Изображение Государственного Герба Республики Казахстан

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

**БИОТЕХНОЛОГИЯ**

**Критерии эффективности боксов микробиологической безопасности**

**Основные требования**

**СТ РК EN 12469\_**

*(EN 12469:2000* *Biotechnology - Performance criteria for microbiological safety cabinets, IDT)*

***Настоящий проект стандарта не подлежит применению до его утверждения***

***Настоящий национальный стандарт является идентичным***

***воспроизведением европейского стандарта EN 12469:2008 и принят***

***с разрешения CEN, по адресу: пр. Марникс 17, В-1000 Брюссель***

**Комитет технического регулирования и метрологии**

**Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан**

**(Госстандарт)**

**Астана**

**Предисловие**

**1 РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН** Республиканским государственным предприятием на праве хозяйственного ведения «Казахстанский институт стандартизации и метрологии» Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан

**2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Приказом Председателя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан № \_\_ от « » \_\_\_\_ 20\_\_года

**3** Настоящий стандарт идентичен европейскому стандартуЕN 12469:2000 Biotechnology - Performance criteria for microbiological safety cabinets (Биотехнология. Критерии эффективности боксов микробиологической безопасности).

Перевод с английского языка (en)

Официальные экземпляры европейских стандартов, на основе которых подготовлен (разработан) настоящий национальный стандарт и на которые даны ссылки, имеются в Едином государственном фонде нормативных технических документов

В разделе «Нормативные ссылки» и тексте стандарта ссылочные европейские стандарты актуализированы

Сведения о соответствии стандарта ссылочным европейским стандартам, приведены в дополнительном приложении В.А

Степень соответствия - идентичная (IDT)

Настоящий стандарт разработан на основе европейского стандарта   
ЕN 12469:2000 «Биотехнология. Критерии эффективности боксов микробиологической безопасности».

**4** В настоящем стандарте реализованы нормы Закона Республики Казахстан   
от 21 мая 2022 года № 122-VII ЗРК «О биологической безопасности» и Закона Республики Казахстан «О техническом регулировании» от 30 декабря 2020 года № 396 VI ЗРК.

**5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ**

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом каталоге документов по стандартизации, а текст изменений и поправок – в периодически издаваемых информационных указателях стандартов. В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в периодически издаваемых информационных указателях стандартов*

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан

**Содержание**

|  |  |
| --- | --- |
|  | Страница |
| 1 Область применение | 2 |
| 2 Нормативные ссылки | 2 |
| 3 Термины и определения | 3 |
| 4 Опасности | 3 |
| 5 Классы показателей | 3 |
| 6 Классификация и подтверждение результатов | 5 |
| 7 Требования безопасности | 9 |
| 8 Маркировка и упаковка | 11 |
| 9 Документация | 11 |
| Приложение A (справочное) Руководство по материалам, проектированию и производству | 12 |
| Приложение B (справочное) Метод испытания на герметичность каркаса для БМБ классов I и II | 15 |
| Приложение C (справочное) Методы испытания эффективности удержания на передней панели | 16 |
| Приложение D (справочное) Метод испытания на аэрозоль для обнаружения утечек в установленной системе фильтров HEPA | 26 |
| Приложение E (обязательное) Метод испытания на защиту продукции для БМБ класса II | 28 |
| Приложение F (обязательное) Метод испытания защиты от перекрестного загрязнения для БМБ класса II | 30 |
| Приложение G (справочное) Метод измерения объемного расхода воздуха | 32 |
| Приложение H (справочное) Дизайн БМБ и скорости воздушного потока в БМБ | 34 |
| Приложение J (справочное) Рекомендации по обеззараживанию, очистке и дезинфекции БМБ и фильтров | 36 |
| Приложение K (справочное) Рекомендации по регулярному поддержанию БМБ | 38 |
| Приложение B.A | 40 |
| Библиография | 41 |

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

**БИОТЕХНОЛОГИЯ**

**Критерии эффективности боксов микробиологической безопасности**

**Основные требования**

**Дата введения\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**1 Область применения**

Настоящий стандарт устанавливает основные требования к боксам микробиологической безопасности (БМБ) с точки зрения безопасности и гигиены.

Настоящий стандарт устанавливает минимальные критерии эффективности для боксов безопасности для работы с микроорганизмами и определяет процедуры испытаний микробиологических шкафов безопасности в отношении защиты работников и окружающей среды, защиты продукции и перекрестного загрязнения. Механические, электрические, химические или радиоактивные меры безопасности не рассматриваются в настоящем стандарте, но рассматриваются в EN 61010-1, EN 292-1 и EN 292-2 (см. библиографию [1], [2] и [3]).

Настоящий стандарт не охватывает меры безопасности для аспектов, не связанных с использованием микроорганизмов, таких как меры безопасности, охватывающие механические и электрические опасности, которые рассматриваются в EN 61010-1 (см. Библиографию [1]), а также требования безопасности в отношении горючих и инертных газов.

**2 Нормативные ссылки**

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные документы по стандартизации:

EN 1822-1 Высокоэффективные фильтры очистки (HEPA и ULPA). Часть 1: Классификация, методы испытаний, маркировка. Classification, performance testing, marking.

EN 12296 Биотехнология. Оборудование. Методы контроля эффективности очистки.

EN 12297 Биотехнология. Оборудование. Методы контроля приспособленности к стерилизации.

EN 12298 Биотехнология. Оборудование. Методы испытаний на герметичность.

EN 13091:1999 Биотехнология. Технические требования к боксам микробиологической безопасности.

Примечание – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов по ежегодно издаваемому каталогу документов по стандартизации по состоянию на текущий год и соответствующим периодически издаваемым информационным указателям стандартов, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться замененным (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

**3 Термины и определения**

В настоящем стандарте применяются следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 Коэффициент защиты передней части (*A*pf): Отношение воздействия воздушного загрязнения, образующегося на открытом стенде, к воздействию, возникающему при таком же рассеивании воздушного загрязнения, образующегося внутри шкафа.

3.2 Перекрестное загрязнение: Непреднамеренное попадание примесей химического или микробиологического характера из материала или продукта в другой материал или продукт.

3.3 Бокс микробиологической безопасности (БМБ): Вентилируемый шкаф, предназначенный для защиты пользователя и окружающей среды от аэрозолей, возникающих при работе с потенциально опасными и вредными микроорганизмами, при этом воздух, выходящий в атмосферу, должен быть отфильтрован.

3.4 БМБ класса I: Бокс безопасности с передним проемом, через который оператор может выполнять манипуляции внутри шкафа и который сконструирован таким образом, чтобы обеспечить защиту работника и контролировать выход загрязняющих частиц, образующихся в воздухе внутри бокса, с помощью внутреннего потока воздуха через рабочее переднее отверстие и фильтрации отработанного воздуха.

3.5 БМБ класс II: Бокс безопасности с передним проемом, через который оператор может выполнять манипуляции внутри бокса и который сконструирован таким образом, что рабочий защищен, риск загрязнения продукта и перекрестного загрязнения низок, а выход загрязняющих частиц из воздуха, образующихся внутри шкафа, контролируется с помощью соответствующего внутреннего потока воздуха и фильтрации отработанного воздуха.

Примечание - Типичным способом достижения этой цели является однонаправленный нисходящий ламинарный поток воздуха внутри шкафа и воздушная завеса на переднем проеме.

3.6 БМБ класса III: Бокс безопасности, в котором рабочая зона полностью закрыта, а оператор отделен от работы физическим барьером (например, перчатками, механически прикрепленными к шкафу). В бокс постоянно подается фильтрованный воздух, а отработанный воздух обрабатывается для предотвращения выделения микроорганизмов.

Примечание 1 - Соответствующие положения настоящего стандарта для боксов микробиологической безопасности класса III могут применяться в отношении характеристик и конструкции жестких или гибких пленочных изоляторов. Дополнительные указания по изоляторам приведены в EN 12741 (см. Библиографию [4]).

Примечание 2 - Выхлопной воздух может быть очищен как минимум двойными линейными высокоэффективными сажевыми фильтрами и может выводиться через собственную систему вытяжной вентиляции на открытый воздух.

**3.7 Защита изделия:** Способность БМБ предотвращать попадание загрязнений извне в БМБ через передний проем.

**3.8 Эффективность удержания:** Способность барьера задерживать микроорганизмы и/или аэрозоли, измеряемая как отношение концентрации данного маркерного вещества между исследуемой зоной и прилегающей зоной.

Примечание - Для БМБ защита операторов, окружающей среды и продуктов достигается с помощью различных барьеров, таких как корпус, фильтры или адекватные схемы потока. Функция этих барьеров заключается в предотвращении или минимизации переноса микроорганизмов/аэрозолей между соседними зонами, разделенными барьером. В зависимости от направления переноса, которое необходимо учитывать, проблемной зоной может быть рабочее пространство шкафа, верхняя сторона фильтров или лабораторная среда.

**3.9 Рабочее пространство:** Часть внутреннего пространства шкафа, в котором выполняются манипуляции.

**4 Опасности**

Необходимо учитывать следующие опасности:

- выделение микроорганизмов во время эксплуатации, например, через переднее отверстие, выхлоп, трубопроводы или корпус;

- высвобождение микроорганизмов при демонтаже или техническом обслуживании, например, при замене фильтров БМБ или их частей после ненадлежащей стерилизации;

- высвобождение микроорганизмов при удалении загрязненного материала из БМБ после загрязнения продуктом или перекрестного загрязнения.

**5 Классы показателей**

5.1 Герметичность

Классы герметичности БМБ приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Показатели герметичности

|  |  |
| --- | --- |
| Класс эффективности для  герметичности Индекс герметичности (LI) | Описание класса производительности |
| LI-A | утечка целевого микроорганизма не определена |
| LI-B | утечка1) целевого микроорганизма, обнаруженная и количественно определенная в определенных условиях |
| LI-C | утечка1) целевого микроорганизма, протестированного в определенных условиях, и утечка ниже предела обнаружения или порогового значения2) |
| 1) На основе оценки утечки с помощью BATNEEC (наилучшая доступная технология, не требующая чрезмерных затрат)\*.  2) Предписанное пороговое значение должно быть основано на требуемом уровне безопасности и может быть, например, пределом обнаружения утвержденного BATNEEC. | |

5.2 Чистота

Классы эффективности по чистоте БМБ приведены в таблице.

\* Использование BATNEEC не означает, что финансовые вопросы определяют степень безопасности. При наличии нескольких методов пользователь может выбрать наиболее удобный, при условии, что он дает результаты необходимого качества.

Таблица 2 - Показатель чистоты

|  |  |
| --- | --- |
| Класс эффективности для  чистоты Индекс чистоты (CI) | Описание класса производительности |
| CI-A | видимый грунт или чистота не определены |
| CI-B | чистота1) испытана и количественно оценена в определенных условиях или БМБ разработана с учетом заданных технических критериев |
| CI-C | чистота1) тестирование и количественное определение в определенных условиях и в почве ниже предела обнаружения или порогового значения2) |
| 1) На основе оценки BATNEEC (наилучшая доступная технология, не требующая чрезмерных затрат)\*.  2) Предписанное пороговое значение должно быть основано на требуемом уровне безопасности и может быть, например, пределом обнаружения утвержденного BATNEEC. | |

Показатели чистоты должны быть CI-B или выше для всех классов БМБ. Чистота применяется в качестве критерия эффективности для БМБ в тех случаях, когда:

- отложения почвы в БМБ могут поставить под угрозу процедуру стерилизации, если стерилизующие среды не достигнут всех частей БМБ или не будет достигнута требуемая температура;

- процедуры очистки предназначены для удаления и инактивации микроорганизмов, чтобы сделать БМБ безопасными для обращения без использования какой-либо другой процедуры стерилизации или инактивации.

5.3 Стерильность

Классы эффективности для стерильности БМБ приведены в таблице 3.

