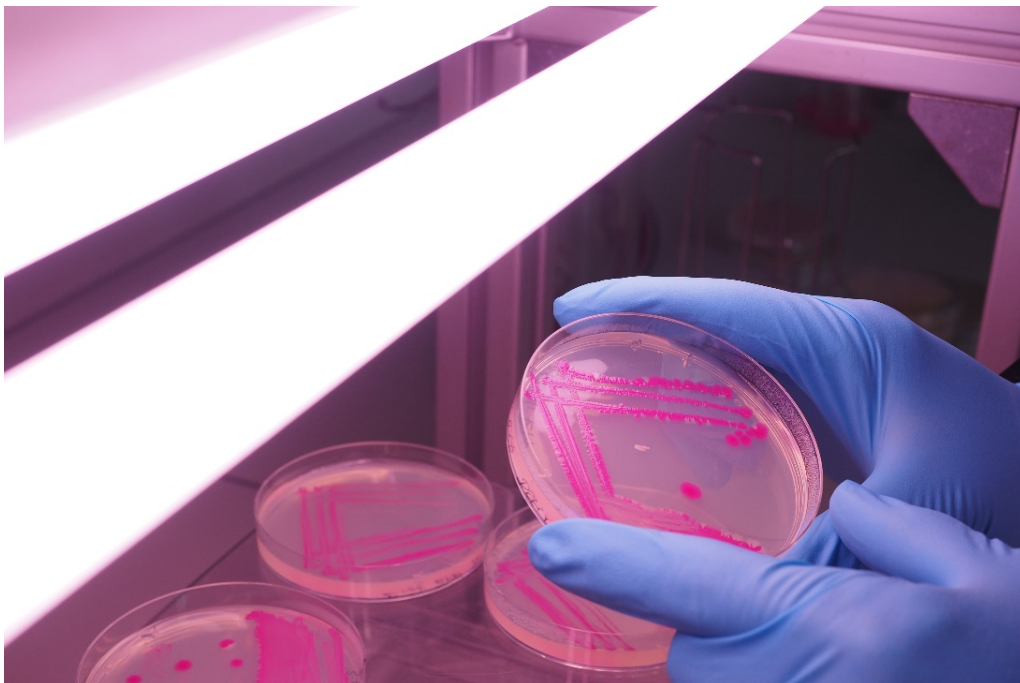


FACT SHEET CAmPUS UV-C, Nr. 1

Dosis Wirkung und Organismen

Grundlagen der biologischen Wirkung, Dosis



Dr. Jakob Barz, M.Sc. Bryan Lotz
Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB

Stuttgart, 11.02.2022

1 Aufgabenstellung

UV-Strahlung, insbesondere die UV-C-Strahlung, wirkt tödlich auf Mikroorganismen. Bakterien, Viren, Pilze werden in ihrer Vermehrung gestört oder abgetötet. Bei Menschen verursacht UV-C-Strahlung unterschiedliche Zellschäden an der Haut und in den Augen. Deswegen wird die UV-C-Strahlung hauptsächlich in der Oberflächenentkeimung, Raumlufedesinfektion und Wasseraufbereitung genutzt.

Die Wirkung hängt von unterschiedlichen Faktoren und Interaktion zwischen Mikroorganismen und UV-C-Strahlung ab:

- Organismenabhängige Resistenz gegen UV-C-Strahlung
- Dosis, bestehend aus der Bestrahlungsstärke und Bestrahlungszeit
- Gewünschte Desinfektionsleistung (Log-Stufen)
- Zu reinigende Oberflächen

2 Grundlagen

2.1 Biologische Wirkung

Die Desinfektion durch UV-C-Strahlung (100 bis 280 nm) beruht auf der erbgutschädigenden Wirkung. Bei etwa 250 nm absorbieren die Thyminbasen, einer der vier Bausteine der DNA, die UV-Strahlung. Liegen im Code der DNA zwei Thyminbasen direkt in Nachbarschaft zueinander, werden diese unter Einwirkung der UV-C-Strahlung kovalent zu einem Thymindimer verbunden (Bild 1). D. h. die zwei Thyminbasen haben sich miteinander verbunden und stören somit den natürlichen Replikationsvorgang der DNA oder führen zu Mutationen. Effektiv hindern die Thymindimere die Organismen an der Vermehrung oder führen durch Mutationen zu tödlichen Änderungen im natürlichen Ablauf der Zelle.

