

*Абдыкадыров Аскар Айтмырзаевич, кандидат технических наук,
ассистент-профессор, Казахский национальный исследовательский
технический университет имени К. И. Сатпаева
Институт автоматизации и информационных технологий
Кафедра «Электроники, телекоммуникации и космических технологий»,
Казахстан, г. Алматы*

*Нурланова Назерке Нурланқызы, магистрант,
Казахский национальный исследовательский технический
университет имени К. И. Сатпаева, 2 курс магистратуры, факультет
«Электроники, телекоммуникации и космических технологий»,
Казахстан, г. Алматы*

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ БАКТЕРИЦИДНЫХ СВОЙСТВ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ РАЗНЫХ ДЛИНАХ ВОЛН

Аннотация: Многочисленные исследования изучали чувствительность различных микроорганизмов к УФ-светодиодам с разными длинами волн, для взвешенных вирусов. Однако на сегодняшний день ни одно исследование не изучало эффективность УФ-светодиодов на разных длинах волн при инактивации коронавируса человека. УФ-светодиоды представляют собой новую технологию и источник УФ-излучения для инактивации патогенов, однако низкие длины волн УФ-светодиодов являются дорогостоящими и имеют низкую плотность потока энергии.

В данной статье мы рассмотрели два исследовательских метода дезинфекции ультрафиолетовым облучением. Основное различие между двумя методами заключается в длине волны, на которой будут проводиться эксперименты. Также, если в первой работе использовались человеческий

коронавирус OC43 (HCoV-OC43) в качестве заменителя SARS-CoV-2, чтобы разработать кривую доза-реакция для УФ-светодиодов на различных длинах волн, то, во второй работе анализируется влияние ультрафиолетового света на бактериофаг MS2 в зависимости от длины волны путем анализа повреждения его вирусной РНК.

Ключевые слова: ультрафиолетовое излучение, ДНК, РНК, бактериофаг, светодиод, коронавирус, бактерицид, обеззараживание, микроорганизмы.

Annotation: Numerous studies have investigated the sensitivity of different microorganisms to UV-LEDs with different wavelengths for suspended viruses. On the other hand, to date, no study has investigated the effectiveness of UV-LEDs at different wavelengths to inactivate man coronavirus. UV light emitting diodes represent a new technology and a source of UV radiation for inactivating pathogens, however, low wavelengths of UV LEDs are expensive and have a low energy flux density.

In this paper we have reviewed two research methods for disinfection with ultraviolet irradiation. The main difference between the two methods is the wavelength in which the experiments will be carried out. Also, while the first paper used human coronavirus OC43 (HCoV-OC43) as a substitute for SARS-CoV-2 to develop a dose-response curve for UV light at different wavelengths, the second paper analyzes the effect of UV light on bacteriophage MS2 as a function of wavelength by analyzing damage to its viral RNA.

Key words: ultraviolet radiation, DNA, RNA, bacteriophage, LED, coronavirus, bactericide, disinfection, microorganisms.

Введение

Ультрафиолетовое излучение является одним из мощных средств, которые могут изменить нормальное состояние жизни, вызывая различные мутагенные и цитотоксические повреждения ДНК, такие как циклобутан-пиримидиновые димеры (ЦПД), 6-4 фотопродуктов (6-4PPs), а также разрывы цепей ДНК за счет

нарушения целостности генома. А, ДНК, в свою очередь является одной из основных молекул, и ее стабильность имеет первостепенное значение для правильного функционирования и существования всех живых систем.

УФ-облучение является распространенным методом инактивации патогенных микроорганизмов, в том числе вирусов. Инактивация УФ-излучением может происходить по нескольким механизмам, среди которых повреждение нуклеиновых кислот [1; 2], белков или внутреннее образование кислородных радикалов [3]. Механизм инактивации УФ-излучением зависит от используемой длины волны УФ-излучения [4], и, по крайней мере, для некоторых патогенов было обнаружено, что источники УФ-излучения с несколькими пиками излучения (например, лампы среднего давления) приводят к более эффективной инактивации, активируя множественные повреждения механизмов [3]. УФ-инактивация оказалась эффективным методом дезинфекции многих вирусов, в том числе множественных бактериофагов [5; 6], а также многих вирусов человека и животных, включая SARS-CoV-1 [7; 8].