Таблица 3 - Представление стерильности

|  |  |
| --- | --- |
| Класс эффективности по стерильности Индекс стерильности (SI) | Описание класса производительности |
| SI-A | БМБ не подходят или не тестировались на снижение жизнеспособности целевых микроорганизмов |
| SI-B | БМБ могут быть обработаны для определенного снижения количества жизнеспособных микроорганизмов-мишеней |
| SI-C | БМБ можно стерилизовать |
| Примечание - В данной таблице описывается результат (эффективность) процедуры инактивации, а не способ или средства достижения результата. | |

Показатели стерильности должны быть SI-B или выше для всех классов БМБ.

5.4 Минимальные требования к производительности

В таблице 4 приведены требования по герметичности и защите от микроорганизмов для трех классов БМБ.

Таблица 4 - Минимальные требования к производительности для трех классов БМБ

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Класс | Удержание на переднем отверстии1) | Герметичность | Защита продукта | Перекрестное загрязнение |
| I | ≤ 10 CFU на испытание оператора2) и ≤ 5 CFU за испытание на отсутствие помех 3) ; или  *A*pf > 1 x 105 | LI-C для каркаса | Не применимо | Не применимо |
| II | ≤ 10 CFU на испытание оператора 2) и ≤ 5 CFU за испытание на отсутствие помех3) ; или  *A*pf ≥ 1 x 105 | LI-C для каркаса | ≤ 5 CFU на испытание | ≤ 2 CFU на испытание |
| III | Не применимо | ≤ 10 % потеря испытательного избыточного давления 500 Па во всей закрытой системе через 30 минут | Не применимо | Не применимо |
| 1) Выраженное в Apf или выделением микроорганизмов.  2) В позиции оператора.  3) При боковых положениях и внутреннем потоке в передней части проема, установленном по результатам испытания. | | | | |

6 Классификация и подтверждение результатов

6.1 Общие положения

БМБ, на которые распространяется действие настоящего европейского стандарта, должны быть классифицированы в соответствии с таблицами 1, 2 и 3. Рабочие характеристики БМБ определяются и проверяются производителем или пользователем.

В целом можно выделить три типа проверки характеристик:

- типовые испытания;

- испытание при установке после ввода в эксплуатацию или при изменении установки, или при изменении окружающей среды; и

- плановые эксплуатационные испытания.

Дизайн, конструкция и материалы БМБ должны быть адекватными для безопасной эксплуатации в пределах БМБ. Освещение, уровень звука, вибрация, устойчивость, температура, электро- и газоснабжение должны быть адекватными для безопасной эксплуатации в БМБ. В БМБ должны быть предусмотрены системы непрерывного мониторинга, связанные с аварийными сигналами, пригодные для индикации безопасных и небезопасных условий.

Примечание - Руководство по достижению таких условий приведено в приложении А.

6.2 Герметичность

6.2.1 Общие сведения

БМБ должны быть испытаны на герметичность в соответствии с EN 12298. Требования к герметичности и удержанию на переднем отверстии приведены в таблице 4. Испытания должны проводиться в репрезентативных технологических условиях. Два основных аспекта микробиологической герметичности для БМБ описаны в 6.2.2 и 6.2.3.

Примечание - Подходящий метод испытания на герметичность каркаса описан в приложении В. Подходящий метод испытания на удержание в переднем отверстии описан в приложении С. Можно использовать любой другой метод испытания при условии, что будет установлена подтвержденная корреляция с этими методами испытания.

6.2.2 Воздушная герметичность

6.2.2.1 Герметичность каркаса (класс I и класс II)

БМБ должны соответствовать требованиям, приведенным в таблице 4. Корпус БМБ, в котором загрязненный воздух находится под положительным давлением и может вытекать непосредственно наружу, должен быть испытан на герметичность. БМБ должны быть испытаны на герметичность под положительным давлением.

6.2.2.2 Герметичность каркаса (класс III)

Расчетное рабочее давление в БМБ должно быть не менее чем на 200 Па ниже давления воздуха в лаборатории. БМБ должны удовлетворять требованиям, приведенным в таблице 4.

6.2.3 Герметичность в случае пролива жидкости

БМБ должны иметь соответствующие приспособления для сбора пролитых жидкостей.

6.2.4 Испытания на герметичность и микробиологическое загрязнение

Прямые или косвенные методы испытаний, например, измерение расхода вытяжного или приточного воздуха, должны использоваться для испытаний при монтаже и текущем обслуживании БМБ.

Примечание 1 - В таблице 5 приведены методы испытаний для типовых испытаний, испытаний при монтаже и испытаний при текущем обслуживании различных аспектов герметичности БМБ.

Испытания при монтаже должны проводиться при установке БМБ или при изменении условий монтажа или окружающей среды. При изменении вентиляции в помещении не требуется (повторное) испытание на установку, если пользователь может продемонстрировать, проверить и документально подтвердить, что окружающая среда и установка БМБ соответствуют условиям классификации после типовых испытаний, как указано изготовителем. В этом случае испытания фильтров все равно необходимы. Измерение объемного расхода воздуха и визуализация структуры воздушного потока обязательны, но могут быть дополнены испытанием на задерживание через переднюю апертуру.

Примечание 2 - Обращаем внимание на соответствующие национальные правила, касающиеся проведения плановых испытаний при техническом обслуживании.

6.3 Стерильность

БМБ должны быть испытаны на пригодность к очистке в соответствии с EN 12296. Все углы и углы внутри рабочего пространства шкафа и других обычно доступных мест (например, во время чистки), которые могут контактировать с микроорганизмами, должны быть закруглены для надлежащей очистки. При осмотре поверхностей внутри рабочего пространства без увеличения с помощью обычного или скорректированного зрения не должно быть трещин или дефектов поверхности.

6.4 Стерильность

БМБ должны быть испытаны на стерильность в соответствии с EN 12297.

Примечание - В приложении J описан метод фумигации БМБ.

Таблица 5 - Методы испытаний для типовых испытаний, испытаний при установке и испытаний при текущем обслуживании БМБ классов I и II

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Испытание | Удержание на переднем проеме | Герметичность каркаса | Фильтры\* | Защита продукта (только для II класса) | Перекрестное загрязнение (только для II класса) |
| Тип испытания | - микробиологический метод или метод KI (см. приложение C) | - метод испытания мыльным раствором (см. приложение B) | - метод аэрозольной пробы (см. приложение D) | - микробиологический метод или метод KI (см. приложение E) | - микробиологический метод или метод KI (см. приложение F) |
| Испытания при установке |  | Не применимо | - метод аэрозольной пробы (см. приложение D); или  - при необходимости, метод естественной аэрозольной пробы\*. | - проверить соответствие спецификации производителя;  - проверить измерения объемного расхода воздуха (см., например, приложения G и H); и  - проверьте характер воздушного потока (визуализация);  - по выбору: проверка удержания (микробиологический метод [см. приложение Е], или альтернативные методы, такие как KI, светорассеяние, после подтверждения) | - проверить требования производителя к техническому обслуживанию; |
| Текущее техническое обслуживание (см. приложение K) | - проверить требования производителя к техническому обслуживанию;  - проверить измерения объемного расхода воздуха (см., например, приложения G и H); и  - проверить параметры воздушного потока (визуализация) | Не применимо | - для проверки установки | - проверить требования производителя к техническому обслуживанию;  - проверить измерения объемного расхода воздуха (см., например, приложения G и H); и  - проверить параметры воздушного потока (визуализация) | - проверить требования производителя к техническому обслуживанию;  - проверить измерения объемного расхода воздуха (см., например, приложения G и H); и  - проверить параметры воздушного потока (визуализация) |
| Примечание - Национальные нормы могут требовать оценки риска и предъявлять дополнительные требования в особых случаях, например, при использовании особо опасных микроорганизмов или при повышенной опасности заражения воздушно-капельным путем.  \* Информация о фильтрах приведена в EN 13091:1999. | | | | | |

**7 Требования безопасности**

7.1 Герметизация проемов

Должна быть предусмотрена возможность герметизации всех отверстий БМБ класса I, класса II и класса III, например, для фумигации и дезинфекции.

Должна быть предусмотрена возможность герметизации отверстия для входного фильтра в шкафах класса III. Должна быть предусмотрена возможность проведения испытания под давлением.

7.2 Индикаторы аварийной сигнализации

Для БМБ класса I, класса II и класса III должны быть предусмотрены слуховые и визуальные индикаторы аварийных состояний.

Примечание 1 - Манометр, показывающий перепад давления через фильтр(ы), не должен использоваться для этой цели.

Визуальные индикаторы должны быть хорошо видны из рабочего положения. Сигнальные индикаторы должны включаться при отклонении параметров вентиляции от заданных производителем. Также должны быть указаны пороговые пределы отклонения (см. приложение K). При запуске шкафа сигнальные индикаторы должны включаться до тех пор, пока не будет достигнут правильный расход воздуха.

Примечание 2 - Звуковые сигналы тревоги могут быть отключены во время запуска.

Оператору не разрешается отключать сигнализацию в рабочих условиях, в том числе в тех случаях, когда система не работает.

7.3 Экологическая безопасность

Каждый шкаф должен быть сконструирован таким образом, чтобы воздух, выходящий из шкафа, фильтровался через высокоэффективный сажевый фильтр (HEPA), соответствующий требованиям EN 13091:1999 и классу H14 или выше по EN 1822-1.

Примечание 1 - При определенных обстоятельствах может быть целесообразно выпускать воздух из шкафа через два встроенных фильтра HEPA, которые должны иметь возможность индивидуального тестирования.

Примечание 2 - Шкафы, предназначенные для рециркуляции отфильтрованного воздуха в лабораторию, должны быть оборудованы соответствующими средствами для отвода дезинфицирующего газа после фумигации.

7.4 Выхлопная и противовыбросовая система БМБ

Если выхлопные газы шкафа выводятся наружу здания, необходимо принять меры для предотвращения попадания воздуха обратно в шкаф. Производитель должен предоставить техническую информацию о воздуховодах, необходимую для обеспечения работоспособности шкафа, а также характеристики вытяжной системы.

Примечание - Можно использовать видимые индикаторы (см. приложение K).

7.5 Фильтры для приточного и вытяжного воздуха

Фильтры должны быть HEPA-фильтрами, соответствующими требованиям   
EN 13091:1999 и классу H14 или выше по EN 1822-1. Фильтры должны быть смонтированы отказоустойчивым способом.

Примечание 1 - Воздушные пути, содержащие камеры с загрязненным воздухом, находящиеся под положительным давлением, должны быть окружены внутренними воздушными путями с отрицательным давлением.

Фильтры должны быть установлены таким образом, чтобы воздух не мог миновать фильтрующую среду.

Примечание 2 - Воздуховоды, содержащие загрязненный воздух, должны быть как можно короче, а главный вытяжной фильтр должен располагаться как можно ближе к рабочему пространству, чтобы способствовать эффективной дезинфекции. Для продления срока службы основного фильтра можно установить подходящий фильтр предварительной очистки, который должен быть легко доступен.

Для проверки фильтра должны быть предусмотрены отверстия для отбора проб, пригодные для сканирования, в таком положении, чтобы эффективно проверялся весь фильтр, уплотнения, прокладки и конструктивные соединения.

Если установлено более одного фильтра, порты должны позволять тестировать каждый фильтр независимо. Порты должны быть опломбированы.

Если шкафы оснащены двойными линейными фильтрами, необходимо предусмотреть возможность независимого испытания каждого фильтра и соответствующего уплотнения.

Установка должна быть проверена с использованием признанной и хорошо документированной процедуры проверки герметичности установленных фильтров HEPA путем сканирования чистой стороны фильтров HEPA, уплотнений, прокладок и конструктивных соединений. Подходящий метод приведен в приложении D.

