

Skuteczność promieniowania UV w dezynfekcji powietrza w kabinie do badań mikrobiologicznych

RENATA PYZ-ŁUKASIK, WALDEMAR PASZKIEWICZ, AGNIESZKA LATOCH*

Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

*Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

Otrzymano 14.07.2016

Zaakceptowano 19.08.2016

Pyz-Łukasik R., Paszkiewicz W., Latoch A.

Effectiveness of UV irradiation for air disinfection in chambers for microbiological tests

Summary

The objective of the study was to determine the UV irradiation operation time required to obtain the microbial reduction level specified for the so-called cleanrooms standard in the device for microbiological examination. The samples for examination were collected using an aspiration method and a Sampl'air Lite microbial air sampler (AES Laboratoire Chemunex). Microbial air contamination was established according to the PN, prior to the sterilization and after 3, 4, 5, 6, 14, 16, 18, 20, 22, 24 hours of air sterilization in the chamber. Significant differences were found in the contamination levels at all the sterilization times studied. Depending on exposure time, an over 3-fold and up to 8-fold reduction of the microbial count was noted. The highest microbial load decrease was observed after 16 and then 18 hours of sterilization. As compared to the first period under investigation, a subsequent decline in microbial count reduction was determined after 4, 5 and 6 hours of sterilization operation. Only the 14-h irradiation time resulted in a higher level of microbial contamination reduction as compared to the 3-h exposure time. UV radiation is an effective procedure for air disinfection in a chamber for microbiological examination and the minimum efficient irradiation time is 3 hours.

Keywords: air, microbial contamination, UV irradiation effect

Promieniowanie ultrafioletowe (UV) obejmuje zakres fal elektromagnetycznych o długości od 10 do 400 nm. W zależności od długości fali wyróżnia się podzakresy: UV-A (400-315 nm), UV-B (315-280 nm), UV-C (280-100 nm) i UV-E (100-10 nm) (6). Promieniowanie UV jest jednym z najskuteczniejszych czynników niszczących drobnoustroje poprzez zmiany struktur zasad azotowych w nukleotydach kwasów nukleinowych. Skutkuje to błędami w replikacji materiału genetycznego i jej zatrzymaniem, a w konsekwencji prowadzi do śmierci komórki (18). Działanie biobójcze jest szczególnie skuteczne przy stosowaniu fal o długości 240-280 nm, z optimum przypadającym na 253,7 nm (2, 4). Zaletą stosowania promieniowania UV są niskie koszty eksploatacji lamp oraz brak rozwoju oporności drobnoustrojów na jego działanie. Właściwości te decydują o zastosowaniu promieniowania UV m.in. do dezynfekcji sprzętu medycznego, sal operacyjnych, salonów kosmetycznych, maszyn i urządzeń w zakładach przemysłu spożywczego oraz ścieków i wody (2, 9). Promieniowanie UV jest również stosowane do skutecznego eliminowania drobnoustrojów znajdujących się w powietrzu. Z tego powodu Federalna

Agencja Ochrony Środowiska (USEPA – United States Environmental Protection Agency) dopuściła promieniowanie UV jako metodę dezynfekcji pomieszczeń mieszkalnych, systemów wentylacji oraz klimatyzacji (19). Wyniki badań mikrobiologicznych wykazały, że drobnoustroje występujące w powietrzu, w laboratoriach prowadzących hodowle *in vitro*, stanowią źródło zakażenia pożywek (17). Skuteczność działania promieni UV zależy od czasu naświetlania. Na podstawie określonej eksperymentalnie dawki letalnej za najbardziej wrażliwe na działanie promieniowania UV uznano bakterie Gram-ujemne, następnie bakterie Gram-dodatnie, a w dalszej kolejności przetrwalniki bakterii i zarodniki grzybów (8). Oznaczenie stopnia mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza wyrażonego zawartością jednostek tworzących kolonie (jtk) w 1 m³ powietrza jest najczęściej stosowaną miarą liczbową i większość wartości referencyjnych wyrażanych jest w ten sposób.