Исследования проведенные в работах Yoram Gerchmana, Nadas Mamaneb, Nehemya Friedmans, Michal Mandelboimc, «УФ-светодиодная дезинфекция коронавируса: эффект длины волны» [9] показывают, что чувствительность человеческого коронавируса (HCoV-OC43, используемого в качестве суррогата SARS-CoV-2) зависела от длины волны: 267 нм ~ 279 нм > 286 нм > 297 нм. Другие вирусы показали аналогичные результаты, предполагая, что УФ-светодиоды с пиковым излучением при ~ 286 нм могут служить эффективным инструментом в борьбе с коронавирусами человека. Однако, в исследованиях, показанные во второй рассматриваемой работе - Sara E. Beck, Roberto A., Rodriguez, Michael A. Hawkins, Thomas M. Hargy, Thomas C. Larason, Karl G. Lindena [10], для повышения его дезинфекционной эффективности они исследовали механизмы УФ-инактивации микроорганизмов на длинах волн ниже 240 нм во всем гермицидном УФ-спектре. В данной работе изучалась УФ-инактивация бактериофага MS2 в зависимости от длины волны. Бактериофаг подвергался монохроматическому УФ-облучению от перестраиваемого лазера с

длиной волны от 210 нм до 290 нм. Для оценки механизмов УФ-инактивации в этом диапазоне длин волн была проведена RT-qPCR (обратная транскрипция-количественная ПЦР) для измерения геномных повреждений для сравнения с геномными повреждениями при 253,7 нм.

Методы исследования

Многие исследования сравнивали спектральную чувствительность или спектр действия организма или вируса с поглощением его ДНК [11; 12; 13].

В меньшем количестве исследований измерялись повреждения ДНК или РНК в результате поглощения УФ-излучения [14; 23]. В этом исследовании анализируется влияние ультрафиолетового света на бактериофаг MS2 в зависимости от длины волны путем анализа повреждения его вирусной РНК. РНК отличается от ДНК по составу прежде всего наличием урациловых нуклеотидов вместо тимина. УФ-облучение образует несколько фотопродуктов РНК, в первую очередь из соседних пиримидиновых нуклеотидов, таких как димеры урацила [16; 17], а также поперечные связи РНК-белок [18].

Полихроматическое УФ-облучение является распространенным методом инактивации патогенов в водоочистительной промышленности. Прямое УФ-повреждение нуклеиновых кислот происходит при длинах волн, поглощаемых ДНК и РНК, в бактерицидном УФ-диапазоне от 200 до 300 нм [14,20]. Однако в этом диапазоне длин волн УФ-свет также повреждает другие клеточные и вирусные компоненты, вызывая, например, фотохимические реакции в белках и ферментах [15; 21]. По этой причине УФ-источники, излучающие полихроматический свет во всем бактерицидном УФ-спектре, считаются более эффективными для инактивации определенных патогенов, чем источники, излучающие монохроматический свет с длиной волны 253,7 нм [22; 23].

УФ-облучение колифага MS2, суспендированного в фосфатно-солевом буфере (PBS), проводили с использованием перестраиваемого лазера серии NT242 Ekspla, предоставленного Национальным институтом стандартов и технологий (NIST) [28]. Как описано ранее [23], перестраиваемый лазер обеспечивал точное УФ-облучение с длинами волн от 210 до 290 нм с

интервалами ~10 нм. На каждой длине волны было проведено четыре экспозиции коллимированного луча для получения кривой доза-реакция, демонстрирующей до 3-логарифмической инактивации колифага MS2. Эксперименты проводились дважды, получая две кривые доза-реакция. Освещенность измерялась на поверхности воды с помощью фотодиодного детектора и прецизионной апертуры.

Средние дозы УФ-излучения определяли, как описано ранее Болтоном и Линденом [25], с поправкой на отражение от поверхности воды, поглощение УФ-излучения, глубина пробы воды и неравномерное распределение света по поверхности пробы. Образцы объемом 5 мл. при перемешивании в состоянии покоя облучали в чашках Петри диаметром 3,5 см.

