

生物安全柜操作者临床防护测试-----碘化钾测试

Lin Xiang Qian, 副总裁, 新加坡 ESCO 公司

Alexander Atmadi, 技术服务经理, 新加坡 ESCO 公司

Amit Kumar Singh, 生物医学工程师

介绍

实验室获得型传染病(LAIs)被世界各个微生物组织所关注。每年来自世界各个研究机构的安全报告中有多起由于试验操作中的气溶胶或飞溅物质而感染致死的个案,尤其是生物实验室的研究人员 (Kruse et al. 1991; Collins 1993)。使用生物安全柜是消除 LAIs 的有效方法之一。世界上多种立法机构、国际标准制定机构以及一些生产商都尝试制定了一些关于前开式防护系统的标准防护测试方法。操作者防护测试被公认作为常规服务系统中的一部分,用以确认生物安全柜是否满足性能要求水平,同时对可能影响安全柜安全防护性能的环境因素给予及时的发现和校正。

对于欧洲和北美洲的很多地区,操作者防护测试(OPTs)只是在初期产品认证时被要求,而在产品的实际安装或者随后的过程中,比如说维修中,却未做出规定。此外遗憾的是,各个国家之间的防护要求,所推荐的测试方法和协议没有完全的可比性(Anon. 1992; Richmond and McKinney 1995; Anon 1998)。制造商在不同国家提供的各种标准要求下,采用不同的测试方法。实验室最常用的前开式防护系统是生物安全柜(BSCs)。本篇论文着重介绍在一间新加坡的第三方医院(新加坡中央医院)所完成的生物安全柜独特的KI-DISCUS-碘化钾测试。

研究目的

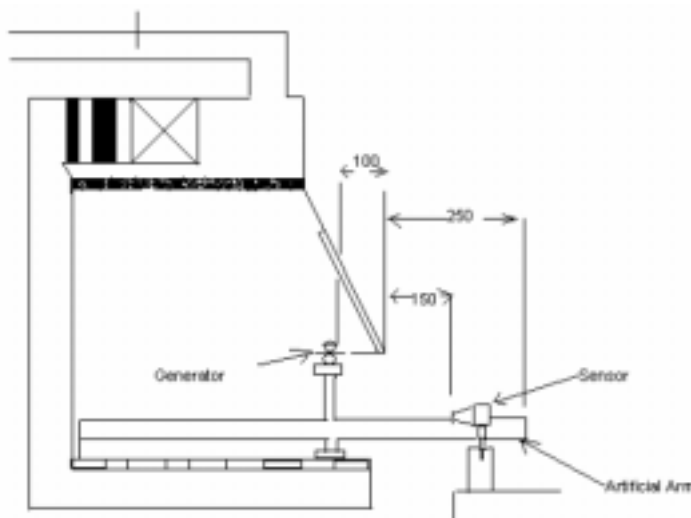
有些用户可能没有认识到生物安全柜的性能很大程度上依赖于安装时柜体是否安置在实验室合适的位置。例如:从实验室进入到柜体中的进气流的速度值经常会很低(大约0.5m/s),这样很容易在实验室出现空气湍流时,柜体受到干扰,譬如,空调的出风口/扩散口。一台生物安全柜在制造完成后,可能在制造商的实验室或是在独立颁证机构的测试试验室内可以完全达到性能指标,但是却可能在安全运输情况下,安装后无法符合性能指标。研究采用的是新加坡第三方医院的生物安全柜。希望通过此次试验说明:制造商的实验室或是在独立颁证机构的测试试验室的测试条件是理想化的,而这些条件有时和实际条件并不一致。标准的生物安全柜的检测包括:气流速度检测(进气气流、下沉气流),气流烟雾示范测试,噪音测试,震动测试,灯光测试,UV强度测试,及通过激光颗粒计数器检测空气的洁净等级。