Celem badań było określenie czasu działania promieniowania UV niezbędnego do uzyskania redukcji drobnoustrojów do poziomu określonego dla tzw. pomieszczeń czystych (14) w kabinie służącej do badań mikrobiologicznych.

Materiał i metody

Określenie stopnia redukcji poziomu zanieczyszczenia bakterieryjnego powietrza przeprowadzono w kabinie do badań mikrobiologicznych o kubaturze 8 m³, jałowionej lampą UV produkcji „Famed Łódź S.A.” ze świetlówką UV marki Philips typu 2M (30 W). Oznaczenia przeprowadzono po 3, 4, 5, 6, 14, 16, 18, 20, 22 i 24 godzinach jałowienia powietrza w kabinie, w 9 powtórzeniach dla każdego okresu naświetlania. Do pobierania próbek powietrza atmosferycznego wykorzystano aparat Sampl'air Lite (AES Laboratoire Chemunex) o wydajności 100 dm³/min, przeznaczony do badania czystości powietrza w placówkach służby zdrowia, przemyśle farmaceutycznym i spożywczym. Zgodnie z deklaracją producenta, aparat gwarantuje powtarzalność wyników i pobór wybranej objętości powietrza. Użyto standardowych płytek Petriego, Ø 90 mm, z agarem odżywczym, które po 8 minutach ekspozycji inkubowano w temp. 30°C przez 72 godziny. Liczbę kolonii wyrosłych na płytkach oznaczono według PN (15) i skorygowano według zasad zaleconych przez AES Laboratoire (13).

Otrzymane wyniki określające poziom ogólnego zanieczyszczenia bakterieryjnego powietrza w zależności od czasu działania promieni UV poddano analizie statystycznej wyliczając wartości średnie (\bar{x}) oraz współczynniki korelacji (r) pomiędzy wyjściowym zanieczyszczeniem bakterieryjnym powietrza w kabinie a czasem działania promieniowania UV. Wpływ czynnika zmienności określono w oparciu o analizę wariancji, stosując test wielokrotnych przedziałów ufności T-Tukeya dla $p \leq 0,05$.

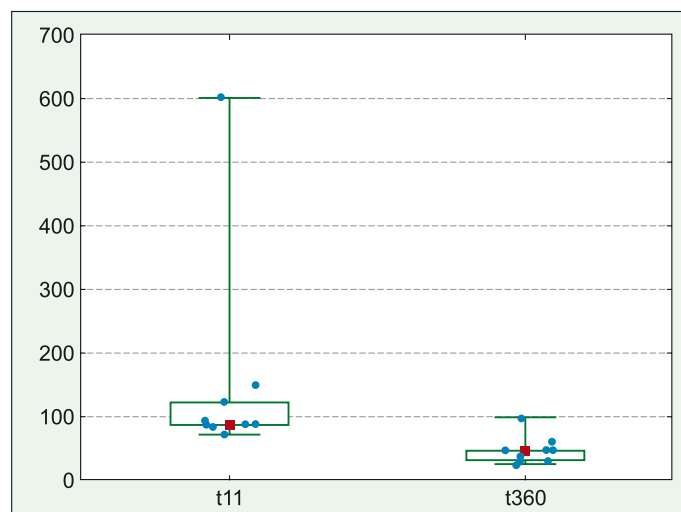
Wyniki i omówienie

Wyniki dotyczące wyjściowego i końcowego zanieczyszczenia mikrobiologicznego (jtk/m³) powietrza w kabinie do badań mikrobiologicznych w zależności od czasu działania promieniowania UV oraz stopień redukcji drobnoustrojów przedstawiono w tab. 1. Istotne różnice w poziomach zanieczyszczeń stwierdzono we wszystkich badanych czasach jałowienia. W zależności od czasu naświetlania wykazano od ponad 3-krotnej do ponad 8-krotnej redukcję liczby drobnoustrojów. Najwyższy spadek

Tab. 1. Zanieczyszczenie bakterieryjne powietrza (jtk/m³) w kabinie do badań mikrobiologicznych w zależności od czasu działania promieniowania UV (n = 9)