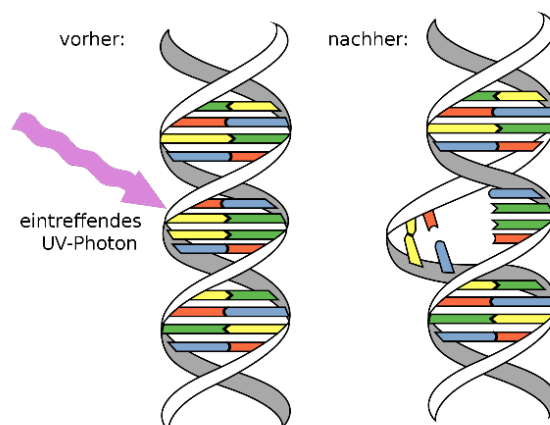


Bild 1: Biologische Wirkung durch UV-Strahlung. Benachbarte Thyminbasen werden durch eintreffende UV-Photonen kovalent miteinander verbunden [1].

2.2 Resistenz von Mikroorganismen und biologische Indikatoren

Mikroorganismen weisen eine unterschiedliche Resistenz gegenüber Sterilisation und / oder Desinfektionsverfahren auf. Mit der Ausnahme von Prionen weisen bakterielle Sporen die größte natürliche Immunität auf. Die in Bild 2 gezeigte relative Skala zeigt im Vergleich: Mykobakterien, nicht umhüllte Viren, grampositive Bakterien, Pilze und gramnegative Bakterien. Umhüllte Viren, zu denen auch Coronaviren gehören, sind am empfindlichsten gegenüber Desinfektionsverfahren. Beispielsweise benötigen im Falle von UV-C-Strahlung bakterielle Sporen in etwa eine dreimal höhere Dosis zur Inaktivierung als etwa Polio- und Rotaviren [2].

Zur Validierung von Resistenzleistungsprüfungen werden nach Definition biologische Indikatoren (BI) verwendet. BI sind gut charakterisierte Präparate eines spezifischen Mikroorganismus mit einer bekannten Resistenz gegenüber einem Sterilisationsverfahren. Meistens bestehen sie aus sehr resistenten bakteriellen Sporen, die auf einem Träger in einer definierten Zahl beimpft sind. Nach Anwendung des Sterilisationsverfahrens werden die noch überlebenden Mikroorganismen quantifiziert und das Ergebnis als Differenz zwischen Ausgangszellzahl und den überlebenden Mikroorganismen angegeben [3].

Für Qualitätsmanagementsysteme oder Kontrolle von laufenden Sterilisationsverfahren wird auf eingekapselte BI (eng. = Self-contained biological indicators = SCBI) zurückgegriffen. Diese werden bei einem Sterilisationsvorgang mitgeführt und können eine qualitative Aussage zum Verfahren geben (sterilisiert = ja oder nein). SCBI werden bei vielen Produktions- und Qualitätsprozessen nach gängigen Standards (z. B. DIN EN ISO) als ständige Kontrolle verlangt [4].

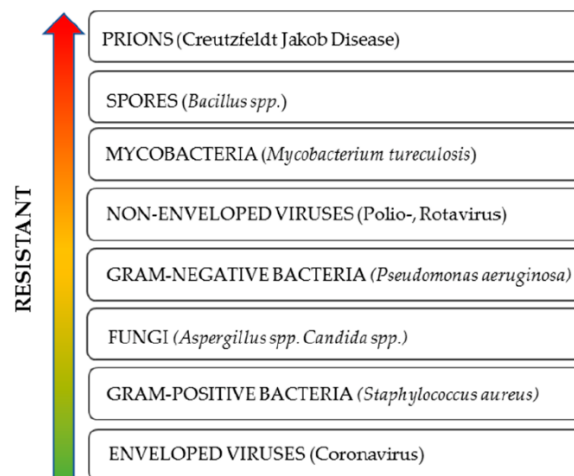


Bild 2: Resistenz von Mikroorganismen gegen Sterilisation und / oder Desinfektion [2].