Сразу после облучения облученные образцы исследовали на фаговую инфекционность, а остальные хранили при — 80°C. Двухэтапный метод RT-qPCR выявляет УФ-повреждения в больших фрагментах генома MS2. Он был адаптирован из методов, описанных ранее Simonet и Gantzer [24], с использованием набора праймеров для ПЦР в реальном времени, описанного ранее.

Вирусную РНК из колифага MS2 (108 БОЕ/мл) экстрагировали, как описано выше. УФ-поглощение от 220 нм до 300 нм измеряли относительно поглощения элюирующего буфера с использованием УФ-спектрофотометра.

Колифаг MS2 состоит из белкового капсида, окружающего ядро одноцепочечной РНК. Поскольку колифаг состоит из двух основных компонентов, РНК и белков, потеря инфекционности на данной длине волны должна происходить из-за повреждения РНК, повреждения вирусных белков или того и другого. Далее проводились эксперименты по инактивации MS2 лазером NIST при 210 нм, 220 нм, 230 нм, 240 нм, 260 нм, 270 нм, 280 нм и 290 нм в зависимости от дозы УФ-излучения. Показанные результаты представляют собой повреждение полного генома из логарифмического снижения сигнала RT-qPCR, измеренного с использованием двух разных фрагментов, по сравнению с логарифмическим снижением инфекционности вируса MS2, о котором

сообщалось ранее [26].

УФ-светодиоды также оказались эффективными для дезинфекции различных патогенов. Однако УФ-светодиоды имеют узкий спектр излучения, а УФ-светодиоды с более низкой длиной волны, как правило, имеют низкую выходную мощность [19; 20]. Эти ограничения делают более высокие длины волн УФ-светодиодов более привлекательными, но требуют проверки эффективности на патоген.

По этой причине в работах Yoram Gerchmana, Nadas Mamaneb, Nehemya Friedmans, Michal Mandelboimc, «УФ-светодиодная дезинфекция коронавируса: эффект длины волны» [9] эксперименты по воздействию УФ-излучения проводились с использованием системы УФ-светодиодов от Aquisense Technologies с выбранными светодиодами. Первая, «круговая система», включала светодиоды с максимальной длиной волны излучения 279 нм и 297 нм (модель PearlLab Beam™) с общей площадью круга 43,8 см².

УФ-спектры длин волн УФ-светодиодов, используемых в этом исследовании, были измерены с помощью спектрометра Ocean Optics USB4000. УФ-светодиоды с длиной волны 267 нм и 286 нм продемонстрировали пиковое излучение с длиной волны 267,2 нм и 285,8 нм. УФ-светодиоды с длиной волны 279 нм и 297 нм продемонстрировали пиковое излучение с длиной волны 278,8 нм и 296,6 нм.

Во всех экспериментах использовали вирус HCoV-OC43. Вирус размножали, как описано ранее [27], и разбавляли непосредственно перед облучением в PBS до 8×10^5 БОЕ/мл. Перед каждым экспериментом по облучению ленту извлекали из четырех лунок и пластину подвергали облучению с указанной длиной волны и временем. После каждого облучения облученные лунки снова закрывали, а следующие четыре лунки экспонировали и облучали до тех пор, пока не были облучены все лунки, все аналогично описанному в [28].

УФ-оптическое поглощение суспензии вируса измеряли в диапазоне 220–400 нм с использованием спектрофотометра Nanodrop.

Падающее излучение измеряли для каждой лунки отдельно с помощью

спектрорадиометра Ocean Optics USB4000 с диаметром сердцевины волокна 600 мкм. Распечатку 24-луночного планшета помещали под систему УФ-светодиодов, а конец оптического волокна спектрорадиометра помещали в геометрический центр измеряемой лунки на распечатке, перпендикулярно поверхности и лицом к УФ-светодиодам [9].

Результаты и их обсуждение

Инактивация УФ-облучением

УФ-светодиоды с длиной волны 267 и 279 нм очень эффективно инактивировали, в то время как более длинные волны УФ-светодиодов. Интересно, что ни одна из протестированных длин волн не показала хвостового эффекта, как показано в других исследованиях [30].