研究方法

KI-DISCUS-碘化钾测试法是定义在欧盟微生物安全柜标准 EN12469 : 2000 上，衡量柜体对操作者防护能力的测试方法。碘化钾的设计是用来测试 Class I 和 Class II 型前窗开口式生物安全柜。与通常的微生物挑战实验不同的是，碘化钾测试法的优越之处在于它是唯一可以当场验证安全柜污染控制性能的测试：碘化钾测试法可以在较短的时间内提供相同的检测结果。当利用微生物培养的方法需要 48 个小时的培养时间以检测菌落数的时候，碘化钾测试法可以在开始后的 45 分钟内得到可信的检测结果，而且所使用的 KI 不会污染实验室环境，因此，这对于安全柜的现场检测具有更实际的意义。

喷嘴涡流盘喷出碘化钾微滴均匀气雾，模拟气溶胶，从而来测量生物安全柜是否受到污染。具有向心力的采集器，将采集空气和碘化钾的颗粒随流动空气穿过滤膜。当采集结束后，将滤膜放置到氯化钡溶液中，氯化钡和碘化钾液滴会形成清晰和很容易分辨的棕色斑点。已知喷雾发生器产生的 KI 液滴的数量，和空气样本中收集到的 KI 液滴的数量，就可以得出安全柜的口径保护参数(A_{pf})。口径保护参数(A_{pf})是一个比值，它是指在一个开放的操作台上，从安全柜逸出的颗粒数量和实验中完全释放的颗粒数量的比。



独特的碘化钾试验
 (所有尺寸单位为 mm)

按下 KI-DISCUS 的柜体上标有自动字样的吸风机按钮，这个按钮位于柜体的下部，同时柜体带有喷嘴涡流盘和数字计时器也按钮按下后同时开始工作。大约 15-16 秒之后，控制面板显示喷嘴涡流盘已经达到正确的转速 28,000rpm。此时，蠕动泵开启。数字计时器确定输送到喷嘴涡流盘的液体量。一旦蠕动泵运转，20mlKI 溶液就会被输送到喷嘴涡流盘的储蓄瓶中。数字计时器显示的是输送这 20mlKI 溶液所需要的时间。数字计时器由程序控制，当 20ml 溶液输送完毕后，数字计时器停止，时间大约为 9 分钟。5-6 秒后，将吸风机关闭。

滤膜的材料是硝酸纤维素，孔径为 3 微米，直径 25mm，20 秒后从采样器中取出，以确保吸入完全停止。放入有氯化钡溶液的皮氏培养皿中，与空气接触的那面朝上。10 秒钟之后，滤膜吸入了饱和的氯化钡溶液使所有附着的碘化钾颗粒变成可见的棕色斑点。滤膜取出，被浸润到蒸馏水里 3-4 秒。在这之前，要准备一张吸满清水的纸作为参照。

结果与讨论

根据 EN12469 : 2000，当每个采集器所采集的样本吸附到滤膜上，放置到氯化钡溶液中形成的棕色斑点应该不多于 62 个，这样 A_{pf} 值不应该低于 100,000。

$$A_{pf} = \frac{N \times V}{10^4 \times n}$$

$$\text{Therefore } = \frac{6,200,000}{n}$$

N : 所释放的颗粒数量 = $3.1 \times 10^7 \times M$

M : 输送的 KI 溶液的体积 = 20ml


V : 采样速率 = $100 \text{ dm}^3/\text{min}$

n : 棕色斑点的数量

样本采集于 28 台用于 KI-DISCUS 试验的生物安全柜。这些用来采集样本的生物安全柜来自不同的制造商。在这些样本中只有一个样本没有通过试验，其棕色斑点超过了 62 个。(见表 1)未通过的主要原因是因为其进气的流速太低，测量为 0.36m/s，而在 EN12469 : 2000 标准中定义的最小进气流速为 0.4m/s。研究结果引起了医院权威人士的注意，他们采取必要的行动并且通知制造商按照安全柜的年度维修合同来修正空气流速。对于安全柜防护不力的理解是很有价值的，一方面它用来修改实验室的试验条例，令一方面它使操作者认识到操作中的麻痹大意可能带来的危险。(Rake 1978; Kruse et al, 1991)