2.3 Dosis

Die Dosis beschreibt die notwendige Energie, die auf die Organismen einwirken muss, damit eine reduzierende Maßnahme stattfinden kann. Sie ist im Fall der UV-C-Strahlung direkt von der Bestrahlungsstärke und der Einwirkzeit abhängig. Die Bestrahlungsstärke einer UV-Lampe wird z. B. in mW/cm² angegeben. Bei längerer Einwirkzeit (in der Regel: Sekunden bis Stunden) multipliziert sich die Zeit mit der Bestrahlungsstärke, was in der spezifischen Dosis des

Organismus resultiert (mJ/cm²). In Tabelle 1 werden UV-Dosen von ausgewählten Organismen gezeigt. Die Dosis ist für jeden Organismus spezifisch und unterscheidet sich je nach Wellenlänge, Lampenart und Spezies.

Tabelle 1: notwendige UV-Dosis, um eine bestimmte Log-Reduktion zu erreichen [5].

Organismus	Lampenart	UV Dosis (mJ/cm ²) für beschriebene Log-Reduktion							Referenz
		1	2	3	4	5	6	7	
Bacillus subtilis ATCC6633	LP	24	35	47	79				Mamane-Gravetz and Linden 2004
Pseudomonas stutzeri	UVB	100	150	195	230				Joux et al. 1999
Salmonella spp.	LP	< 2	2	3,5	7	14	29		Yaun et al. 2003
Escherichia coli K-12 IFO3301	LP & MP	2,2	4,4	6,7	8,9	11			Oguma et al. 2004

2.4 Logarithmische Reduktion

Die Messeinheit zur Klassifizierung der Desinfektion wird durch die Reduktion (Menge an abgetöteten Mikroorganismen) von einer Ausgangszahl an lebenden Mikroorganismen angegeben. Die Reduktion an lebensfähigen Mikroorganismen wird zur Vergleichbarkeit in logarithmischen Reduktionsfaktoren angegeben. Je nach Quelle oder Datenlage werden diese auch als Reduktionsfaktor (RF), logarithmischer Reduktionsfaktor (LRF), Log-Reduktion, Log-Stufen oder einfach als log₁₀ bezeichnet. Dabei bezeichnet dieser Wert, wie viele Mikroorganismen abgetötet (= reduziert) werden zu einem bestimmten Anfangswert. Da in der Mikrobiologie die Anzahl an Mikroorganismen sehr hoch ist, wird die Wirkung hauptsächlich in Log-Stufen und auch in Prozent ausgedrückt. Im nicht medizinischen Bereich definieren die Log-Stufen eine unterschiedliche Qualität an Entkeimung:

- Log-Reduktion 2 bis 4 entspricht einer **Reinigung**
- Log-Reduktion 4 bis 5 entspricht einer **Desinfektion**
- Log-Reduktion über 6 entspricht einer **Sterilisation**

Eine Log-Reduktion über 6 ist nur schwer zu erreichen. Die Entkeimung ist im Normalfall um ein wesentliches teurer, je mehr Reduktionsleistung erreicht werden soll. Die Sterilisation ist z. B. um ein vielfaches teurer als eine Desinfektion.

Tabelle 2: Verhältnis zwischen Log-Reduktion und Anzahl an überlebenden Mikroorganismen.

Log-Reduktion	Reduzierung [%]	Überlebende Mikroorganismen bei einem Ausgangswert von 1.000.000 Mikroorganismen
	90	100.000
2	99	10.000
3	99,9	1.000
4	99,99	100
5	99,999	10
6	99,9999	1

2.5 Oberflächeneigenschaften

Die Effektivität der Entkeimung hängt zum Teil auch von der Beschaffenheit der zu entkeimenden Oberfläche ab. Je nach Anwendungszweck oder Reinigungsgedanken kommt die Oberfläche mit anderen störenden Stoffen, wie beispielweise bei einem handberührten System, in Kontakt sowie mit Fetten oder organischen Ablagerungen. Um diese Anwendungsbedingungen mit zu betrachten, kann eine Belastungssubstanz gewählt werden, die bestimmte »störende« Eigenschaften imitiert. Empfehlungen von Belastungssubstanzen können aus gängigen DIN EN ISO (z. B. DIN EN 13697) entnommen werden. Als Belastungssubstanz wird in der Regel Rinderserumalbumin (BSA) in verschiedenen Konzentrationen gewählt [6].

Tabelle 3: Prüfbedingungen und Belastungssubstanzen für verschiedene Anwendungsbedingungen bei Sterilisationsversuchen.

