



# **EVALUATIE VAN COLLECTIESYSTEMEN VAN VIRUSSEN IN AEROSOLEN 2025**

Projectnummer 060.51323

**DATUM**

11 september 2025

**AUTEURS**

S. Herfst (EMC), Suzanne Mijnhardt (EMC), Lucie Vermeulen (RIVM), Luc Hornstra (TNO)



# MANAGEMENT SAMENVATTING

Virussen kunnen zich verspreiden via direct contact, inhalatie van besmette druppeltjes (aerogene route), en indirect via oppervlakken. Aerogene transmissie van SARS-CoV-2 werd aan het begin van de Covid-19 pandemie onderschat, maar later bleek dat het virus zich toch efficiënt via de lucht kon verspreiden. Het onderzoek naar virusverspreiding via de lucht is dus belangrijk en relevant, maar technisch erg uitdagend. Zo blijkt het opvangen van infectieus virus uit de lucht, bijvoorbeeld in een ruimte met een besmette patiënt, zeer lastig te zijn. Collectoren die virussen uit de lucht verzamelen kunnen destructief zijn voor deze virussen, waardoor het virus na collectie niet meer infectieus is. Omdat het virus door de collectiemethode is geïnactiveerd, is de uitkomst van de bemonstering niet meer representatief voor de werkelijke concentratie infectieuze virussen in de lucht.

Dit onderzoek had als doel om de verschillende methoden voor het verzamelen van virussen uit de lucht te evalueren. Hiervoor zijn bij TNO, RIVM en Erasmus MC verschillende collectoren in combinatie met verschillende virussen onderzocht op de efficiëntie en op verlies van virusinfectiviteit door de collectiemethode. De volgende collectoren zijn met een aantal verschillende virussen getest:

- 6-stage impactor
- Impinger
- Niosh
- Coriolis micro
- Biospot Vivas

De gebruikte collectoren kunnen virusdeeltjes, zijnde infectieuze en niet infectieuze virussen, uit de lucht verzamelen met een efficiëntie van 60–97%. Dit wordt bepaald door middel van het kwantificeren van het viraal RNA. Voor infectieuze virussen, bepaald met een plaque assay, is de collectie efficiency lager, en afhankelijk van het virus en het type collector. Van de in dit onderzoek geteste virussen zijn met name humaan metapneumovirus (HMPV), parainfluenzavirus type 3 (PIV3) en vooral respiratoir syncytieel virus (RSV) niet goed bestendig tegen de geteste collectiemethoden. Na collectie werd ten opzichte van de oorspronkelijk vernevelde hoeveelheid virus slechts 18% (HMPV met Impactor), 27% (PIV met Biospot Vivas) en 2% (RSV met Coriolis) infectieus virus verzameld. Influenza A en SARS-CoV-2 zijn robuuster, en werden als infectieus virus met de Impinger verzameld met 93 en 127%. Rhinovirus is ook goed bestendig, en liet geen verlies van infectiviteit zien in de na verzameling met de Coriolis. Ook bacteriofaag Phi X 174 werd in infectieuze vorm effectief verzameld door de verschillende collectoren.

Naast de invloed van de collector is ook waargenomen dat een langere bemonsteringstijd resulteert in cumulatieve beschadiging van de virusdeeltjes, en dus een lagere opbrengst van infectieuze virussen. De collectiemethode en tijd hebben dus veel invloed op het verlies van virusinfectiviteit, en dit is verschillend voor de verschillende typen virussen.

Voor een goede risico-inschatting van het gevaar van aerogene virussen moet rekening worden gehouden met de effecten van de gebruikte collectiemethoden op de infectiviteit van het te

verzamelen virus. Indien dit effect substantieel is, dan geeft het aantal gevonden infectieuze virussen geen goed beeld van de werkelijke concentratie in de lucht aanwezige infectieuze virussen. Dit onderschrijft dat standaardisatie en onderzoek op dit gebied noodzakelijk is om methodologische beperkingen uit te sluiten om adequate risico-inschattingen te kunnen maken voor eventuele beleidsbeslissingen.

