3 класса, либо боксы биологической безопасности 1 или 2 класса в комбинации со спецкомбиназонами для персонала (полностью закрытое тело, подача воздуха, повышенное давление)	Уровень 3 и: • расположение лаборатории в отдельном здании (или строго изолировано) • отдельные системы подачи/выхода вакуума, деконтаминации • следование дополнительным требованиям для микробиологических и биомедицинских лабораторий

Таблица 2. Классификация боксов биологической безопасности

Класс	Скорость потока, м/с	Рециркуляция воздуха (%)	Выходящий поток (%)	Окружение контрольных зон	Воздух выходит в	Уровень биобезопасности
I	По US:0,38 По EN:0,70	0	100	внешним воздухом	в комнату	1,2 и 3
II A1	По US:0,38 По EN:0,40	70	30	внешним воздухом	в комнату/негерметичную вытяжку	1,2 и 3
II A2	По US:0,50 По EN:0,40	70	30	зонами пониженного давления	в комнату/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 комнату/закрытую вытяжку	1,2,3 и 4



**Рис. 1. Направление воздушного потока в боксе биологической безопасности II класса тип A2 на примере модели Labculture LA2**

- — загрязненный воздух,
- — наружный воздух,
- — очищенный воздух

### Боксы биологической безопасности II класса, тип A (A1/A2)

Тип А – это самый распространенный тип боксов биологической безопасности II класса. Более того, боксы биологической безопасности класса II типа А – самые распространенные среди всех боксов биологической безопасности. В них выходящий воздух составляет 30% общего воздушного потока, а 70% общего забранного воздуха поступает на рециркуляцию в рабочую зону, создавая нисходящий поток.

Во время 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 они не задерживают

химические испарения. Если в ходе работы наряду с биологически опасными агентами используются токсические химические вещества, эти боксы использовать не рекомендуется.

В боксах биологической безопасности II класса типа A1 зоны повышенного давления непосредственно граничат с окружающей средой, а в боксах типа A2 (модели ESCO: Labculture LA2, Labculture Plus LP2, Infinity FC2) зоны повышенного давления дополнительно окружены специальными зонами пониженного давления. В случае непредвиденной протечки, воздух из контрольной зоны повышенного давления, содержащий потенциально опасные вещества, не попадет наружу, а будет задержан зоной низкого давления. Поэтому в настоящее время боксы биологической безопасности II класса типа A1 считаются устаревшими, а боксы типа A2 — максимально безопасными для работы. Таким образом, сейчас тип A боксов биологической безопасности II класса — это боксы типа A2, в которых 70% воздуха из зоны повышенного давления поступает на рециркуляцию в виде нисходящего потока, а 30% воздуха проходит очистку ULPA фильтром и выходит наружу.

Существуют боксы для специфического применения, например модель Cytoculture CYT предназначена для работы с препаратами для химиотерапии и цитотоксическими веществами, а модель Labculture Lead-Shielded LS2 предназначена специально для работы с радиоизотопами, используемыми в медицине и обеспечивает как радиационную, так и биологическую защиту.



Рис. 2. Бокс биологической безопасности, класс II тип A2 (Labculture LA2-4A1)

### Боксы биологической безопасности II класса, тип В

Главное отличие боксов биологической безопасности типа В от типа А состоит в том, что боксы типа В должны быть обязательно подключены 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.

Во всех боксах биологической безопасности II класса типа В2 может быть дополнительно усилена функция защиты окружающей среды. Между ULPA-фильтром, очищающим воздух на выходе, и конечной точкой выхода воздуха по системе вытяжных трубопроводов в окружающую среду может быть установлена дополнительная система очистки воздуха от химических соединений.

Боксы биологической безопасности II класса типа В, главным образом, рекомендуются при микробиологической работе, в которой используются летучие химические соединения. Однако, независимо от наличия в работе химические вещества, этот тип боксов характеризуется повышенным уровнем биологической безопасности по сравнению с классом 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.

### Боксы биологической безопасности II класса, тип В1

Характеристики боксов биологической безопасности II класса типа В1 были впервые заказаны Американским Национальным Институтом Рака. В боксах этого типа 30% воздуха из контрольной зоны направляется на рециркуляцию, а 70% — на выход.