Prüfbedingung	Beispiel
niedrige Belastung	0,3 g/l Rinderserumalbumin
hohe Belastung	3 g/l Rinderserumalbumin
zusätzlich	alle relevanten Substanzen

3 Rechenbeispiel

Um die eine geeignete entkeimende UV-Technologie auszuwählen, sind verschiedene Annahmen und spezifische Betrachtungen notwendig.

Rahmenbedingungen:

- Die tatsächliche messbare Bestrahlungsstärke einer UV-C-LED beträgt auf der zu reinigenden Fläche 0,08 mW/cm² (UV-C bei 280 nm).
- Die notwendige spezifische Dosis, um den biologischen Indikator *B. pumilus*-Sporen [6] für Strahlung (UV-C bei 280 nm) um 2,5 Log-Stufen zu reduzieren, beträgt 250 mJ/cm².

- Mit folgender Formel lässt sich somit die notwendige Bestrahlungszeit ausrechnen, die theoretisch notwendig ist, um *B. pumilus*-Sporen um 2,5 Log-Stufen zu reduzieren:

$$H = E * t$$

Mit allen Rahmenbedingungen wird für die vermessene UV-C-LED für eine 2,5-Log-Reduzierung eine Bestrahlungszeit von etwa 52 Minuten benötigt.

$$t = \frac{H_{Dosis}}{E_{Bestrahlungsstärke}}$$

$$t = \frac{250 \text{ mJ/cm}^2}{0,08 \text{ mW/cm}^2}$$

$$t = 3125 \text{ sekunden} \cong 52 \text{ minuten}$$

4 Ergebnisse

Aus der Praxis wichtige Maßnahmen zur Betrachtung von Dosis und deren Wirkung auf Organismen:

- Bereits bei der Auslegung der UV-Technologie die notwendige Bestrahlungsstärke (für eine bestimmte Log-Reduktion) einkalkulieren und an den eigenen Anwendungszweck anpassen.
- Neben der theoretischen Bestrahlungsstärke sollte die einzusetzende Optik auch mit geeichten Messmethoden überprüft und validiert werden.
- Zur biologischen Validierung einen geeigneten Prüforganismus für den eigenen Anwendungszweck auswählen: Bakterien, Viren, Pilze. Eine Orientierung an gängiger Literatur, Modellorganismen oder BI (Biological Indicators) ist zu empfehlen.
- Rahmenbedingungen des Anwendungszwecks der Entkeimung sollte hinterfragt und ggf. angepasst werden (Oberflächeneigenschaften etc.).

5 Referenzen

1	DNA UV mutation de.svg. (2020, September 15). Wikimedia Commons, the free media repository. Retrieved February 9, 2022 from https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:DNA_UV_mutation_de.svg&oldid=460477985 .
2	Kierat, W.; Augustyn, W.; Koper, P.; Pawlyta, M.; Chrusciel, A.; Wyrwol, B.: The Use of UVC Irradiation to Sterilize Filtering Facepiece Masks Limiting Airborne Cross-Infection. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2020; 17(20):7396. https://doi.org/10.3390/ijerph17207396
3	https://gobend2020.com/de/was-ist-ein-biologischer-indikator/ zuletzt aufgerufen: 15.02.2022.
4	https://www.gke.eu/en/self-contained-bi-scbi-eo.html zuletzt aufgerufen: 15.02.2022
5	Chevrefils, G.: UV Dose Required to Achieve Incremental Log Inactivation of Bacteria, Protozoa and Viruses. Retrieved February 9, 2022 from https://www.uvlight.co.uk/media/ .
6	DIN EN ISO 13697:2015+A1:2019 – Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Quantitativer Oberflächen-Versuch zur Bestimmung der bakteriziden und/oder fungiziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel auf nicht porösen Oberflächen in den Bereichen Lebensmittel, Industrie, Haushalt und öffentliche Einrichtungen – Prüfverfahren und Anforderungen ohne mechanische Behandlung (Phase 2, Stufe 2).

6 Bearbeiter, Ansprechpartner

Fraunhofer-Institut für Grenzflächen und Bioverfahrenstechnik IGB

Nobelstraße 12
70569 Stuttgart

Kontakt:
M.Sc. Bryan Lotz

bryan.lotz@igb.fraunhofer.de