Czas (h)	Poziom zanieczyszczenia		Stopień redukcji drobnoustrojów
	wyjściowego	końcowego	
3	484 ^a	95 ^b	5,1
4	418 ^a	90 ^b	4,6
5	420 ^a	96 ^b	4,4
6	191 ^a	58 ^b	3,3
14	641 ^a	109 ^b	5,9
16	793 ^a	98 ^b	8,1
18	618 ^a	79 ^b	7,8
20	414 ^a	81 ^b	5,1
22	478 ^a	130 ^b	3,7
24	286 ^a	73 ^b	3,9

Objaśnienia: a, b – średnie oznaczone w poziomie różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$



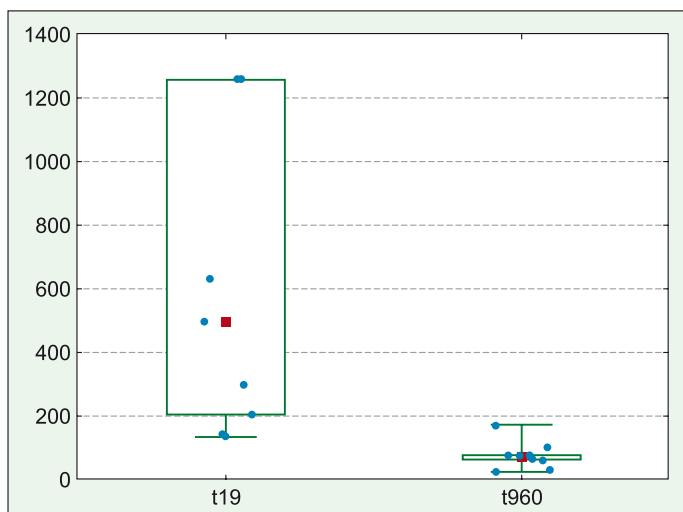
Ryc. 1. Wyjściowe (t11) i końcowe (t360) zanieczyszczenie próbek powietrza (jtk/m³) w kabinie do badań mikrobiologicznych przy 6 h czasie działania promieniowania UV (n = 9)
Objaśnienia: ramka (pudełko) – zakres, w którym mieściła się połowa obserwacji; □ – mediana; wąsy – zakres minimum-maksimum

zanieczyszczenia mikrobiologicznego stwierdzono po 16, a następnie po 18 godzinach jałowienia i wynosił on, odpowiednio, 8,1 i 7,8 razy. Wydłużanie czasu naświetlania promieniami UV powyżej 18 godzin nie skutkowało zwiększeniem stopnia redukcji drobnoustrojów. Pierwsze, istotne statystycznie obniżenie liczby bakterii wystąpiło po 3 godzinach jałowienia, a krótszy czas naświetlania nie skutkowało istotnymi różnicami w poziomie wyjściowego i końcowego zanieczyszczenia mikrobiologicznego (12). W porównaniu do pierwszego badanego okresu stwierdzono sukcesywny spadek stopnia redukcji liczby drobnoustrojów po 4, 5 i 6 godzinach jałowienia. Dopiero 14-godzinne naświetlanie skutkowało wyższym stopniem redukcji zanieczyszczenia mikrobiologicznego niż w przypadku 3-godzinnego naświetlania.

Mimo znacznego zróżnicowanego ilościowo zanieczyszczenia wyjściowego 9 pojedynczych, oznaczanych w każdym cyklu próbek, zanieczyszczenie końcowe badanych próbek było zbliżone i zmieniało się w bardzo małym zakresie. Ryciny 1, 2 i 3 przedstawiają tę prawidłowość dla wybranych czasów jałowienia, przy których stwierdzono najmniejszy (po 6 godzinach) i największy (po 16 i 18 godzinach) stopień redukcji drobnoustrojów.

Wykazano istotną korelację między zanieczyszczeniem wyjściowym powietrza w kabinie a 22-godzinnym czasem działania promieniowania UV. Współczynnik korelacji wynosił 0,8. W pozostałych cyklach doświadczenia korelacje nie były statystycznie istotne, a wartości współczynników mieściły się w przedziale od -0,46 (4 godziny jałowienia) do 0,43 (24 godziny jałowienia). W przypadku 16-godzinnego jałowienia współczynnik korelacji osiągnął wartość $r = 0,36$. Istotną korelację stwierdzono także przy analizie sumy wyników zanieczyszczenia wyjściowego i końcowego (n = 90), mimo stosunkowo niewysokiego współczynnika korelacji $r = 0,26$.