7.6 Объемный расход воздуха и коэффициент вентиляции (класс III)

Скорость воздушного потока через каждое открытое отверстие для перчаток, когда снята только одна перчатка, должна составлять не менее 0,7 м/с. Подходящий метод приведен в приложении G.

Объемный расход воздуха через входной фильтр должен быть измерен и должен составлять не менее 0,05 м3/с на каждый кубический метр объема шкафа, когда перчатки закреплены и в шкафу создается отрицательное давление не менее 200 Па. Подходящий метод измерения массового расхода воздуха приведен в приложении G.

7.7 Контроль давления в шкафу (класс III)

На шкафу должен быть установлен манометр, способный измерять давление от -500 Па до +500 Па, для визуального отображения давления во внутреннем пространстве.

**8 Маркировка и упаковка**

Каждый БМБ должен быть промаркирован таким образом, чтобы можно было проверить его соответствие требованиям, приведенным в настоящем Европейском стандарте. Если маркировка БМБ или его компонента нецелесообразна (например, из-за его размера или характера), то маркируется упаковка. БМБ должны иметь постоянную и разборчивую маркировку, содержащую следующую информацию:

a) класс БМБ;

b) название и адрес изготовителя;

c) номер и дата ссылки на настоящий европейский стандарт, т.е. EN 12469:2000;

d) номер модели или каталога вместе с серийным номером;

e) электрическое напряжение, частота и потребляемая мощность;

f) безопасная рабочая зона;

g) год изготовления.

**9 Документация**

Производитель или поставщик должен предоставить письменное руководство, в котором подробно описаны процедуры эксплуатации, позволяющие БМБ работать в соответствии с указанной классификацией.

Пользователь должен хранить документацию, подтверждающую текущие характеристики оборудования и их проверку, включая:

a) сертификат испытаний, подтверждающий соответствие всем частям настоящего европейского стандарта; сертификат герметичности HEPA-фильтра/уплотнения шкафа в месте использования;

b) методы и оборудование, использованные для испытания БМБ;

c) руководства по установке и эксплуатации;

d) инструкции по обслуживанию и замене фильтров, включая заявление о необходимости соответствующей дезинфекции шкафа;

e) диаграмма, показывающая схему движения воздуха через шкаф;

f) границы рабочего пространства и указание на незащищенные участки (например, возле переднего проема);

g) инструкции по дезинфекции и очистке шкафа, а также по выбору подходящих дезинфицирующих средств;

h) для шкафов класса III - диаметр и форма манжеты перчатки, соответствующие размеру порта.

Приложение A

*(справочное)*

Руководство по материалам, дизайну и производству

A.1 Высота переднего проема

Высота переднего(их) проема(ов) должна составлять от 160 до 250 мм. Вертикальные раздвижные створки, если они предусмотрены, должны быть сконструированы таким образом, чтобы створка не могла упасть и подвергнуть опасности пользователя, если подвесная система выйдет из строя. При наличии раздвижных створок следует предусмотреть сигнализацию или систему блокировки, чтобы работы можно было выполнять только в пределах указанной высоты переднего проема.

A.2 Освещение

Освещение должно быть достаточным для безопасной работы в шкафу. Освещенность, измеренная на рабочей поверхности, должна составлять не менее 750 люкс. Ультрафиолетовое (УФ) излучение не рекомендуется использовать в защитных шкафах. Однако, если оно требуется, его следует устанавливать таким образом, чтобы оно не влияло на воздушный поток и герметичность шкафа. Для изготовления шкафа следует использовать материалы, не подверженные воздействию ультрафиолета. Должна быть предусмотрена электрическая блокировка, чтобы предотвратить прямое воздействие ультрафиолета на работника при работе в шкафу.

A.3 Звук

Уровень шума в шкафу должен быть достаточно низким, чтобы не отвлекать работника. При испытании в соответствии с EN ISO 3744 (см. Библиографию [5]) с помощью измерителя уровня звука, расположенного на расстоянии 1,0 м от центра передней апертуры шкафа или 1,0 м от любой части установки в лаборатории, А-взвешенный уровень звукового давления, создаваемый шкафом, не должен превышать 65 дБ, если А-взвешенный уровень звукового давления фонового шума не превышает 55 дБ. Если фоновый шум превышает 55 дБ, то скорректированный А-взвешенный уровень звукового давления в шкафу не должен превышать 65 дБ.

Взвешенный по А уровень звукового давления также может быть определен в соответствии с ISO 11201 (см. Библиографию [6]). Измерения проводятся на рабочем месте, расположенном на расстоянии 0,2 м от центра переднего проема шкафа и 1,0 м от любой части установки в пределах лаборатории. При наличии фонового шума уровень звукового давления должен быть скорректирован на A1. Уровень звукового давления должен быть заявлен в соответствии с ISO 4871 (см. Библиографию [7]) в руководстве по эксплуатации и в технической литературе, доступной в качестве информации для покупателей, погрешность составляет K = 2 дБ.

A.4 Вибрация

Чистое смещение не должно превышать 0,005 мм среднеквадратичной амплитуды в центре рабочей поверхности в диапазоне от 20 до 20 000 Гц, когда шкаф работает при рекомендованной производителем скорости воздушного потока. Подходящий метод измерения вибрации приведен в ISO 5349 (см. Библиографию [8]).

A.5 Стабильность

По устойчивости БМБ должны соответствовать EN 292-1, EN 292-2 и EN 61010-1 (см. библиографию [2] [3] и [1]). БМБ должны быть сконструированы таким образом, чтобы стоять на полу или на скамье подходящим и надежным образом.

A.6 Maтериалы, общие

Материал БМБ, который может контактировать с микроорганизмами, должен быть равномерно устойчив к коррозии, не воспламеняться и не впитывать влагу.

Примечание 1

Изготовители должны гарантировать, что материалы конструкции не будут повреждаться при фумигации и будут устойчивы к дезинфицирующим средствам.

Примечание 2

Не следует использовать древесно-стружечные плиты. Материалы и герметики для швов должны быть долговечными и устойчивыми к чистящим и дезинфицирующим средствам, а также устойчивыми к общему использованию БМБ.

Примечание 3

Удовлетворительными были признаны следующие материалы:

a) двухкомпонентный ускоренный синтетический термостойкий состав с высокой адгезией или эквивалент, используемый в соответствии с рекомендациями производителя; или

b) однокомпонентный герметик, используемый в соответствии с рекомендациями производителя (например, силиконовый или акриловый).

Производители должны гарантировать, что строительные материалы не будут повреждены фумигацией формальдегидом.

A.7 Стекло и передние окна

Следует использовать ламинированное безопасное стекло или устойчивые к ультрафиолетовому излучению безопасные пластики, которые обладают прочностью, позволяющей сохранять удовлетворительные характеристики в течение ожидаемого срока службы безопасного шкафа. Следует учитывать внешнюю и внутреннюю среду, которой они будут подвергаться, и метод остекления.

Стекло должно соответствовать EN 292-1 и EN 292-2 (см. библиографию [2] и [3]). Перед началом работы следует предусмотреть средства, позволяющие надежно удерживать переднее окно открытым для загрузки оборудования.

Вертикальные раздвижные створки окон, если они предусмотрены, должны быть сконструированы таким образом, чтобы створка не могла упасть и подвергнуть опасности пользователя в случае отказа подвесной системы.

Примечание - В рабочем положении размер и угол наклона окна должны обеспечивать беспрепятственный обзор рабочего пространства, когда оператор сидит по центру шкафа.

В шкаф должна быть встроена акустическая и оптическая система сигнализации, чтобы переднее окно оставалось хорошо закрытым в рабочих условиях. Это также обеспечит правильное функционирование оборудования.

A.8 Электрическая безопасность

Общие требования к электробезопасности приведены в стандарте EN 61010-1 (см. Библиографию [1]).

A.9 Безопасность газоснабжения

БМБ должны соответствовать требованиям к общим аспектам безопасности газоснабжения, приведенным в EN 292-1 и EN 292-2 (см. библиографию [2] и [3]). Если предусмотрена подача газа внутрь шкафа, то элементы управления должны иметь соответствующую цветовую маркировку.

Подача горючего газа внутрь шкафа должна контролироваться соответствующим клапаном, который может быть открыт оператором во время работы шкафа и закрыт при любых других условиях.

Примечание 1: Пьезоэлектрические системы, которые дают пламя, когда это необходимо, и которыми можно управлять с помощью ног, предпочтительнее горелок Бунзена.

Примечание 2: Не рекомендуется использовать горелку Бунзена внутри МСК, но если это необходимо, то низкопрофильный тип, управляемый педалью для подачи полного пламени только по мере необходимости, создает наименьшие помехи для воздушного потока.

В шкафах класса III не должно быть арматуры для горючих газов.

A.10 Эргономика

Конструкция должна обеспечивать возможность безопасного проведения технического обслуживания шкафа после установки. Общие эргономические требования следует рассматривать в соответствии с prEN ISO 14738:1997 (см. Библиографию [23]).

A.11 Температура

После 4 часов непрерывной работы при работающем вентиляторе (вентиляторах) и включенном освещении температура воздуха внутри шкафа, измеренная в центре рабочего объема, не должна повышаться более чем на 8 °C по сравнению с температурой окружающего воздуха в лаборатории.

Примечание - Эффект плавучести из-за высокой температуры воздуха может уменьшить воздушные потоки в шкафу и нанести ущерб герметичности.

A.12 Отверстия для перчаток и перчатки (класс III)

Перчатки должны плотно прилегать к диаметру и форме отверстий для перчаток.

Должна быть предусмотрена возможность замены перчаток снаружи шкафа таким образом, чтобы старые перчатки можно было задвинуть внутрь шкафа и установить новые при работающем вентиляторе.

Приложение B

*(обязательное)*

Метод испытания на герметичность каркаса для БМБ класса I и II

B.1 Принцип

БМБ испытывают на герметичность, подвергая его внутреннему давлению и наблюдая за образованием пузырьков в мыле, нанесенном на сварные швы, прокладки и соединения.

B.2 Реагенты

Мыльный раствор, состоящий из 25 г/л мягкого мыла в теплой дистиллированной воде, приготовленный в сосуде без жира.

B.3 Оборудование

Манометр, способный измерять давление в диапазоне от 0 до 500 Па. Малярная кисть шириной 12 мм.

B.4 Процедура

Загерметизируйте все отверстия в шкафу любым удобным способом и создайте в шкафу внутреннее давление воздуха 250 Па, измеренное с помощью манометра.

Нанесите мыльный раствор на все сварные швы, прокладки и соединения с помощью малярной кисти. Ищите мыльные пузыри, указывающие на наличие утечек.

B.5 Представление результатов

Изложите результаты в виде наличия или отсутствия мыльных пузырей.

B.6 Отчет об испытаний

Впишите результат испытания и ссылку на использованный метод (т.е. приложение B к EN 12469:2000) в документацию, указанную в п. 9.

Приложение C

*(обязательное)*

Методы испытания эффективности удержания на передней диафрагме

C.1 Общие сведения

C.1.1 Общий принцип

БМБ проверяется на эффективность удержания на передней апертуре путем создания внутри БМБ либо аэрозоля суспензии микробиологических спор, либо аэрозоля раствора йодистого калия (KI) и подсчета количества спор или частиц, отобранных в определенных местах снаружи БМБ.

Воздушный поток, поступающий в шкаф, нарушается для имитации воздействия руки рабочего путем введения цилиндра через переднее отверстие.

Испытание проводится при номинальной заданной температуре.

C.1.2 Повторные испытания

Для шкафов шириной до 1,5 м 5 повторных испытаний должны проводиться в центре переднего проема. Для шкафов шириной от 1,5 м до 2 м 5 повторных испытаний должны проводиться в центре переднего проема и по пять в центре правой и левой половин переднего проема. Для более широких шкафов 5 повторных испытаний должны быть проведены в центре каждого 1 м ширины шкафа.