В боксах типа В1 можно пренебречь рециркуляцией, если проводить все манипуляции у задней стенки рабочей зоны. Однако, из-за существующей рециркуляции, проведение работ с использованием летучих химических соединений в данном типе бокса не рекомендуется.

### Боксы биологической безопасности II класса, тип В2

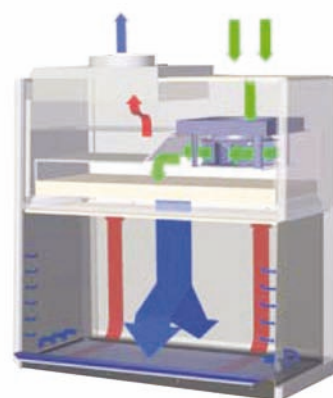


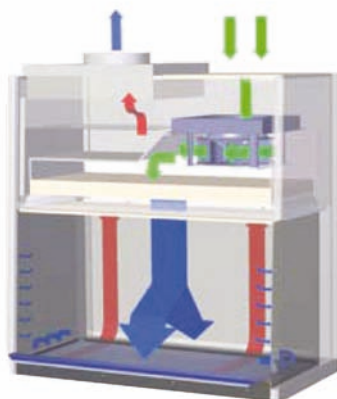
Рис. 3. Направление воздушного потока в боксе биологической безопасности II класса тип В2 на примере модели Airstream AB2  
 ● — загрязненный воздух,  
 ● — наружный воздух,  
 ● — очищенный воздух

В боксах биологической безопасности II класса типа В2 (модели ESCO: Airstream AB2, Labculture LB2) рециркуляция воздуха отсутствует. И поток воздухозабора, и нисходящий поток проходят очистку ULPA фильтром на выходе без рециркуляции. Поскольку в боксах этого типа рециркуляция отсутствует полностью, они рекомендуются для проведения микробиологических работ с использованием токсических химических веществ. Именно боксы типа В2 являются наиболее безопасными среди всех боксов биологической безопасности II класса. Система вытяжной вентиляции всего выходящего потока является дополнительной гарантией безопасной работы в случае непредвиденного сбоя в системе нисходящего потока и/или ULPA-фильтрации на выходе.



**Рис. 4.**  
Бокс биологической безопасности, класс II тип B2 (Labculture LB2-4A1)

### Боксы биологической безопасности III класса



**Рис. 5.** Направление воздушного потока в боксе биологической безопасности III класса на примере модели Airstream AC3  
 ● — загрязненный воздух,  
 ● — наружный воздух,  
 ● — очищенный воздух

Боксы биологической безопасности III класса (модель ESCO Airstream AC3) обеспечивают абсолютный уровень безопасности, который не может быть достигнут в них в боксах I класса, ни в боксах II класса. Все боксы биологической безопасности III класса обычно имеют цельносварной каркас и абсолютно герметичную конструкцию. Работа в боксе III класса осуществляется с помощью герметичных перчаток, встроенных в переднюю панель бокса. В боксе III класса обязательно поддерживается пониженное давление, что является дополнительной гарантией безопасной работы.

Во всех боксах биологической безопасности III класса поступающий воздух проходит очистку ULPA фильтром, что обеспечивает защиту продукта и предотвращает кросс-контаминацию. Воздушный поток на выходе проходит очистку ULPA фильтром и прокаливается. Альтернативный способ очистки выходящего воздуха: последовательная двойная фильтрация ULPA фильтрами. Сбоку бокса биологической безопасности III класса располагается шлюз, который позволяет переносить материалы в рабочую зону бокса. Выходящий поток в боксах биологической безопасности III класса обычно поступает непосредственно в лабораторию, однако возможно подключение бокса и к общекомнатной вытяжке. В случае подключения бокса биологической безопасности III класса к внешней вытяжке, микробиологическая работа в нем может проводиться с использованием токсических веществ.

Боксы биологической безопасности III класса подходят для работ с микробиологическими агентами 1, 2, 3 и 4 уровнями биобезопасности. Эти боксы часто используются при работе со смертельно опасными микроорганизмами.