# INHOUD

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Management samenvatting</b>  | <b>3</b>  |
| <b>1     <b>Introductie</b></b>   | <b>6</b>  |
| 1.1    Transmissieroutes van pathogene virussen en de rol van aerogene verspreiding | 6         |
| 1.2    Methodologische uitdagingen om infectieuze virussen uit lucht te isoleren    | 7         |
| 1.3    Aerosol collectoren  | 8         |
| <b>2     <b>Materiaal en methoden</b></b>   | <b>12</b> |
| 2.1    Methoden om virussen in lucht te bemonsteren                                 | 12        |
| 2.2    Experimenten TNO-CBRN  | 12        |
| 2.2.1    Testopbouw   | 13        |
| 2.3    Experimenten RIVM  | 14        |
| 2.3.1    Context  | 14        |
| 2.3.2    Methode  | 14        |
| 2.4    Experimenten bij Erasmus MC  | 15        |
| <b>3     <b>Resultaten</b></b>  | <b>16</b> |
| 3.1    Resultaten TNO   | 16        |
| 3.1.1    De grootte van de gegenereerde aerosoldeeltjes                             | 16        |
| 3.1.2    Temperatuur en relatieve luchtvochtigheid tijdens blootstelling            | 17        |
| 3.1.3    Collectie van phi X 174 met de verschillende collectoren.                  | 18        |
| 3.2    Resultaten RIVM  | 19        |
| 3.3    Resultaten EMC   | 19        |
| <b>4     <b>Conclusie en discussie</b></b>  | <b>22</b> |
| 4.1    Conclusie  | 22        |
| 4.2    Discussie  | 23        |
| <b>5     <b>Referenties</b></b>   | <b>25</b> |

# 1 INTRODUCTIE

## 1.1 Transmissieroutes van pathogene virussen en de rol van aerogene verspreiding

Respiratoire virussen kunnen via diverse transmissieroutes van mens op mens, of in sommige gevallen van dier op mens, worden overgedragen. Deze overdracht kan plaatsvinden door:

- Overdracht van mens op mens op korte afstand door direct contact.
- Inhalatie van kleine druppeltjes of aerosoldeeltjes die virusdeeltjes bevatten en zo op zowel korte als lange afstand kunnen worden overgedragen (aerogene route).
- Indirecte overdracht via oppervlakken (van mens naar object naar mens; veelal via de handen).

We weten niet wat de bijdrage van elke transmissieroute is, maar de kans op besmetting met het SARS-CoV-2 virus is groter bij overdracht over korte afstand (direct contact én via inhalatie). Maatregelen gericht op het beperken van overdracht op korte afstand, zoals de 1,5m afstand richtlijn, zijn daarom belangrijk. In het bijzonder bij respiratoire virussen kan transmissie plaatsvinden tijdens activiteiten zoals ademen, spreken, zingen of hoesten (Coleman et al, 2022). Deze activiteiten genereren druppeltjes en aerosolen die virusdeeltjes kunnen bevatten. Deze virusbevattende aerosolen kunnen gedurende langere tijd in de lucht blijven zweven en, wanneer ingeademd door een andere persoon, leiden tot infectie. Door de World Health Organization (WHO) is recent de benaming Infectious respiratory particle (IRP) voorgesteld als terminologie voor pathogenen die zich verspreiden door de lucht WHO (WHO; 2024).

Tijdens de initiële fase van de COVID-19-pandemie was de bijdrage van aerogene transmissie aan de verspreiding van SARS-CoV-2 onvoldoende erkend. Aanvankelijk werd deze route niet als belangrijk beschouwd, mede door een gebrek aan empirisch bewijs. Pas in een later stadium werd duidelijk dat SARS-CoV-2 zich onder bepaalde omstandigheden wel efficiënt via de lucht kon verspreiden (Wang et al, 2021). Dit leidde tot herziening van eerdere aannames, waaronder de effectiviteit van de aanbevolen fysieke afstand van 1,5 meter, die in sommige situaties onvoldoende bleek om transmissie te voorkomen. Bovendien werd vastgesteld dat zogenaamde "superspreading events" vaak plaatsvonden via aerogene transmissie, waarbij één geïnfecteerd individu in korte tijd een groot aantal anderen kon besmetten (Stadnytskyi et al, 2021). Deze bevindingen onderstrepen het belang van verder onderzoek naar aerogene transmissie, met als doel gerichte interventies te kunnen ontwikkelen die de verspreiding van respiratoire virussen via deze route kunnen beperken.