C.2 Mетод микробиологического испытания

C.2.1 Реагенты

Споры Bacillus subtilis var. niger (B. subtilis), ATCC[[1]](#footnote-1)) 9372, NCTC[[2]](#footnote-2)) 10073 или   
B. subtilis var. Marburg ATCC 6051.

Стерильный разбавитель, приготовленный следующим образом.

Либо:

a) Фосфатный буферный раствор (PBS) (шаг 1) Растворите 34 г KH2PO4 в 500 мл дистиллированной H2O Отрегулируйте pH до 7,2 ± 0,5 с помощью 1 N NaOH при 25 °C Разбавьте до 1 л дистиллированной H2O. Конечный разбавитель PBS (шаг 2)

Дистиллированная H2O: 1 л

Запас PBS шаг 1: 125 мл

Конечный pH: 7,2 ± 0,5

Автоклавируйте при 120 °C в течение 15 мин.

Дополнительно: сульфат магния (50 г MgSO4.7 H2O на 1 л дистиллированной H2O): 5 мл;

или:

b) Дистиллированная H2O: 1 л.

Отрегулируйте pH до 7,0 ± 0,1 при 25 °C.

Автоклавируйте при 120 °C в течение 15 мин.

Примечание - Формула b) подходит для разбавителя, когда суспензия спор готовится для немедленного использования. Если требуется хранение суспензии при 4 °C, следует использовать формулу a).

Суспензия спор B. subtilis var. niger, приготовленная в соответствии с методом A или B следующим образом.

Метод A (используя ранее собранные споры B. subtilis)

Асептически инокулируйте методом размножения на нескольких триптических соевых агарах Петри размером (100 x 15 мм). Инкубируйте в течение (48 ± 2) ч при температуре (37 ± 0,5) °C. Удалите характерные пигментированные колонии и перенесите их в десять стерильных завинчивающихся флаконов объемом 220 мл, содержащих около 50 мл триптического соевого агара. Инкубируйте в течение (48 ± 2) ч при температуре (37 ± 0,5) °C. Добавьте 10 мл PBS к каждому образцу и аккуратно смойте бактерии с поверхности агара.

Перенесите бактериальную суспензию, чтобы получить примерно 100 мл в стерильный 150 мл флакон с завинчивающейся крышкой. Если клеточный мусор мешает распространению в распылителе, суспензию можно осветлить, трижды промыв в PBS путем центрифугирования при 1500 об/мин в течение 10 мин. Ресуспендируйте в PBS до первоначального объема. Нагрейте бульонную культуру при температуре (65 ± 0,5) °C в течение 15 минут. Определите концентрацию спор стандартным методом разведения в планшете с использованием PBS и триптического соевого агара. Среднее количество спор, приготовленных как указано выше, должно составлять 2-4 x 109 спор/мл.

Инкубируйте планшеты в течение (48 ± 2) ч при температуре (37 ± 0,5) °C. Разбавьте суспензию спор PBS для получения конечной концентрации спор (5-8) x 108 спор/мл, если споры должны быть использованы немедленно. Храните суспензию спор [(2-4) x 109 спор/мл] при 4 °C или разделите на аликвоты для хранения в завинчивающихся флаконах при -70 °C, часто проверяя жизнеспособность спор с помощью поверхностного посева и преобладание спор с помощью приемлемого метода окрашивания спор.

Метод B

Инокулируйте 250 мл стерильного триптозного бульона аликвотами ранее собранных спор B. subtilis или регидратированными сублимированными культурами в соответствии с инструкциями ATCC или NCTC. Инкубируйте на возвратно-поступательном шейкере в течение (48 ± 2) ч при (37 ± 0,5) °C. Нагревайте бульонные культуры при температуре (65 + 0,5) °C в течение 15 мин.

Перенесите суспензии в пробирки с завинчивающимися крышками и промойте не менее трех раз в стерильной дистиллированной H2O путем центрифугирования при 1500 об/мин в течение 10 мин. Если требуется хранение, используйте PBS для последней промывки. Определите концентрацию спор стандартным методом разведения в планшете с использованием PBS и триптического соевого агара. Средняя концентрация спор, приготовленных как описано выше, должна составлять 1,5 x 109 спор/мл.

Инкубируйте планшеты в течение (48 ± 2) ч при температуре (37 ± 0,5) °C. Если суспензия спор должна быть использована в ближайшее время, разбавьте ее PBS, чтобы конечная концентрация суспензии составила (5-8) x 108 спор/мл. Для хранения исходной культуры спор разделите ее на аликвоты и храните при температуре 4 °C в стерильных флаконах с завинчивающейся крышкой или в морозильной камере при температуре -70 °C. Перед использованием проверьте жизнеспособность суспензии спор, как в методе A.

C.2.2 Оборудование

Чашки Петри размером (100 x 15) мм или (150 x 22) мм, содержащие питательный агар, триптический соевый агар или другую подходящую ростовую среду без ингибиторов и других добавок.

Шесть цельностеклянных капиллярных пробоотборников (см. Библиографию [9]), диаметр капилляра 1,3 мм, скорость потока откалибрована на 12,5 л/мин, содержат 20 мл стерильного разбавителя.

Два щелевых пробоотборника воздуха, работающих при расходе 30 ± 3 l/мин[[3]](#footnote-3)).

Рефлюксный 6-струйный модифицированный короткоформенный небулайзер Коллисона типа MRE (доступен как модель CN-38 небулайзера от BGI Inc., Waltham MA, USA[[4]](#footnote-4) ) или любой другой небулайзер, который может быть продемонстрирован для получения бактериального аэрозоля с эквивалентными характеристиками.

Цилиндр из нержавеющей стали, стали или алюминия с внешним диаметром 63 мм и закрытыми концами. Цилиндр должен использоваться для прерывания воздушного потока. Длина цилиндра должна определяться размерами внутреннего пространства шкафа. Один конец упирается в заднюю стенку шкафа, а другой конец выступает в помещение не менее чем на 150 мм через отверстие для доступа к рабочему месту в шкафу.

C.2.3 Процедура

Выберите и откалибруйте небулайзер, как указано в пункте C.4.

Взвесьте небулайзер, содержащий до 55 мл суспензии спор (от 5 до 8) x 108 спор/мл Bacillus subtilis), и установите его по центру между боковыми стенками шкафа. Для МСЧ класса I убедитесь, что ось распыления находится под цилиндром и примерно посередине между его нижней поверхностью и рабочей поверхностью. Для МСК класса II убедитесь, что ось распыления находится на одном уровне с верхним краем передней апертуры.

Убедитесь, что отверстие распылителя находится на расстоянии 100 мм за передним окном, а ось распыления параллельна рабочей поверхности и направлена на переднее окно.

Установите цилиндр в центре шкафа. Убедитесь, что ось цилиндра находится на высоте 69 мм над рабочей поверхностью. Вокруг цилиндра установите четыре импеллера так, чтобы входные отверстия для отбора проб находились на расстоянии 63 мм от передней стенки шкафа. Расположите два импеллера так, чтобы оси их впускных отверстий находились на расстоянии 150 мм (6 дюймов) друг от друга и в горизонтальной плоскости по касательной к верхней части цилиндра. Расположите два других импеллера так, чтобы оси их входов находились на расстоянии 50 мм друг от друга и лежали в горизонтальной плоскости на 20 мм ниже цилиндра. В качестве положительного контроля поместите пластину агара под центр цилиндра и убедитесь, что она поддерживается на 10 мм (1/2 дюйма) выше или ниже передней впускной решетки, чтобы минимизировать препятствие для потока воздуха в решетку.

Установите два щелевых пробоотборника воздуха таким образом, чтобы горизонтальная плоскость воздухозаборников находилась на высоте рабочей поверхности, вертикальные оси воздухозаборников располагались на расстоянии 150 мм перед шкафом и 200 мм от каждой внутренней боковой стенки. Установите два импеллера таким образом, чтобы горизонтальная плоскость воздухозаборников находилась на высоте 350 мм над рабочей поверхностью, вертикальные оси - на расстоянии 50 мм от переднего края шкафа и 150 мм с каждой стороны от центральной линии шкафа.

Включите БМБ и дайте ему поработать до достижения нормальных условий эксплуатации, т.е. не менее чем за 30 мин до начала любого испытания.

Продолжительность испытания должна составлять 30 минут. Выполните последовательность испытаний следующим образом.

- Время 0 : запустите щелевые пробоотборники.

- Время 5 мин : запустите небулайзер.

- Время 6 мин : запустите импинджеры.

- Время 11 мин : остановите импинджеры.

- Время 11,5 мин : остановка распылителя.

- Время 30 мин : остановите щелевые пробоотборники.

Отфильтруйте жидкость из всех пробоотборников через мембранный фильтр диаметром 47 мм с размером пор 0,22 мкм, асептически удалите фильтр и поместите его на соответствующие среды. Пластины с фильтрами и пластины из щелевых пробоотборников воздуха инкубируют при 37 °C. Проверьте через (24-28) ч, и если результат отрицательный, повторно инкубируйте и считайте через (44-48) ч.

Примечание - Для исследовательских и полевых работ жидкость для отбора проб может фильтроваться отдельно из каждого пробоотборника, чтобы получить информацию о конкретных областях в МСК.

Контрольная пластина должна быть положительной. Пластина считается «положительной», если она содержит более 300 КОЕ B. subtilis.

C.2.4 Расчет

Количество распыленной жидкости определяется путем взвешивания распылителя в начале и в конце каждого теста. При известной концентрации спор рассчитайте количество распыленных спор, N, следующим образом.

*N* = *c* (*m*1- *m*2)

где:

*N* - количество распыленных спор, выраженное в КОЕ;

*c* - концентрация суспензии спор, выраженная в КОЕ на грамм (КОЕ/г);

*m*1 - масса распылителя с суспензией спор, выраженная в граммах (г) перед испытанием;

*m*2 - масса распылителя с суспензией спор, выраженная в граммах (г) после теста.

Подсчитайте количество КОЕ B. subtilis, извлеченных из шести распылителей, и количество КОЕ B. subtilis, извлеченных из двух щелевых пробоотборников воздуха.

C.2.5 Представление результатов

Представьте результаты в виде количества распыленных спор, *N*, и количества обнаруженных КОЕ.

C.2.6 Отчет об испытаний

Включить результат испытания и ссылку на использованный метод (т.е. приложение C к EN 12469:2000) в документацию, указанную в п. 9.

C.3 Метод йодистого калия (KI)

C.3.1 Введение

Индекс переноса (см. Библиографию [11]) определяет экспозицию в данной точке как n/(*N* x *s*), где N - количество высвобожденных частиц, а n - количество извлеченных при частоте отбора проб s, при этом отбор проб продолжается до конца. В помещении с турбулентной вентиляцией, обеспечивающей абсолютно равномерное перемешивание по всему пространству, индекс переноса равен 1/1/(см. Библиографию [12]), где V - эффективная объемная скорость вентиляции, включающая потери на осаждение. Индекс переноса имеет размерность время/кубическая длина.

Отношение индексов переноса в двух ситуациях (на открытом стенде и внутри шкафа) является коэффициентом защиты и не имеет размерности. Для эталонных условий V на открытом стенде вентиляция помещения принимается равной 10 м3/мин. Тогда *A*pf где s - скорость отбора проб, выраженная в кубических метрах в минуту (м3/мин), либо (N x s)/(104n), если s выражено в кубических дециметрах в минуту (дм3/мин). В идеале из защитного шкафа не должно быть выхода опасных аэрозолей, поэтому n должно быть равно нулю, а коэффициент защиты - бесконечности. Однако ни один защитный шкаф с открытым фасадом не обеспечивает полной защиты, и минимальное значение коэффициента защиты, которое можно оценить, зависит от чувствительности испытания, т.е. от величины проблемы, *N*, частоты отбора проб, s, и наименьшего количества извлеченных частиц, которые можно надежно отличить от фонового загрязнения.