**Рис. 6.**  
Бокс биологической безопасности, класс III (Airstream AC3-4B1)

### Выбор бокса биологической безопасности

При выборе бокса биологической безопасности в первую очередь следует ориентироваться на то, какой тип защиты необходим в планируемой работе: защита продукта; защита оператора от микроорганизмов 1–4 уровней биологической безопасности; защита оператора от воздействия радионуклидов и летучих токсичных химических веществ; защита от всех перечисленных факторов. Рекомендации по выбору бокса биологической безопасности в зависимости от требуемого типа защиты представлены в таблице 3.

Не следует работать с летучими или токсичными химическими веществами в боксах с системой рециркуляции воздуха и не подключенных к общекомнатной вытяжке, т.е. в боксах биологической безопасности I класса, II класса тип A1, II класса тип A2. Боксы биологической безопасности II класса тип B1 подходят для работ с небольшим количеством летучих химических компонентов или радионуклидов. Боксы биологической безопасности II класса тип B2, имеющие систему выведения всего воздушного потока во внешнюю вытяжку без рециркуляции, незаменимы при микробиологических работах с использованием значительных количеств радионуклидов и летучих химических веществ.

### Выбор места расположения бокса в лаборатории

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

Таблица 3. Рекомендации по выбору бокса биологической безопасности

Тип защиты	Рекомендуемый класс БББ	Модели боксов
Защита оператора при работе с микроорганизмами 1-3 уровня биобезопасности	класс I, класс II, класс III	Airstream AC2, Airstream DUO Class II AC2, Labculture LA2, Labculture Plus LP2, Infinity FC2, Cytoculture CYT, Labculture Lead-Shielded LS2 Airstream AC3
Защита оператора при работе с микроорганизмами 4 уровня биобезопасности, лаборатория с перчаточными боксами	класс III	Airstream AC3
Защита оператора при работе с микроорганизмами 4 уровня биобезопасности в соответственно оснащенной лаборатории	класс I, класс II	Airstream AC2, Airstream AC2, Labculture LA2, Labculture Plus LP2, Infinity FC2, Cytoculture CYT,
Защита продукта	класс II, класс 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)	класс II B1, класс 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	класс I, класс II B2, класс III	Labculture Lead-Shielded LS2 Airstream AB2 и Labculture LB2 Airstream AC3

Источник: Laboratory Biosafety Manual. Second Edition (revised). Interim guidelines. World Health Organization, p.29.

Идеальное расположение бокса биологической безопасности находится вдали от всех путей перемещения персонала и вне всевозможных возмущений воздушных потоков. По возможности, необходимо оставлять 30 см зазор между стенками бокса и стеной помещения для облегчения технического обслуживания. Расстояние между крышей бокса и потолком помещения должно быть 30–35 см, что позволяет проводить корректные измерения выходящих воздушных потоков и производить замены фильтра на выходе.

### Ежегодная сертификация (валидация)

Все боксы биологической безопасности подлежат обязательной сертификации (валидации), которая проводится только квалифицированными специалистами

испытательной лаборатории, проверяющими и оценивающими работу бокса, функционирование и безопасность всех систем согласно валидационным протоколам IQ и OQ и PQ. Рекомендованные сроки проведения валидации: при первой инсталляции бокса в лаборатории и затем регулярно, с периодичностью раз в год.

При оценке эффективности работы бокса проводится проверка герметичности, возможность утечки в ULPA фильтрах, профиль скорости нисходящего потока, скорость потока у открытого пространства, соотношение разреженного давления и мощности воздушных потоков, тестируются воздушные потоки в рабочей зоне, проверяется работа системы сигнализации и блокираторов. Дополнительно проверяется возможность утечки в электросети, тестируются интенсивность освещения ламп дневного света и УФ ламп, уровень шума и вибрации.

### Список литературы

1. User & Service Manual. Labculture® Class II Type A2 Biohazard Safety Cabinet: ESCO Micro Pte Ltd.
2. 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.
3. Laboratory Biosafety Manual. Second Edition (revised). Interim guidelines. World Health Organization.
4. Боксы биологической безопасности. Справочное пособие. АВТ Медикэлс, Москва, 2006.