生物安全柜需要不断的监控，以确保对操作者的安全防护达到了设计的水准。(Clark et al, 1990; Osborne and Durkin 1991)。原则上讲，安全柜防护实效很可能是由是不正确的技术安装和检测引起的，因为这样就无法发现并克服环境干扰因素，从而危及安全柜的操作人员安全防护性能。然而，确保生物安全柜可以稳定达到很高的安全防护水平，从而有效的控制生物有害的传播，是非常重要的工作。由于技术和设备的要求，上述的安全柜检验工作，往往无法由终端用户来完成。



生物安全柜-独特的 KI 测试						
序号	传感器(最多为 60 个棕色斑点)				结果	备注
	Xi	X	Yi	Y		
1	>100	>100	>100	>100	失败	 <p>KI Discus Testing</p> <p>结果分析: 除了一台安全柜外,其他结果都很令人满意。研究结果引起了医院权威人士的注意,他们采取必要的行动并且通知制造商按照维修合同手册修正安全柜的空气流速。</p>
2	27	10	11	5	通过	
3	3	10	1	46	通过	
4	4	8	6	15	通过	
5	0	2	4	0	通过	
6	2	0	3	6	通过	
7	2	7	0	5	通过	
8	0	0	1	2	通过	
9	0	0	0	2	通过	
10	3	2	5	2	通过	
11	1	0	0	0	通过	
12	0	1	0	0	通过	
13	0	3	4	0	通过	
14	1	0	1	1	通过	
15	1	1	0	1	通过	
16	5	8	0	6	通过	
17	3	2	0	0	通过	
18	9	2	8	2	通过	
19	0	4	0	3	通过	
20	0	1	3	0	通过	
21	3	6	8	0	通过	
22	3	0	1	0	通过	
23	1	5	3	0	通过	
24	2	0	0	1	通过	
25	11	7	2	5	通过	
26	1	4	2	0	通过	
27	3	0	2	0	通过	
28	0	6	4	1	通过	

表格 1

致谢

本文作者对于 Ling Ai Ee 博士, 亚太生物安全协会的理事在本项研究中给予的支持, 意见及鼓励表示诚挚的谢意。 亚太生物安全协会(A-PBA)是一个新成立的专业协会, 旨在组织业内人士共同推动和促进生物安全, 分享生物安全技术信息。最后, 在此感谢 Lim Lay Yew 先生, 新加坡 ESCO 公司首席执行官对本项研究的赞助。

参考文献

- Anon. (1992) Microbiological Safety Cabinets: Part 4. Recommendations for Selection Use and Maintenance.
- Clark, R.P., Osborne, R.W., Pressy, D.C., Grover, F., Keddie, J.R. and Thomas, C. (1990) Open fronted safety cabinets in ventilated laboratories. *Journal of Applied Bacteriology* 69, 338-358.
- Collins, C.H. (1993) Laboratory Acquired Infections. History, Causes and Prevention, 3rd edn. London: Butterworth
- Kruse, R.H., Puckett, W.H. and Richardson, J.H. (1991) Biological safety cabinetry, *Clinical Microbiological Reviews* 4, 207-241.
- Osborne, R.W. and Durkin, T.A. (1991) Continued successful operation of open-fronted microbiological safety cabinets in a force-ventilated laboratory. *Journal of Applied Bacteriology* 71, 434-438.
- Rake, B.W. (1978) Influence of cross drafts on the performance of a biological safety cabinet. *Applied and Environmental Microbiology* 36, 278-283.
- Richmond, J.Y. and McKinney, R.W. (1995) Primary Containment for Biohazards: Selection, Installation and Use of Biological Safety Cabinets. Atlanta, Georgia, USA: US Department of Health and Human Services, Public Health Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes for Health.