Практические значения для испытательной системы составляют *N* не менее 3 x 108, s не менее 20 дм3/мин и n что приведет к минимальному установленному значению Apf для такой системы не менее чем1,5 x 105.

C.3.2 Реагенты

Калий йодистый, 15 г/л раствор в абсолютном этаноле или техническом метилированном спирте с содержанием воды не более объемной доли 5 %.

Хлорид палладия, 1,0 г/л раствор в 0,1 моль/л соляной кислоте.

C.3.3 Оборудование

C.3.3.1 Генератор аэрозолей в сборе, состоящий из вращающегося диска диаметром 38 мм, способного вращаться со скоростью 28 000 об/мин ± 500 об/мин, и сопла для подачи раствора йодида калия (C.3.2) на вращающийся диск, причем зазор между концом сопла и вращающимся диском составляет 0,1 мм. В комплект также входит лабораторная подставка, чтобы при необходимости удерживать генератор аэрозолей над рабочей поверхностью.

C.3.3.2 Пробоотборники воздуха, работающие по центростремительному принципу с объемным расходом воздуха 100 дм3/мин через переднее отверстие, и конус, задерживающий около 3% этого воздуха (см. в Библиографии [13]).

Примечание 1 - Поток воздуха через пробоотборники может обеспечиваться центробежным вентилятором, соединенным с пробоотборниками неподвижной трубкой.

Примечание 2 - Частицы, будучи тяжелее воздуха, проходят через конус по прямой траектории и оседают на фильтрующей мембране, расположенной у основания конуса, в то время как воздух отклоняется к внешней стороне конуса.

C.3.3.3 Металлический цилиндр диаметром от 60 мм до 65 мм с гладкой поверхностью и закрытым одним концом, закрепленный на регулируемой подставке.

C.3.3.4 Чашки Петри диаметром 55 мм.

C.3.3.5 Фильтровальные мембраны диаметром 25 мм с размером пор 3 ^м.

C.3.4 Подготовка к испытаниям

Поставьте две чашки Петри в стороне от тестируемого шкафа. Наполните одну чашку наполовину раствором хлорида палладия, другую - дистиллированной водой и закройте каждую крышкой. Положите две фильтровальные бумаги для сушки фильтрующих мембран.

Поместите цилиндр по центру между боковыми стенками рабочего пространства защитного шкафа так, чтобы один его конец находился внутри шкафа, а нижний край - на расстоянии от 65 до 75 мм от пола шкафа. С помощью спиртового уровня установите цилиндр так, чтобы он был горизонтальным и выступал в лабораторию минимум на 250 мм от плоскости передней апертуры.

Расположите четыре пробоотборника воздуха перед центром шкафа так, чтобы их входные отверстия находились на расстоянии 150-160 мм от плоскости передней диафрагмы. Убедитесь, что входные отверстия двух пробоотборников находятся на одном уровне с верхней частью цилиндра и на расстоянии 150 мм в обе стороны от центральной линии переднего проема, а два других пробоотборника расположены так, что их входные отверстия находятся на одном уровне с нижним краем окна и на расстоянии 155 мм в обе стороны от центральной линии переднего проема.

Для шкафов безопасности класса I поместите генератор аэрозолей по центру шкафа под цилиндром так, чтобы передний край диска находился на расстоянии 100 мм от плоскости передней диафрагмы.

Для шкафов безопасности класса II поместите генератор аэрозолей на лабораторном стенде по центру шкафа так, чтобы центр диска находился непосредственно над центром цилиндра, а передний край диска - на 100 мм за плоскостью передней апертуры. Отрегулируйте высоту генератора таким образом, чтобы диск находился на одном уровне с верхним краем передней апертуры.

Примечание - Положения генератора аэрозолей различны для шкафов класса I и класса II, чтобы проводить испытания в наиболее уязвимой части воздушной завесы.

Нагрузите каждый пробоотборник воздуха фильтрующей мембраной. Отрегулируйте разность давлений в каждом пробоотборнике в соответствии с инструкциями производителя, чтобы обеспечить приток 100 дм3/мин.

C.3.5 Процедура

Включите шкаф и дайте ему поработать до достижения нормального рабочего состояния.

Подайте воздух на пробоотборники и запустите вращающийся диск. Подождите   
15 с, а затем дайте йодиду калия поступить в центр диска. Дайте возможность аэрозолировать 20 мл йодида калия. Выключите пробоотборники воздуха через 15 с после прекращения аэрозолизации. Дождитесь полной остановки всасывающего насоса, а затем снимите фильтрующие мембраны.

Поместите фильтрующую мембрану из одного пробоотборника в чашку Петри с раствором хлорида палладия так, чтобы поверхность, подвергавшаяся воздействию воздушного потока, была обращена вверх. Отметьте пробоотборник, из которого была извлечена мембрана.

В течение 30-45 с мембрана насытится хлоридом палладия, а частицы йодида калия станут видны как коричневые пятна. Снимите мембрану и погрузите ее в дистиллированную воду на 3-4 с, а затем поместите мембрану на чистую фильтровальную бумагу для просушки. Повторите эту процедуру с фильтрующими мембранами из других пробоотборников воздуха. Установите крышки на чашки Петри.

Примечание 1 - Во избежание загрязнения необходимо следить за тем, чтобы пинцет, используемый для помещения мембраны в раствор хлорида палладия, не использовался для загрузки пробоотборников воздуха.

Примечание 2 - Раствор йодистого калия, используемый для испытаний, легко воспламеняется и вызывает коррозию необработанной стали. Поэтому тестируемый шкаф следует протирать влажной тканью и тщательно очищать оборудование для прядильных дисков.

Осмотрите каждый фильтр с помощью лупы x10 и подсчитайте количество коричневых пятен на мембране фильтра.

Примечание 3 - Если число пятен превышает 50-100, необходимо использовать лупу вместе с ратикулом и подсчитывать пятна в пределах квадрата удобного круга, а также использовать соответствующий коэффициент умножения.

C.3.6 Расчет Apf и представление результатов

Рассчитайте количество высвободившихся частиц иодида калия, *N*, используя следующее уравнение:

N = 3,1 x 107 x M

где

M объем раствора йодида калия, диспергированного аэрозольным генератором, выраженный в миллилитрах (мл);

3,1 x 107 константа, полученная из размера капель, скорости потока отбора проб и скорости вращения диска.

Затем рассчитайте значение коэффициента защиты диафрагмы, *A*pf, отдельно для каждой фильтрующей мембраны, используя следующее уравнение:

Apf = NV/104n

где

V расход пробы, выраженный в кубических дециметрах в минуту (дм3/мин);

n количество пятен на фильтрующей мембране.

Примечание 1 - В данном случае M= 20 мл и V = 100 дм3/мин (см. C.3.3.2).

Примечание 2 - При использовании приведенных выше уравнений и значений M и V, указанных в примечании 1, *A*pf 1,0 x 10 будет соответствовать 62 пятнам на фильтрующей мембране.

Примечание 3 - При расчете Apf, если на мембране фильтра имеется одно пятно, коэффициент защиты будет равен 6,2 x 106. Если на фильтрующей мембране не было пятен, это означает, что коэффициент защиты выше указанного значения, и коэффициент защиты записывается как *A*pf > 6,2 x 106.

C.3.7 Фоновые испытания

Поместите два пробоотборника воздуха с фильтрующими мембранами перед шкафом безопасности на расстоянии 150 мм от центральной линии передней апертуры и 100 мм от плоскости передней апертуры. Включите всасывающий вентилятор пробоотборника и работайте в течение 10 мин без образования капель йодистого калия генератором аэрозолей.

Снимите фильтрующие мембраны, разработайте и исследуйте их в соответствии с С.3.5.

Примечание 1 - По завершении фоновых испытаний в лабораториях, где предыдущие испытания не проводились в течение 24 ч, на проявленных мембранах не должно быть коричневых пятен.

Примечание 2 - В лабораториях, где недавно проводились испытания *A*pf (или где они привели к значительной утечке аэрозольного теста), особенно рекомендуется провести фоновые испытания перед проведением дальнейших испытаний шкафов. Если после 10-минутного испытания на одной из двух фильтрующих мембран появляется более пяти пятен, это следует считать неудовлетворительным и отложить дальнейшие испытания шкафа до тех пор, пока фон не перестанет быть загрязненным.

C.3.8 Отчет об испытании

Включить результат испытания и ссылку на использованный метод (т.е. приложение C к EN 12469:2000) в документацию, указанную в п. 9.

C.4 Выбор и калибровка распылителя для микробиологического метода

C.4.1 Критерий отбора

Небулайзер можно использовать, если :

a) доставляет (от 1 до 8) x 108 спор Bacillus subtilis, например, var. *niger* в воздухе за 5 мин;

b) доставляет (94 ± 6) % одноклеточных спор;

c) скорость выброса спорового аэрозоля составляет (0,51 ± 0,05) м/с.

Примечание 1 - Испытания, проведенные Ферстом и др. (см. Библиографию [10]), показали, что 6-струйный рефлюксный распылитель Коллисона из нержавеющей стали обеспечивает получение аэрозоля бактериальных спор, требуемого в пункте C.2.3, при соблюдении следующих условий:

- распылитель оснащен стеклянной колбой диаметром 50 мм, высотой 90 мм и горизонтальным выпускным патрубком ID 23 мм сверху;

- небулайзер работает при давлении 140 кПа (1,4 бар);

- в колбу помещается 55 мл суспензии спор (от 5 до 8) x 108/мл;

- дно 6-струйной распылительной головки находится на 18 мм выше дна колбы;

- на внутренней поверхности стеклянной колбы образуются шесть розеток, создаваемых воздушными струями (необходимо часто наблюдать за их размером и контуром, чтобы убедиться, что струи не забиты и не заблокированы).

Примечание 2 - 6-струйный рефлюксный небулайзер Collison не нуждается в повторной проверке производительности перед использованием.

C.4.2 Калибрация

C.4.2.1 Общие сведения

Перед первым использованием и в дальнейшем периодически калибруйте небулайзер в лаборатории, где он используется.

C.4.2.2 Реагенты

Суспензия (с 5 до 8) x 108 спор Bacillus subtilis, например, var. niger на миллилитр.

C.4.2.3 Оборудование

Небулайзер для калибровки. Один пробоотборник. Таймер переключения.

Воронка с мембранным фильтром, размер фильтра 47 мм, с мембранами из силиконовой резины, уплотненными с каждого конца с помощью вулканизации при комнатной температуре (RTV). Мембраны перфорированы для вставки выходного отверстия небулайзера на более широком конце воронки и одного импинджерного пробоотборника на другом конце. Вставки должны быть плотными на конце пробоотборника. На конце распылителя вставка должна быть свободной, чтобы распылитель работал при атмосферном давлении, а не в закрытой системе.

Расходомеры.

Манометр.

Мембранный фильтр аэрозольного типа диаметром 37 мм в пробоотборной кассете с открытым торцом.

C.4.2.4 Процедура калибрации

Измерьте размеры выходного отверстия распылителя и рассчитайте площадь, выраженную в квадратных метрах (м2).

Рассчитайте расход воздуха, выраженный в литрах в минуту (л/мин), через небулайзер, необходимый для получения скорости выброса, выраженной в метрах в секунду (м/с).

Добавьте рекомендованный производителем объем суспензии спор в небулайзер.

Поместите выходное отверстие небулайзера в резиновую мембрану широкого конца фильтровальной воронки. Вставьте трубку пробоотборника через резиновую мембрану на противоположном конце фильтровальной воронки. Необходимо плотно приложить к концу пробоотборника.