## 1.2 Methodologische uitdagingen om infectieuze virussen uit lucht te isoleren

Om de rol van de aerogene transmissieroute in de verspreiding van SARS-CoV-2 beter te begrijpen, zijn tijdens de Covid-19 pandemie veel experimenten opgezet gericht op het opvangen van infectieus virus uit de lucht. In onder andere humane challenge-studies, waaronder die van Killingley, werd de virale concentratie van met SARS-CoV-2 geïnfecteerde vrijwilligers in uitgeademde lucht bepaald met behulp van kwantitatieve PCR (qPCR) en plaque-assays (PFU-tellingen). Deze studies toonden aan dat het buitengewoon moeilijk is om infectieus virus aan te tonen in luchtmonsters, ondanks de aanwezigheid van viraal RNA (Killingley et al. 2022; Niese et al, 2025).

Voor SARS-CoV-2 bleek dat het aantal infectieuze virusdeeltjes in uitgeademde lucht 3 tot 4 log-eenheden lager is dan het totale aantal virusdeeltjes, zoals vastgesteld met qPCR. Bovendien worden deze infectieuze deeltjes slechts gedurende een beperkte tijdspanne uitgescheiden door de patiënt (Killingley et al, 2022). Deze bevindingen komen overeen met eerdere studies waarin luchtmonsters werden genomen in ruimten met COVID-19-patiënten (Lai et al, 2024; Adenaiye et al, 2022). Hoewel in veel gevallen viraal RNA werd gedetecteerd, kon infectieus virus zelden worden aangetoond. Het bepalen van de concentratie en infectiviteit van virussen in de lucht is van cruciaal belang voor het begrijpen van transmissie door de lucht en het nemen van gepaste maatregelen ter bescherming van de volksgezondheid. De nauwkeurigheid van deze metingen hangt sterk af van de gebruikte bemonsteringstechniek en -omstandigheden, omdat factoren zoals luchtsnelheid, bemonsteringsduur, temperatuur en luchtvochtigheid directe invloed hebben op zowel de aantoonbaarheid als de levensvatbaarheid van de gemeten micro-organismen. Zeker voor virussen met een kwetsbaar membraan, zoals SARS-CoV-2, kan de kracht van luchtstromen en mechanische stress tijdens de monsternamen de uitkomst van kweek of detectie sterk beïnvloeden (Raynor et al, 2021; Silva et al, 2022).

Uit de literatuur blijkt dat er een breed scala aan methoden wordt toegepast voor het verzamelen van virusbevattende aerosolen (Verreault et al, 2008; Dybwad et al, 2014). Deze methoden zijn gebaseerd op verschillende fysische principes, en het is niet goed onderzocht of en in hoeverre deze methoden de overleving van een virus beïnvloeden. De Coriolis-sampler bijvoorbeeld, maakt gebruik van een cyclonale luchtstroom om deeltjes te verzamelen, waarbij de daarbij optredende shear-krachten mogelijk een destructief effect hebben op infectieuze virusdeeltjes. Dit impliceert dat de gebruikte bemonsteringsmethode invloed heeft op de detecteerbaarheid van infectieus virus. Daarnaast is ook de collectie efficiëntie niet hetzelfde voor verschillende deeltjesgroottes. Sommige deeltjesgroottes worden beter verzameld dan anderen (Dybwad et al, 2014).

Om deze reden is binnen het P3Venti-project besloten om de verschillende bemonsteringsmethoden te evalueren. Hierbij werd met name gekeken naar (1) de efficiëntie van de gebruikte collectoren en (2) de mate waarin de bemonsteringsmethode de infectiviteit van verschillende soorten virussen beïnvloedt, oftewel of deze virussen tijdens het bemonsteringsproces wordt geïnactiveerd.