Длина волны ~ 260 нм показала немного более высокую эффективность, чем ~ 280 нм. Увеличение длины волны до ~300 нм привело к резкому снижению эффективности дезинфекции (например, для MS2, Q β , кошачьего калицивируса) с необходимостью в ~10 раз большей дозы по сравнению с длиной волны 280–290 нм. Точно так же HCoV-OC43 в этом исследовании показал сходную дозозависимую реакцию на облучение при 267 и 279 нм, несколько меньшую чувствительность к 286 нм и резкое увеличение необходимой дозы при облучении при 297 нм (рис. 1).

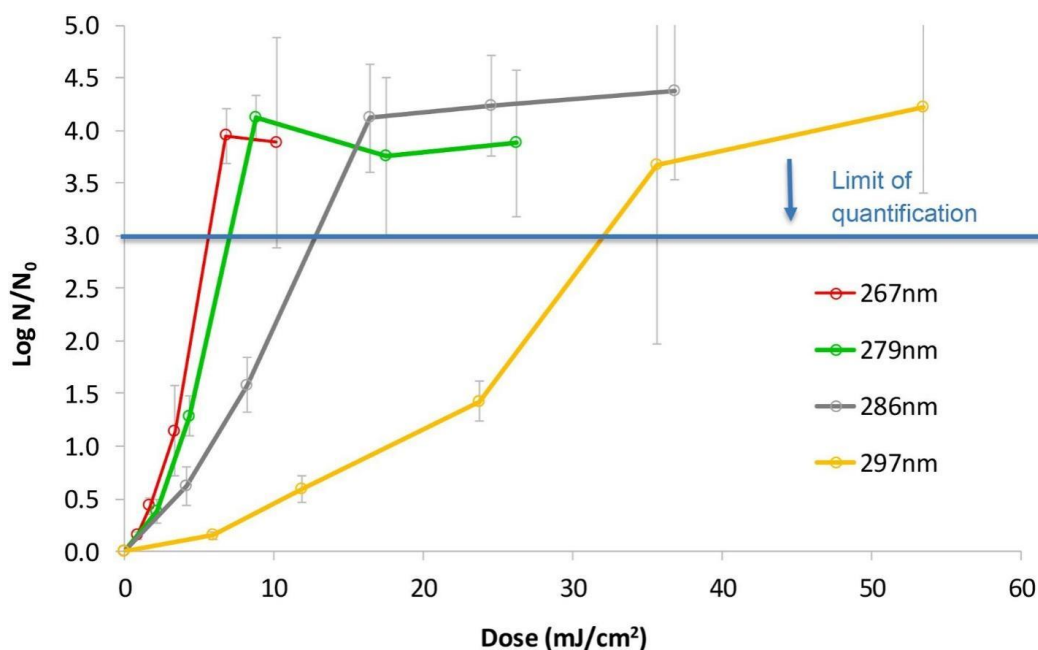


Рис. 1. Кривая зависимости дозы HCoV-OC43 от УФ-светодиодов. N — количество вирусов после назначенного облучения и N_0 в нулевое время (без облучения).

Данные, представленные на рис. 3, показывают, что действительно УФ-светодиод с пиковым излучением при ~ 286 нм может обеспечить эффективную инактивацию многих вирусов, включая семейство вирусов короны, тем самым преодолевая текущие ограничения нижних длин волн УФ-светодиодов.

Повреждения РНК в фаге MS2 в бактерицидном УФ-спектре

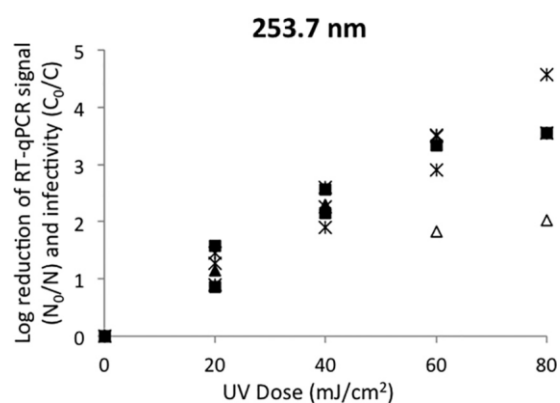


Рис. 2. Дозозависимая реакция колифага MS2, подвергнутого воздействию УФ-излучения перестраиваемого лазера с длиной волны 253,7 нм, измеренная с помощью RT-qPCR с использованием двух фрагментов.