Примечание - Имеются два типа пробоотборников (типа химического корпуса): пробоотборник с наконечником, погруженным в жидкость на 4 мм от дна колбы и пропускающим 6 л/мин при перепаде давления 56 кПа (0,56 бар) или более (пробоотборник ACE Glass № 7541), и пробоотборник, наконечник которого находится над поверхностью жидкости и пропускает 12,5 л/мин при перепаде давления 56 кПа (0,56 бар) или более, известный как AGI-30, (пробоотборник ACE Glass № 7540). Можно использовать любой из этих насадок. Если скорость подачи воздуха в небулайзер не соответствует точному значению 6 л/мин или 12,5 л/мин, выберите импинджер с большей скоростью и впустите через отверстие вокруг вставки небулайзера количество воздуха, равное разнице в двух потоках воздуха. Если небулайзер и импинджер должны работать с одинаковым расходом, рекомендуется обеспечить плотное прилегание мембраны с обеих сторон.

Подсоедините шланг к манометру, подключенному к расходомеру, а затем к небулайзеру.

Одновременно включите небулайзер, поддерживая поток воздуха через небулайзер для получения расчетной скорости на выходе 0,51 м/с, исходя из расхода воздуха и диаметра выпускного патрубка - 12,5 л/мин для 6-струйного коллайдера, описанного в данном приложении, и пробоотборник, работающий в соответствии с инструкциями производителя. Работайте небулайзером в течение 5 мин (с помощью таймера переключения) и пробоотборником в течение 5 мин 15 с.

Асептически перенесите жидкость для сбора пробоотборника в стерильный градуированный цилиндр объемом 500 мл. Промойте воронку, стержень пробоотборника и бутылку стерильной водой, чтобы убедиться, что собраны все споры, и соберите всю промывную воду в градуированный цилиндр.

Измерьте и запишите объем жидкости в градуированном цилиндре. Асептически перенесите всю жидкость в стерильную колбу с магнитной мешалкой и тщательно перемешайте.

Приготовьте серийные разведения и определите количественную концентрацию спор в пяти копиях.

Активно отбирайте клеточный споровый аэрозоль с помощью мембранного фильтра, находящегося в расчетном режиме. После завершения отбора проб окрасьте мембрану соответствующим красителем. Подсчитайте под микроскопом количество осадков, содержащих одну и более клеточных спор, в репрезентативных полях.

C.4.2.5 Расчет и представление результатов

Количество спор, доставленных за 5 минут = (коэффициент разбавления) x (среднее количество КОЕ на 5 пластинах).

Скорость воздуха, выходящего из распылителя = объем воздуха, измеренный в л/мин = 1,67 x 105 м3/с деленный на площадь выходного отверстия распылителя в м2. (см. также C.4.2.6).

Рассчитайте процентное содержание одноклеточных спор в общей пробе аэрозоля.

C.4.2.6 Альтернативный метод определения скорости потока воздуха в распылителе

Скорость воздушного потока, выходящего из распылителя, можно измерить в середине отверстия с помощью анемометра с горячей проволокой. Распылитель должен работать без жидкости. Максимальная скорость воздуха наблюдается в середине отверстия, а минимальная - по бокам из-за трения молекул воздуха о стенки. Это можно учесть с помощью уравнения, в котором объемный поток

2V

и средняя скорость оттока могут быть рассчитаны,

где

- поток воздуха, выраженный в литрах в минуту (л/мин);

*R* - внутренний радиус выпускного отверстия, выраженный в миллиметрах (мм);

*r* - поправочная константа (1,1), выраженная в миллиметрах (мм) для компенсации потерь из-за трения;

*V* - скорость, измеренная в середине выпускного отверстия, выраженная в метрах в секунду (м/с);

- расчетная средняя скорость на выходе из распылителя, выраженная в метрах в секунду (м/с).

Приложение D

(справочное)

Метод испытания на аэрозоль для обнаружения утечек в установленной системе фильтров HEPA

D.1 Принцип

Система HEPA-фильтров, установленная на БМБ, проверяется на герметичность путем воздействия на нее аэрозоля со стороны восходящего потока и измерения прохождения аэрозоля на сторону нисходящего потока.

D.2 Реагенты

Аэрозольный материал, используемый для диспергирования в генераторе аэрозолей.

D.3 Оборудование

Генератор аэрозоля, способный производить тестовый аэрозоль для проверки герметичности фильтра HEPA.

Измерительная система для определения концентрации тестового аэрозоля в восходящем и нисходящем потоке, способная определять не менее 5 лог. ставок концентрации.

Подходящими измерительными системами являются:

a) дискретный счетчик частиц с системой разбавления для обнаружения локального проникновения частиц > 0,3 мкм в количестве 0,01 % или менее; или

b) аэрозольный фотометр с верхним порогом измерения от 10 пг/л до 100 пг/л и диапазоном, охватывающим не менее 5 логарифмов концентрации.

D.4 Процедура

Запустите БМБ и подайте поток аэрозоля в подходящее место на верхней стороне HEPA-фильтров, уплотнений и конструкционных соединений, подлежащих испытанию. Убедитесь, что концентрация аэрозоля равномерна на поверхности HEPA-фильтра, расположенного выше по потоку.

Измерьте среднюю концентрацию аэрозоля выше по потоку.

Просканируйте расположенную ниже по потоку сторону фильтра HEPA, пропуская зонд для обнаружения аэрозоля слегка внахлест по всей поверхности фильтра HEPA. Просканируйте всю периферию фильтра, стык между фильтром и монтажной рамой фильтра.

Определите скорость сканирования в поперечном направлении, время взятия образца и фактическое количество частиц, которое характеризует утечку.

D.5 Представление результатов

Представить результат в виде концентрации аэрозоля в восходящем потоке, концентрации аэрозоля в нисходящем потоке и отношения концентраций в процентах.

Если используется дискретный счетчик частиц, то локальная проницаемость HEPA-фильтра с интегральной проницаемостью 0,005 % должна составлять не более 0,05 % (см. библиографию [14], [15, [16]).

При использовании аэрозольного фотометра локальная проницаемость HEPA-фильтра должна составлять не более 0,01 % (см. библиографию [15], [16], [17]).

D.6 Отчет об испытаний

Включить результат испытания и ссылку на использованный метод (т.е. приложение D к EN 12469:2000) в документации, указанной в пункте 9.

Приложение E

(обязательное)

Метод испытания на защиту продукции для БМБ класса II

E.1 Принцип

Способность БМБ защищать продукцию проверяется путем определения загрязнения культуральных пластин, разложенных на рабочей поверхности, аэрозолем суспензии микробиологических спор из распылителя, размещенного вне БМБ.

Поток воздуха, поступающий в шкаф, нарушается для имитации воздействия руки рабочего путем введения цилиндра через переднее отверстие.

Испытание проводится при номинальной заданной температуре.

E.2 Реактивы

Суспензия спор, состоящая из спор непатогенной бактерии, например, Bacillus subtilis var. globigii (номер ссылки NCTC 10073), в стерильной дистиллированной воде.

Культуральные пластины, состоящие из чашек Петри диаметром 90 мм, содержащих питательный агар или триптический соевый агар.

E.3 Оборудование

Распылитель, способный генерировать не менее 107 спор/мин, при этом скорость несущего воздуха, измеренная у передней апертуры шкафа по методу Хино и Сато (см. Библиографию [18]), не должна превышать скорость воздуха внутри шкафа.

Примечание - Распылители модели Коллисона оказались подходящими (см. Библиографию [19]).

Металлический цилиндр диаметром от 60 мм до 65 мм с гладкой поверхностью, закрытый с одного конца, закрепленный на регулируемой подставке**.**

E.4 Процедура

Откалибруйте распылитель, как указано в разделе C.4.2.

Покройте рабочую поверхность открытыми агаровыми пластинами с цилиндром в средней точке. Расположите горизонтальную ось распылителя, содержащую 55 мл суспензии спор (от 5 до 8) x 106 спор Bacillus subtilis/мл) на уровне верхнего края рабочего отверстия и по центру между двумя сторонами шкафа, так чтобы отверстие распылителя находилось на расстоянии 100 мм от окна. Ось распыления параллельна рабочей поверхности и направлена на открытую переднюю часть шкафа.

Поместите цилиндр с внешним диаметром 65 мм с закрытыми концами в центр шкафа. Расположите цилиндр в шкафу так, чтобы один его конец упирался в заднюю стенку шкафа, другой конец выходил в помещение не менее чем на 150 мм через переднее отверстие шкафа, а ось цилиндра находилась на высоте 70 мм над рабочей поверхностью.

В качестве положительного контроля поместите пластину агара под центр цилиндра и поддерживайте ее

на 10 мм выше или ниже передней решетки воздухозаборника, чтобы минимизировать препятствие или поток воздуха в решетку.

Включите БМБ и дайте ему поработать до достижения нормальных условий эксплуатации, т.е. не менее чем за 30 мин до начала любого испытания.

Взвесьте распылитель и работайте в течение 5 мин. Через пять минут после прекращения распыления поместите крышки на агаровые пластины и снова взвесьте распылитель.

Выполните три повтора.

Инкубируйте планшеты при 37 °C и исследуйте их через (24-28) ч. Если результат отрицательный, повторно инкубируйте и исследуйте через (44-48) ч.

Контрольные пластины должны быть положительными. Пластина считается «положительной», если она содержит более 300 КОЕ B*. subtilis*.

E.5 Расчет и представление результатов

Рассчитайте и представьте результат в виде количества распыленных спор, *N*, как указано в п. C.2.4. Подсчитайте и представьте результат как общее количество КОЕ, выделенных со всех агаровых пластин.

E.6 Отчет об испытаний

Включить результат испытания и ссылку на использованный метод (т.е. приложение E к EN 12469:2000) в документации, указанной в пункте 9.

Приложение F

(обязательное)

Метод испытания защиты от перекрестного загрязнения для БМБ класса II

F.1 Принцип

Способность БМБ защищать от перекрестного загрязнения проверяется путем определения загрязнения культуральных пластин, разложенных на рабочей поверхности, аэрозолем суспензии микробиологических спор из распылителя, помещенного внутрь БМБ.

Примечание - Точка, в которой ламинарный нисходящий поток воздуха разделяется, и его части направляются в переднюю впускную и заднюю выпускную решетки, не всегда находится в центре внутренней боковой стенки. Поэтому для правильного размещения небулайзера необходимо определить эту линию разделения. Эту точку можно легко определить с помощью теста с дымовой трубкой (см. Библиографию [18]).

Поток воздуха, поступающий в шкаф, нарушается для имитации воздействия руки рабочего путем введения цилиндра через переднее отверстие.

Испытание проводится при номинальном заданном значении.

F.2 Реагенты

Суспензия спор, включающая споры непатогенной бактерии, например, *Bacillus subtilis* *var. globigii* (NCTC, номер ссылки 10073), в стерильной дистиллированной воде.

Культуральные пластины, включающие чашки Петри диаметром 90 мм, содержащие питательный агар или триптический соевый агар.

F.3 Обрудование

Распылитель, способный генерировать не менее 107 спор/мин, при этом скорость несущего воздуха, измеренная у переднего отверстия шкафа по методу Хино и Сато (см. Библиографию [18]), не должна превышать скорость воздуха внутри шкафа.

Примечание - Распылители модели Коллисона были признаны подходящими (см. библиографию [19]).

F.4 Процедура

F.4.1 Откалибруйте небулайзер, как указано в п. C.4.2.

F.4.2 Взвесьте распылитель, содержащий 55 мл суспензии спор ((5-8) x 104 спор *Bacillus subtilis*/мл), и расположите его так, чтобы горизонтальная ось распыления распылителя находилась на высоте (75-125) мм над рабочей поверхностью, а задняя часть распылителя была прижата к левой внутренней стенке в месте разделения нисходящего потока воздуха (дымовой тест). Ось распыления параллельна рабочей поверхности и направлена на противоположную боковую стенку.