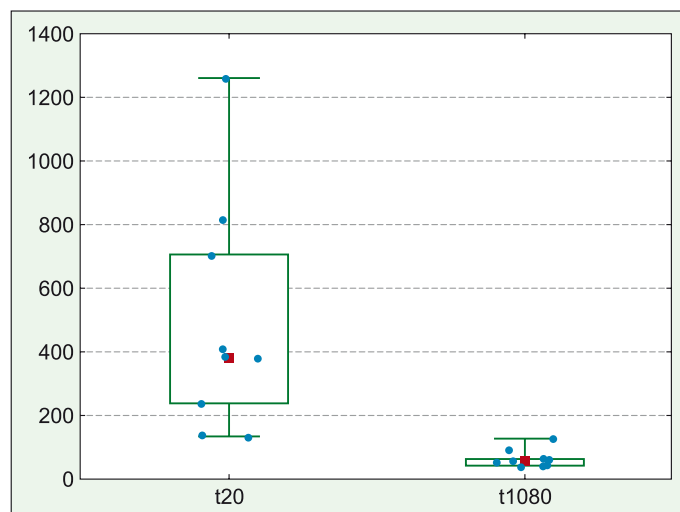
Międzynarodowe i krajowe organizacje oraz komitety eksperckie, jak również niezależne grupy badaczy



Ryc. 2. Wyjściowe (t19) i końcowe (t960) zanieczyszczenie próbek powietrza (jtk/m³) w kabinie do badań mikrobiologicznych przy 16 h czasie działania promieniowania UV (n = 9) Objaśnienia: jak na ryc. 1.

proponują zakresy wartości zanieczyszczeń m.in. dla różnego rodzaju pomieszczeń użyteczności publicznej, placówek służby zdrowia, pomieszczeń produkcyjnych i opakowań w zakładach przemysłu spożywczego i farmaceutycznego. Badania czystości powietrza wynikają w dużej mierze z wprowadzonych zasad dobrej praktyki higienicznej (GHP) i udowodnionego wpływu poziomu zanieczyszczenia powietrza na status mikrobiologiczny produktów finalnych (7, 10, 11).

Otrzymane wyniki porównano z wybranymi zaleceniami dotyczącymi zanieczyszczenia powietrza. Stosując skalę zaproponowaną przez Al-Dagal i wsp. (1) uzyskano najwyższą (klasa A ≤ 100 jtk/m³) jakość jałowionego powietrza w 8 z 10 badanych czasach naświetlania. W 2 badanych czasach, tj. po 14 i 22 godzinach, jakość powietrza odpowiadała średniej klasie (B – od 100 do 300 jtk/m³). Taką samą zależność stwierdzono odnosząc wyniki do wytycznych EU GMP (3, 5). W 8 z 10 badanych czasów naświetlania, zanieczyszczenie końcowe powietrza odpowiadało klasie C (≤ 100 jtk/m³). Taki poziom zanieczyszczenia wymagany jest w niektórych pomieszczeniach wykorzystywanych do wytwarzania jałowych produktów medycznych. Przykładem są pomieszczenia do przygotowania i przechowywania produktów, które stanowią dobrą pożywkę dla mikroorganizmów i jednocześnie muszą być przechowywane przez dłuższy okres przed sterylizacją. W pomieszczeniach, w których czystość powietrza odpowiada tej klasie, przeprowadza się pakowanie (a w przypadku kremów, zawiesin i emulsji również wytwarzanie) produktów przed ich końcową sterylizacją. Ten stopień zanieczyszczenia jest minimalnym wymogiem dla pomieszczeń, w których odbywają się procesy powolnego, trwającego dłużej niż kilka sekund pakowania produktów. Mniej rygorystyczna ocena zanieczyszczenia powietrza zawarta jest w PN (16). Zgodnie z nią, wszystkie uzyskane wyniki określające zanieczyszczenie końcowe powietrza w kabinie do badań mikrobiologicznych należy ocenić jako niezanieczyszczone (1 stopień, < 1000 jtk/m³).