Результаты количественной ПЦР корректировали, чтобы отразить УФ-повреждение всего генома, используя уравнение 3, как описано выше. Значения калибровочного коэффициента с составляли 2,47 (стандартное отклонение $[\sigma] = 0,12$) для области 1185 оснований и 0,98 ($\sigma = 0,06$) для области 2169 оснований. Данные по инактивации MS2 с помощью лазера NIST на длине волны 253,7 нм представлены на рисунке 2 [31].

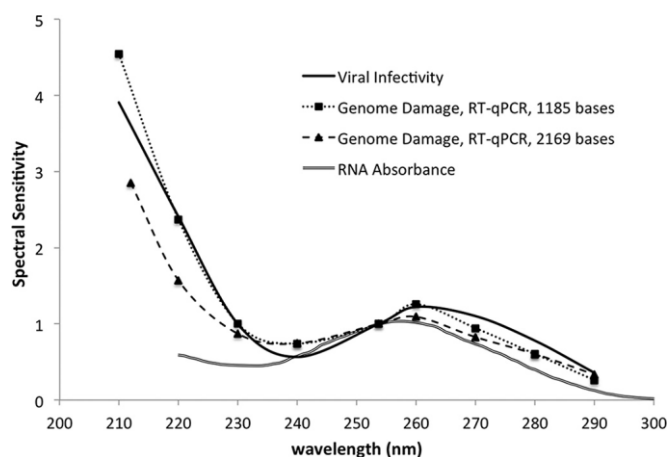


Рис. 3. Спектральная чувствительность генома MS2 (повреждение РНК, измеренное с помощью RT-qPCR с использованием фрагментов длиной 1185 и 2169 оснований) и бактериофага MS2 (измеренное как вирусная инфекционность [31]) по сравнению с УФ-поглощением РНК MS2 при бактерицидных длинах волн УФ.

Спектральная чувствительность MS2 и его вирусного генома по отношению к их чувствительности при 253,7 нм представлена на рис. 3. Спектр действия MS2 показал относительный пик при 260 нм, уменьшающийся с увеличением длины волны УФ до 240 нм, а затем увеличивалась при длинах волн ниже 240 нм. Такая же тенденция наблюдалась для спектральной чувствительности генома MS2. На основании данных, представленных на рис. 3, и статистического анализа становится очевидным, что повреждение нуклеиновой кислоты является основной причиной потери вирусной инфекционности во всем бактерицидном УФ-спектре.

Результаты показывают, что скорость повреждения РНК тесно связана с потерей вирусной инфекционности во всем гермицидном УФ-спектре. Это свидетельствует о том, что геномные повреждения являются доминирующей причиной инактивации MS2 при воздействии бактерицидного УФ-облучения. Эти результаты контрастируют с данными по аденовирусу, для которого MS2 используется в качестве вирусного суррогата для проверки полихроматических УФ-реакторов.

Заключение

В последние годы ультрафиолетовые приборы и фотоприемники нашли широкое применение в различных областях исследований благодаря широкому

спектру применения в промышленности, военной, биологической и экологической сферах. В настоящее время различные ультрафиолетовые лампы широко используются в различных областях в зависимости от их назначения. Например, УФ-С используется в бактерицидных целях, особенно в очистителях питьевой воды. УФ-В и УФ-А используются во многих устройствах, включая фотокопировальные устройства и устройства для фототерапии.

В этой статье мы тщательно изучили бактерицидную характеристику ультрафиолетового излучения. Был проведен эксперимент, используя двух разных диапазонов распространения излучения. В первом эксперименте использовался человеческий коронавирус (HCoV-OC43), чтобы разработать кривую доза-реакция для УФ-светодиодов на различных длинах волн. Данные, полученные в ходе эксперимента, показали, что УФ-светодиод с пиковым излучением при ~286 нм действительно может обеспечить эффективную инактивацию многих вирусов, включая семейство вирусов короны, тем самым преодолевая текущие ограничения нижних длин волн УФ-светодиодов.

Во второй работе анализировалось влияние ультрафиолетового света на бактериофаг MS2 в зависимости от длины волны путем анализа повреждения его вирусной РНК. В результате данного эксперимента было выявлено, что в бактерицидном УФ-спектре от 210 до 290 нм наблюдаемая скорость повреждения генома MS2 точно отражает потерю вирусной инфекционной способности.