F.4.3 Включите БМБ и дайте ему поработать до достижения нормальных условий эксплуатации, т.е. не менее чем за 30 мин до начала любого испытания.

F.4.4 Поместите открытые агаровые планшеты для отстаивания на рабочую поверхность. Поместите два ряда контрольных пластин так, чтобы их центральная линия находилась под выходным отверстием распылителя. Поместите один ряд пластин так, чтобы их центры находились на линии, проведенной спереди назад на расстоянии 355 мм от тестируемой боковой стенки. Расположите еще как минимум один ряд пластин за пределами ряда 355 мм; два ряда, если есть место.

F.4.5 Запустите небулайзер. Через 5 минут остановите небулайзер, но продолжайте эксплуатировать шкаф в течение 15 минут. Повторно взвесьте распылитель.

F.4.6 Дайте двигателю шкафа поработать, поместив крышки на открытые агаровые пластины. Инкубируйте пластины при 37 °C и исследуйте их через (24-28) ч. Если результат отрицательный, повторно инкубируйте и исследуйте через (44-48) ч.

F.4.7 Повторите процедуры с F.4.3 по F.4.6, но поместите распылитель к соответствующей точке правой внутренней стенки.

F.4.8 Выполните по три повтора с левой и правой сторон шкафа.

F.4.9 На некоторых агаровых пластинах, от боковой стенки до 355 мм от боковой стенки, будут обнаружены КОЕ B. subtilis, и они должны использоваться в качестве контроля**.**

F.5 Расчет и представление результатов

Рассчитайте и выразите результат как количество распыленных спор, N, как указано в C.2.4. Подсчитайте общее количество КОЕ, выделенных на агаровых пластинах с центром более 355 мм.

F.6 Отчет об испытаний

В документацию, указанную в пункте 9, необходимо включить результат испытания и ссылку на использованный метод (т.е. приложение F к EN 12469:2000).

Приложение G

(справочное)

Метод измерения объемного расхода воздуха

G.1 Принцип

Объемный расход воздуха измеряется с помощью анемометра, умножающего измерение на площадь сечения, или измерительного устройства, подходящего для измерения объемного расхода воздуха в воздуховодах.

Испытание проводится при номинальном заданном значении.

**G.2 Прибор**

Анемометр с подходящим диапазоном и чувствительностью.

Примечание - Анемометры следует калибровать через регулярные промежутки времени в соответствии с рекомендациями производителя.

Измерительный прибор, подходящий для измерения объемного расхода воздуха в вытяжном канале.

**G.3 Процедура**

**G.3.1 БМБ класса I**

Включите БМБ. Расположив анемометр в плоскости передней диафрагмы, произведите измерения скорости воздуха в течение не менее 1 мин для каждого измерения как минимум в пяти точках, а именно в геометрическом центре передней диафрагмы и в каждом из четырех ее углов, при этом центр анемометра должен находиться на расстоянии 50-55 мм от правого или левого края передней диафрагмы, а также сверху или снизу.

**G.3.2 БМБ класса II**

G.3.2.1 Нисходящий поток

Включите БМБ. С анемометром внутри БМБ проведите измерения скорости воздуха в горизонтальной плоскости на высоте от 50 до 100 мм над верхним краем передней диафрагмы. Проводите измерения в течение не менее 1 мин в каждом положении не менее чем в восьми положениях, а именно: четыре вдоль линии на 1/4 глубины рабочего пространства перед задней стенкой и четыре вдоль линии на таком же расстоянии за передним окном. Убедитесь, что измерения проводятся вдоль этих линий на расстоянии 1/8 и 3/8 ширины рабочего пространства как с левой, так и с правой стороны.

G.3.2.2 Приток

Включите БМБ. Измерьте среднюю скорость воздушного потока в вытяжном канале с помощью подходящего измерительного прибора.

Умножьте полученную среднюю скорость на площадь вытяжного канала, чтобы получить объемную скорость выхода вытяжного воздуха из БМБ. Разделите объем выходящего воздуха на площадь поперечного сечения передней диафрагмы, чтобы получить среднюю скорость входящего воздуха через переднюю диафрагму.

Примечание - Метод измерения объемного расхода воздуха в круглых вытяжных каналах приведен в BS 848-1:1997, пункт 23 (см. Библиографию [21]).

G.3.3 БМБ класса III

G.3.3.1 Приток через открытое отверстие для перчаток

Включите БМБ. Расположив анемометр в центре одного открытого отверстия для перчаток, регистрируйте измерение скорости воздуха в течение не менее 1 мин. Повторите эту процедуру с анемометром в центре другого открытого отверстия для перчаток.

G.3.3.2 Приток воздуха через входной фильтр

Включите БМБ. Измерьте среднюю скорость воздушного потока в вытяжном канале с помощью подходящего измерительного прибора.

Умножьте полученную среднюю скорость на площадь вытяжного канала, чтобы получить объемный расход отработанного воздуха из БМБ, равный притоку через впускной фильтр.

Примечание 1 - Метод измерения расхода воздуха в круглых вытяжных каналах приведен в   
BS 848-1, пункт 23 (см. Библиографию [21]).

Примечание 2 - Может оказаться полезным снять показания на лицевой стороне входного фильтра. Хотя это и не обеспечит точного измерения притока воздуха, но даст пользователю представление о засорении фильтра в течение определенного периода времени.

**G.4 Выражение результатов**

Выражайте результаты в виде среднего объемного расхода воздуха или средней скорости воздушного потока либо умножением средней скорости воздуха на площадь поперечного сечения, либо прямым считыванием показаний измерительного прибора.

Средний объемный расход воздуха выражается в кубических метрах в секунду (м3/с). Средняя скорость воздушного потока выражается в метрах в секунду (м/с).

**G.5 Отчет об испытаниях**

Содержит результат испытания и ссылку на использованный метод (т.е. приложение G к EN 12469:2000) в документации, указанной в пункте 9.

Приложение H

(справочное)

Дизайн БМБ и скорости воздушного потока в БМБ

H.1 Общие сведения

В таблице H.1 описаны типичные скорости воздушного потока для трех классов БМБ.

Таблица H.1. Скорости воздушного потока для трех классов БМБ

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Класс | Средняя скорость притока для обеспечения защиты оператора | Средняя скорость нисходящего потока для обеспечения защиты продукта |
| I | > 0,7 м/с - 1,0 м/с | Не применяется |
| II | ≥ 0,4 м/с | 0,25 м/с - 0,50 м/с |
| III | ≥ 0,7 м/с с одной снятой перчаткой | Не применяется |

H.2 БМБ класса I

Направление воздушного потока, подтвержденное дымом или другими визуальными испытаниями, например водяным туманом, должно быть направлено внутрь по всей площади передней апертуры (см. библиографию [22]).

При испытаниях в соответствии с приложением G измеренные скорости воздуха во всех точках должны соответствовать таблице H.1 в условиях эксплуатации.

Примечание 1 - При типовых испытаниях испытания проводятся с неиспользованными фильтрами.

Примечание 2 - Скорость воздушного потока > 1 м/с может создавать недопустимую турбулентность.

H.3 БМБ класса II

H.3.1 Общие положения

Конструкция должна обеспечивать невозможность загромождения передних воздухозаборных отверстий.

Объем предполагаемого рабочего пространства должен быть соответствующим образом обозначен на рабочей поверхности.

Зона подачи воздуха в рабочее пространство должна быть без выступов или полостей, которые могут препятствовать герметизации.

Направление воздушного потока, продемонстрированное с помощью дыма или других визуализационных тестов, например, водяного тумана, должно быть направлено внутрь по всей площади переднего проема и вниз без излишней турбулентности на рабочей поверхности (см. Библиографию [22]).

H.3.2 Нисходящий поток

При испытаниях в соответствии с методом, приведенным в приложении G, средняя скорость нисходящего потока воздуха должна соответствовать таблице H.1 в рабочих условиях. Ни одно отдельное измерение не должно отличаться от среднего значения более чем на 20%.

H.3.3 Остановка/запуск БМБ

Включение и выключение шкафа должно осуществляться только с помощью специального инструмента (например, ключа, магнитной карты). Вентилятор(ы), остановившийся(иеся) из-за отключения питания, должен(ы) автоматически перезапускаться при повторном включении питания.

**H.3.4 Остановка/запуск БМБ**

Включение и выключение шкафа должно осуществляться только с помощью специального инструмента (например, ключа, магнитной карты). Вентиляторы остановившиеся из-за отключения питания, должны автоматически перезапускаться при повторном включении питания.

Приложение J

(справочное)

Рекомендации по обеззараживанию, очистке и дезинфекции БМБ и фильтров

J.1 Обеззараживание и очищение

Все БМБ должны содержаться в чистоте и быть свободными от лишнего оборудования. Внутренние поверхности после использования следует протирать подходящим дезинфицирующим средством. Для дезинфекции этих поверхностей можно использовать фенолы, четвертичные аммониевые соединения и альдегиды. При использовании хлорных соединений следует помнить об их коррозийной природе. Спирты следует использовать с осторожностью из-за риска возгорания. При очистке БМБ следует надевать прочные перчатки из поливинилхлорида (ПВХ) или резины, обеспечивающие надежную защиту рук и запястий и поддающиеся дезинфекции для повторного использования.

Примечание 1 - В случаях, когда фумигация может оказаться неэффективной, может потребоваться конструкция БМБ, позволяющая удалить их из помещения для подходящей утилизации, например, сжигания.

Примечание 2 - При выборе дезинфицирующих средств следует учитывать аспекты гигиены труда.

J.2 Фумигация

БМБ следует фумигировать в следующих случаях:

a) перед любыми работами по техническому обслуживанию шкафа, когда необходим доступ к потенциально загрязненным частям (содержать замену фильтров и фильтров предварительной очистки, если они использовались для работы с опасными микроорганизмами);

b) перед проведением испытаний фильтра на проникновение;

c) после разлива, когда недоступные поверхности могут быть загрязнены.

Примечание 1 - В некоторых случаях может потребоваться фумигация при изменении характера работ.

Фумигация должна проводиться ответственным лицом, имеющим достаточные знания о процедуре и мерах предосторожности, которые необходимо соблюдать. Предупреждение о том, что шкаф подвергается фумигации, должно быть вывешено.

Обеззараживание всего шкафа, включая фильтры, блок вентилятора и рабочие поверхности, чаще всего осуществляется путем фумигации парами формальдегида. В качестве альтернативы можно использовать, например, перекись водорода. Однако в некоторых случаях это может быть нецелесообразно, так как необходимо соблюдать местные правила.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ Пары формальдегида взрывоопасны при объемной доле   
7,75 % в сухом воздухе; температура воспламенения 430 °C. Следует учитывать национальные пределы воздействия на работников.

Необходимо рассчитать объем шкафа и использовать достаточное количество формальдегида для создания стойкой концентрации в воздухе не менее 50 мг/м3.

Пары формальдегида могут образовываться в результате:

- испарения формалина (объемная доля в воде ± 36 %).

Примечание 2 - на кубический метр объема шкафа должно испаряться 60 мл формалина и 60 мл воды.

- деполимеризация параформальдегида при нагревании, при условии наличия достаточной влажности.

Формальдегид плохо проникает внутрь, и его эффективность зависит от температуры и влажности. Он наиболее эффективен при температуре выше 20 °C и относительной влажности 65 %. Использование чрезмерного количества может привести к осаждению полимера внутри шкафа и способствовать засорению фильтра.

Перед фумигацией шкаф следует герметизировать, чтобы исключить утечку формальдегида в лабораторию или другие помещения. Фумигацию удобнее всего проводить в течение ночи. Можно использовать более короткий период экспозиции, определяемый подходящими биологическими тестами, но он не будет меньше 4 ч.