Ryc. 3. Wyjściowe (t20) i końcowe (t1080) zanieczyszczenie próbek powietrza (jtk/m³) w kabinie do badań mikrobiologicznych przy 18 h czasie działania promieniowania UV (n = 9) Objaśnienia: jak na ryc. 1.

Promieniowanie UV jest skuteczną metodą dezynfekcji powietrza w kabinie do badań mikrobiologicznych. Jego skuteczność biobójcza wzrasta wraz z czasem, a minimalny, skuteczny czas naświetlania wynosi 3 godziny.

Piśmiennictwo

1. Al-Dagal M., Mo O., Fung D. Y. C., Kastner C.: A case study of the influence of microbial quality of air on product shelf life in a meat processing plant. J. Dairy Food Environ. Sanit. 1992, 12, 69-70.
2. Dzwolak W.: UV poprawia bezpieczeństwo. Bezpieczeństwo Hig. Żywn. 2011, 94, 34-35.
3. European Commission, Health and Consumers Directorate-General: The rules governing medicinal products in the EU. EU guidelines to Good Manufacturing Practice medicinal products for human and veterinary use. Brussels, SANCO/C8/AM/sl/ares 2010)1064597.
4. Godlewska K.: Dezynfekcja UV w przemyśle mięsny. Gosp. Mięsna 2016, 2, 12-18.
5. Górny R.: Biologiczne czynniki szkodliwe: normy, zalecenia i propozycje wartości dopuszczalnych. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 2004, 41, 17-39.
6. ISO 21348:2007 Space environment (natural and artificial) – Process for determining solar irradiances.
7. Kręgiel D.: Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza hali technologicznej a jakość produkowanych opakowań. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2006, 46 Supl., s. 52-58.
8. Krzywicka H., Janowska J., Zarzycka E.: Działanie promieniowania UV na drobnoustroje znajdujące się w powietrzu. Roczn. PZH 1997, 48, 269-274.
9. Latanowicz L., Latośńska J. N.: Dezynfekcja, sterylizacja i dezynsekcja za pomocą ultrafioletu. Biul. Pol. Stow. Prac. DDiD 2012, 69, 17-25.
10. Olborska K., Lewicki P. P.: Organizacja procesu pakowania produktów mleczarskich i jej wpływ na stan mikrobiologiczny powietrza w hali produkcyjnej. Żywność 2006, 47 Supl., 246-254.
11. Panfil-Kuncewicz H., Kuncewicz A., Ziemia M., Rosiński P.: Skażenie mikrobiologiczne powietrza w zakładach mleczarskich. Przem. Spoż. 1999, 53, 50-53.
12. Paszkiewicz W., Pysz-Lukasik R.: Stopień redukcji zanieczyszczenia bakteriologicznego powietrza pod wpływem promieni UV. Med. Weter. 2011, 67, 267-269.
13. Peto S., Povel E. O.: The assessment of aerosol concentration by means of the Andersen sampler. J. Appl. Bacteriol. 1970, 33, 582-598.
14. PN-EN ISO 14698-1:2004 Pomieszczenia czyste i związane z nimi środowiska kontrolowane – Kontrola biozanieczyszczeń – Część 1: Główne zasady i metody.
15. PN-EN ISO 4833:2004 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów – Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
16. PN-Z-04111-2: 1989 Ochrona czystości powietrza – Badania mikrobiologiczne – Oznaczanie liczby bakterii w powietrzu atmosferycznym (imisia) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną.
17. Reby E., Kowalik M.: Microbiological analysis of air in the in vitro cultures laboratories. Folia Hortic. 2003, 15, 211-216.
18. Strus M.: Mechanizmy działania czynników fizycznych na drobnoustroje. Roczn. PZH 1997, 48, 264-267.
19. USEPA: Residential air cleaners (Second Edition), 2009. (www.epa.gov/iaq).

Adres autora: dr Renata Pysz-Lukasik, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin; e-mail: renata.pysz@up.lublin.pl