Подводя итоги проведенной исследовательской работы можно сказать, что оба этих диапазона имеют свои особенности, преимущества и недостатки. Главную роль в процессе уничтожения бактерий, вирусов и т.п. играет диапазон длины волны распространения ультрафиолетового излучения.

Библиографический список:

1. R.P. Rastogi, A. Kumar, M.B. Tyagi, R.P. Sinha, Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair, *J. Nucleic Acids* (2010) 0.4061/2010/ 592980.

2. S.E. Beck, R.A. Rodriguez, M.A. Hawkins, T.M. Hargy, T.C. Larason, K.G. Linden, Comparison of UV-induced inactivation and RNA damage in MS2 phage across the germicidal UV spectrum, *Appl. Environ. Microbiol.* 82 (5) (2016) 1468–1474.
3. Y. Gerchman, V. Cohen-Yaniv, Y. Betzalel, S. Yagur-Kroll, S. Belkin, H. Mamane, The involvement of superoxide radicals in medium pressure UV derived inactivation, *Water Res.* 161 (2019) 119–125.
4. A.C. Eischeid, K.G. Linden, Molecular indications of protein damage in adenoviruses after UV disinfection, *Appl. Environ. Microbiol.* 77 (3) (2011) 1145–1147.
5. A.I. Silverman, A.B. Boehm, Systematic review and meta-analysis of the persistence and disinfection of human coronaviruses and their viral surrogates in water and wastewater, *Environ. Sci. Technol. Lett.* (2020), <https://doi.org/10.1021/acsc.lett.0c00313>.
6. H. Mamane, H. Shemer, K.G. Linden, Inactivation of *E. coli*, *B. subtilis* spores, and MS2, T4, and T7 phage using UV/H₂O₂ advanced oxidation, *J. Hazard. Mater.* 146 (3) (2007) 479–486.
7. H. Kariwa, N. Fujii, I. Takashima, Inactivation of SARS coronavirus by means of povidone-iodine, physical conditions and chemical reagents, *Dermatology* 212 (2006) 119–123 Suppl. 1.
8. S.M. Duan, X.S. Zhao, R.F. Wen, J.J. Huang, G.H. Pi, S.X. Zhang, J. Han, S.L. Bi, L. Ruan, X.P. Dong, Stability of SARS coronavirus in human specimens and environment and its sensitivity to heating and UV irradiation, *Biomed. Environ. Sci.* 16 (3) (2003) 246–255.
9. Yoram Gerchman, Hadas Mamane, Nehemya Friedmann, Michal Mandelboim. UV-LED disinfection of Coronavirus: Wavelength effect. 2020. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology.* <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.112044>.
10. Sara E. Beck, Roberto A. Rodriguez, Michael A. Hawkins, Thomas M. Hargy, Thomas C. Larason, Karl G. Linden. 2016. Comparison of UV-induced

inactivation and RNA damage in MS2 phage across the germicidal UV spectrum. *Appl Environ Microbiol* 82:1468–1474. doi:10.1128/AEM.02773-15.

11. Chen RZ, Craik SA, Bolton JR. 2009. Comparison of the action spectra and relative DNA absorbance spectra of microorganisms: information important for the determination of germicidal fluence (UV dose) in an ultraviolet disinfection of water. *Water Res* 43:5087–5096. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2009.08.032>.

12. Maezawa H, Ito T, Hieda K, Kobayashi K, Ito A, Mori T, Suzuki K. 1984. Action spectra for inactivation of dry phage-T1 after monochromatic (150-254 nm) synchrotron irradiation in the presence and absence of photoreactivation and dark repair. *Radiat Res* 98:227–233. <http://dx.doi.org/10.2307/3576231>.

13. Lakretz A, Ron EZ, Mamane H. 2010. Biofouling control in water by various UVC wavelengths and doses. *Biofouling* 26:257–267. <http://dx.doi.org/10.1080/08927010903484154>.

14. Besaratinia A, Yoon JI, Schroeder C, Bradforth SE, Cockburn M, Pfeifer GP. 2011. Wavelength dependence of ultraviolet radiation-induced DNA damage as determined by laser irradiation suggests that cyclobutane pyrimidine dimers are the principal DNA lesions produced by terrestrial sunlight. *FASEB J* 25:3079–3091. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.11-187336>.