Процедуры фумигации шкафов и фильтров должны обеспечивать воздействие формальдегида на нижнюю сторону фильтров HEPA и воздуховодов в течение периода, достаточного для инактивации микроорганизмов, проникших через фильтр. Для этого потребуется время экспозиции более 6 ч.

Для обеспечения адекватной фумигации после образования паров формальдегида при отсутствии специальных рекомендаций производителя следует придерживаться следующей процедуры:

i) после испарения примерно половины формалина включите вентиляторы шкафа на 10-15 с, чтобы формальдегид проник во все помещения;

ii) после завершения испарения включите вентиляторы шкафа на 10-15 с.

Даже после такой обработки HEPA-фильтры следует рассматривать только как «безопасные для работы с использованием соответствующей защитной одежды», а не как стерильные, и после удаления их следует автоклавировать или сжигать. После фумигации следует снять пломбы со шкафа и включить вытяжной вентилятор на время, достаточное для удаления остаточных паров формальдегида, прежде чем использовать шкаф или проводить техническое обслуживание.

Для шкафов с рециркуляцией воздуха в помещении используемая система фумигации должна исключать воздействие на персонал уровней, превышающих требуемые компетентными органами, например, путем удаленного расположения органов управления шкафом или использования временных воздуховодов для отвода воздуха наружу. Необходимо предусмотреть средства защиты органов дыхания, подходящие для формальдегида, для использования в случае чрезвычайной ситуации.

Приложение K

(справочное)

Рекомендации по регулярному поддержанию БМБ

K.1 Общие сведения

Регулярные испытания по техническому обслуживанию должны проводиться на МСС класса I, класса II и класса III через регулярные интервалы времени или по решению регулирующих органов.

Все оборудование, используемое для этих испытаний, должно регулярно калиброваться, о чем должны иметься соответствующие сертификаты. Кроме того, дата последнего технического обслуживания должна быть указана на видном месте.

Необходимо убедиться, что противовыбросовый клапан, если он имеется, функционирует и хорошо виден.

K.2 МSC класса I

Все внутренние и внешние поверхности защитного шкафа должны быть визуально осмотрены на предмет отсутствия дефектов поверхности, трещин и других повреждений.

Система вытяжных каналов, если она имеется, должна быть визуально проверена на отсутствие дефектов, трещин и других повреждений, а также на наличие четкой маркировки.

Индикатор(ы) воздушного потока и сигнализация(и) должны быть осмотрены и проверены, при необходимости откалиброваны в соответствии со спецификацией производителя.

K.3 МSC класса II

Все внутренние и внешние поверхности защитного шкафа должны быть визуально осмотрены на предмет отсутствия дефектов поверхности, трещин и других повреждений.

Система вытяжных каналов, если таковая имеется, должна быть визуально проверена на отсутствие дефектов, трещин и других повреждений, а также на наличие четкой маркировки.

Индикаторы сигнализации должны быть проверены в соответствии со спецификацией производителя. Если сигнализатор требует калибровки, производитель должен указать интервалы времени повторной калибровки для предотвращения срабатывания сигнализации вне пороговых пределов.

Скорость нисходящего воздуха в рабочей зоне шкафа следует измерять в соответствии с методом, приведенным в приложении G, согласно инструкциям изготовителя и в соответствии с таблицей H.1.

Фильтр предварительной очистки, если он установлен, должен быть заменен до проведения измерений скорости воздушного потока. В шкафах с двумя вытяжными фильтрами каждый фильтр должен быть проверен отдельно.

K.4 МSC класса III

Все внутренние и внешние поверхности защитного шкафа должны быть визуально осмотрены, чтобы убедиться в отсутствии дефектов поверхности, трещин и других повреждений.

Манометр следует проверить и при необходимости откалибровать в соответствии со спецификацией производителя.

Система вытяжных каналов, если она имеется, должна быть визуально проверена на отсутствие дефектов, трещин и других повреждений, а также на наличие четкой маркировки.

Индикаторы сигнализации должны быть проверены в соответствии со спецификацией производителя. Если сигнализатор требует калибровки, производитель должен указать интервалы времени для повторной калибровки, чтобы предотвратить выход сигнализатора за пределы пороговых значений.

Целостность фильтров и уплотнений следует проверять с помощью испытания на проникновение масляного аэрозоля в соответствии с приложением D, а результаты, содержащие данные по впускным и выпускным фильтрам, должны соответствовать 7.5. Поток воздуха через каждое открытое отверстие для перчаток следует измерять в соответствии с приложением G, и он должен составлять не менее 0,7 м/с.

Поток воздуха через входной фильтр, когда перчатки закреплены и в шкафу создается отрицательное давление не менее 200 Па, должен быть измерен в соответствии с приложением G и составлять не менее 3 м3/мин на каждый кубический метр объема шкафа. Предварительный фильтр, если он установлен, должен быть заменен до проведения измерений воздушного потока.

Необходимо проверить рабочее давление в шкафу, которое должно быть не менее -200 Па (по отношению к лабораторному).

**Приложение В.А**

*(информационное)*

**Сведения о соответствии стандартов ссылочным международным, региональным стандартам, стандартам иностранных государств**

**Таблица В.А.1 - Сведения о соответствии стандартов ссылочным международным, региональным стандартам, стандартам иностранных государств**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Обозначение и наименование ссылочного международного, стандарта | Обозначение и наименование международного стандарта | Степень соответствия | Обозначение и наименование национального стандарта, межгосударственного стандарта |
| EN 1822-1 Высокоэффективные фильтры очистки (HEPA и ULPA). Часть 1: Классификация, методы испытаний, маркировка. (High efficiency air filters (HEPA and ULPA) - Part 1 Classification, performance testing, marking.) | - | IDT | ГОСТ EN 1822-1-2014 Фильтры воздушные высокоэффективные (EPA, HEPA и ULPA) Часть 1. Классификация, методы испытаний, маркировка. (IDT EN 1822-1:2009) |
| EN 61010-1 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 1. Общие требования (Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use - Part 1: General requirements) | - | IDT | ГОСТ 12.2.091-2012 (IEC 61010-1:2001) Безопасность электрического оборудования для измерения, управления и лабораторного применения. Часть 1. Общие требования |

Библиография

[1] EN 61010-1 Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 1. Общие требования.

[2] EN 292-1 Безопасность машин и механизмов. Основные положения и общие принципы конструирования. Часть 1. Основная терминология, методология.

[3] EN 292-2 Безопасность машинного оборудования. Основные положения, общие принципы проектирования. Часть 2. Принципы и технические условия.

[4] EN 12741 Биотехнология. Лаборатории для исследований, разработок и анализа. Руководство по работе биотехнологических лабораторий.

[5] EN ISO 3744 Aкустика – Определение уровней звуковой мощности и звуковой энергии источников шума по звуковому давлению – Технический метод в существенно свободном звуковом поле над звукоотражающей плоскостью (ISO 3744:1994).

[6] ISO 11201 Акустика – Шум машин – Определение уровней звукового давления излучения на рабочем месте и в других контрольных точках в существенно свободном звуковом поле над звукоотражающей плоскостью.

[7] ISO 4871 Акустика. Заявленные значения шумоизлучения машин и оборудования и их проверка.

[8] ISO 5349 Вибрация механическая. Измерение и оценка воздействия на человека вибрации, передаваемой через руки. Часть 2. Практическое руководство по измерению вибрации на рабочем месте. Изменение 1.

[9] Мэй, К.Р., и Харпер, Г.Дж. Эффективность различных жидкостных пробоотборников для бактериальных аэрозолей. Британский журнал промышленной медицины. 1957, 14, 287-297.

[10] Ферст, М.В., Стюарт, Д., Вебб, Т. Отчет Специальной целевой группы NSF Standard Number 49 по рекомендации изменений в приложении C, 5 ноября 1986 г.

[11] Фоорд, Н., и Лидвелл, О.М. Воздушно-капельные инфекции в больнице с полным кондиционированием воздуха, II. Перенос воздушно-капельных частиц между помещениями в результате перемещения воздуха из одной комнаты в другую. Кембриджский гигиенический журнал. 1975, 75, 31-44.

[12] Лидвелл, О.М. Оценка вентиляции. Журнал гигиены, Кембридж. 1960, 58, 297-305.

[13] Бурдиллон, Р.Б., Лидвелл, О.М., и Томас, Дж.К. Журнал гигиены, Кембридж. 1941, 41, 197-224.

[14] VDI 2083 Часть 3 Entwurf: Контроль загрязнения - Техника измерения для помещений с чистым воздухом. Февраль 1993 г.

[15] IES-RP-CC006.2: Испытания чистых помещений. Институт наук об окружающей среде, Маунт Проспект, Иллинойс 60056, 1993.

[16] ISO/CD 14644-3 Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды - Часть 3: Метрология и методы испытаний.

[17] EUROVENT 4/8: Испытание на герметичность высокоэффективных фильтров в чистых помещениях. Европейский комитет по оборудованию для обработки воздуха и кондиционирования воздуха.

[18] Хино, С., и Сато, Х. Коллисон. 6-струйный распылитель: выбор для сертификационного испытания шкафа биологической безопасности класса II. Японский журнал экспериментальной медицины. 1984, 54(1), 29-38.

[19] Редекер Ф., Хунерт Р., Ронен М. и Ханш Л. Функционирование фильтров HOSCH в ламинарно-поточных аппаратах. Фарм. Инд. 1987, 49, 96-97.

[20] Мэй, К.Р. Распылитель Коллисона: описание, характеристики и применение. Журнал аэрозольной науки. 1973, 4, 235-243.

[21] BS 848-1:1997 Вентиляторы общего назначения - Часть 1 : Испытание производительности с использованием стандартизированных воздушных путей.

[22] Кеннеди, Д.А. Водяной туман как средство визуализации воздушных потоков. Летописи гигиены труда. 1987, 31, 255-259.

[23] prEN ISO 14738:1997 Безопасность машин - Антропометрические требования к проектированию рабочих мест на машинах (ISO/DIS 14738:1997).

[24] Кларк Р.П., Эллиотт К.Дж. и Листер П.А. Сравнение методов измерения факторов защиты оператора в шкафах микробиологической безопасности с открытым фронтом. Журнал прикладной бактериологии. 1981. 51, 461-473.

[25] Кларк Р.П. и Гофф М.Р. Метод йодистого калия для определения коэффициентов защиты в микробиологических шкафах безопасности с открытым фронтом. Журнал прикладной бактериологии. 1981. 51, 439-460.

**МКС 07.100.10**

**Ключевые слова:** Боксы микробиологической безопасности (БМБ), защита изделия, рабочее пространство, классы показателей, классификация, подтверждение результатов.

**МКС 07.100.10**

**Ключевые слова:** Боксы микробиологической безопасности (БМБ), защита изделия, рабочее пространство, классы показателей, классификация, подтверждение результатов.

**Разработчик:**

**РГП на ПХВ «Казахстанский институт стандартизации и метрологии»**

|  |  |
| --- | --- |
| **Заместитель**  **Генерального директора** | **Е. Амирханова** |
| **Руководитель**  **Департамента разработки стандартов** | **А. Сопбеков** |
| **Ведущий специалист** | **Н. Жакиш** |

1. ) Американская коллекция типовых культур, Роквилл, штат Массачусетс, США [↑](#footnote-ref-1)
2. ) Национальная коллекция типовых культур, Лондон, Англия [↑](#footnote-ref-2)
3. ) Воздушные образцы щелевого типа со скоростью воздуха в щели (60 ± 10) м/с. Расстояние между нижним отверстием струи и поверхностью агаровой среды должно быть не более чем в 3-6 раз больше расстояния между верхним и нижним отверстиями щели. Для каждого испытания необходимо два образца щелевого типа. [↑](#footnote-ref-3)
4. ) Модель небулайзера CN-38 является примером подходящего изделия, имеющегося в продаже. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего европейского стандарта и не является одобрением этих продуктов со стороны CEN. [↑](#footnote-ref-4)