15. Jagger J. 1967. Introduction to research in ultra-violet photobiology. Prentice-Hall biological techniques series. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.

16. Smith KC. 1963. Photochemical reactions of thymine, uracil, uridine, cytosine and bromouracil in frozen solution and in dried films. *Photochem Photobiol* 2:503–517. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-1097.1963.tb08908.x>.

17. Miller RL, Plagemann PGW. 1974. Effect of ultraviolet light on mengovirus: formation of uracil dimers, instability and degradation of capsid, and covalent linkage of protein to viral RNA. *J Virol* 13:729–739.

18. Wurtmann EJ, Wolin SL. 2009. RNA under attack: cellular handling of RNA damage. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 44:34–49. <http://dx.doi.org/10.1080/10409230802594043>.

19. J. Chen, S. Loeb, J.H. Kim, LED revolution: fundamentals and prospects

for UV disinfection applications, *Environ. Sci. Water Res. Technol.* 3 (2) (2017) 188–202.

20. O. Lawal, J. Cosman, J. Pagan, UV-C LED devices and systems: current and future state, *IUVA News* 20 (1) (2018) 22–28 https://iuvanews.com/stories/pdf/IUVA_2018_Quarter1_Lawal-article_hyperlinks.pdf.

21. Harm W. 1980. Biological effects of ultraviolet radiation. IUPAB biophys- ics series 1. Cambridge University Press, Cambridge, England.

22. Hijnen WAM, Beerendonk EF, Medema GJ. 2006. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: a review. *Water Res* 40:3–22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2005.10.030>.

23. Beck SE, Rodriguez RA, Linden KG, Hargy TM, Larason TC, Wright HB. 2014. Wavelength dependent UV inactivation and DNA damage of adenovirus as measured by cell culture infectivity and long range quanti- tative PCR. *Environ Sci Technol* 48:591–598. <http://dx.doi.org/10.1021/es403850b>.

24. Simonet J, Gantzer C. 2006. Inactivation of poliovirus 1 and F-specific RNA phages and degradation of their genomes by UV irradiation at 254 nanometers. *Appl Environ Microbiol* 72:7671–7677. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01106-06>.

25. Bolton JR, Linden KG. 2003. Standardization of methods for fluence (UV dose) determination in bench-scale UV experiments. *J Environ Eng* 129: 209 –215. [http://dx.doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(2003\)129:3\(209\)](http://dx.doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(2003)129:3(209)).

26. Beck SE, Wright HB, Hargy TM, Larason TC, Linden KG. 2015. Action spectra for validation of pathogen disinfection in medium-pressure ultra- violet (UV) systems. *Water Res* 70:27–37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.028>.

27. D.E. Kim, J.S. Min, M.S. Jang, J.Y. Lee, Y.S. Shin, C.M. Park, J.H. Song, H.R. Kim, S. Kim, Y.H. Jin, S. Kwon, Natural bis-benzylisoquinoline alkaloids-tetrandrine, fangchinoline, and cepharanthine, inhibit human coronavirus OC43 infection of MRC-5 human lung cells, *Biomolecules* 9 (11) (2019) 696.

28. Y. Betzalel, Y. Gerchman, V. Cohen-Yaniv, H. Mamane, Multiwell plates for ob- taining a rapid microbial dose-response curve in UV- LED systems, *J.*

Photochem. Photobiol. B 207 (2020) 111865.

29. G.J. Galasso, D.G. Sharp, Effect of particle aggregation on the survival of irradiated vaccinia virus, *J. Bacteriol.* 90 (4) (1965) 1138–1142.

30. M.J. Mattle, T. Kohn, Inactivation and tailing during UV254 disinfection of viruses: contributions of viral aggregation, light shielding within viral aggregates, and re- combination, *Environ. Sci. Technol.* 46 (18) (2012) 10022–10030.

31. Wigginton KR, Menin L, Sigstam T, Gannon G, Cascella M, Hamidane HB, Tsybin YO, Waridel P, Kohn T. 2012. UV radiation induces genome-mediated, site-specific cleavage in viral proteins.