### 1.3 Aerosol collectoren

De ideale aerosolcollector voldoet aan meerdere criteria: een hoge collectie-efficiëntie voor deeltjes in het groottebereik van 0,1 tot 10  $\mu\text{m}$ , de mogelijkheid tot langdurige bemonstering en/of het kunnen bemonsteren van een groot volume lucht waardoor ook lage concentraties kunnen worden aangetoond, en het behoud van de levensvatbaarheid en/of infectiviteit van het verzamelde micro-organisme tijdens de bemonstering. Echter, verschillende technische complicaties kunnen de effectiviteit van deze methoden beïnvloeden, waaronder verdamping van de verzamelvloeistof, mogelijke re-aerosolisatie van de vloeistof met daarin de opgenomen deeltjes, en mechanische stress die de infectiviteit beïnvloed. Elke bemonsteringsmethode kent specifieke voor- en nadelen ten aanzien van bovengenoemde criteria.

All glass impingers, waarbij lucht met daarin aerosolen door een vloeistof worden geleid waarin ze worden opgenomen, worden in veel studies toegepast om virusbevattende aerosolen uit lucht te verzamelen. Deze methode is relatief mild, waardoor een aanzienlijk deel van de virusdeeltjes hun infectiviteit behoudt, al is dit mede afhankelijk van het virus.



Figuur 1: Een foto van een all glass impinger met een verzamelvolume van 5 ml.

Een andere veelgebruikte methode is de Andersen impactor, die werkt op basis van inertiele impactie. Hierbij worden aerosoldeeltjes meegenomen door een luchtstroom die abrupt van richting verandert, waardoor deeltjes met voldoende massa niet in staat zijn de luchtstroom te volgen en door middel van middelpuntvliedende kracht op een oppervlak neerslaan. Een 6-stage Andersen impactor bestaat uit meerdere opeenvolgende stadia, waarbij elk stadium deeltjes in een specifiek groottebereik verzamelt. Deze configuratie maakt het mogelijk om deeltjes te verzamelen met diameters tussen 0,65 en 7,5  $\mu\text{m}$  (Verreault et al., 2008). Op de bovenste stage worden de deeltjes groter dan 7,5  $\mu\text{m}$  opgevangen. Een



one-stage impactor werkt volgens hetzelfde principe als de 6-stage impactor, en vangt alle deeltjes groter dan 0,65  $\mu\text{m}$  (thermofisher.com).



Figuur 2: Afbeelding van een 6-stage Andersen impactor

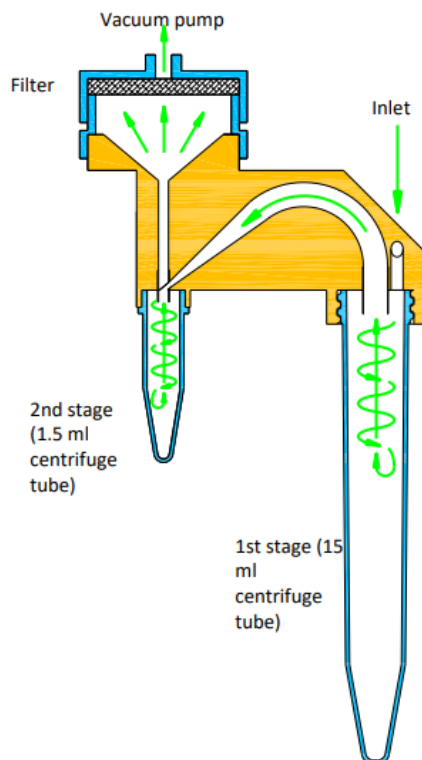
Een aantal bemonsteringssystemen, waaronder de Coriolis (Figuur 3) en de Niosh BC 251 (Figuur 4) (ook wel NIOSH-3 genoemd), maken gebruik van centrifugaalkrachten om aerosoldeeltjes uit de lucht te verzamelen. Deze systemen genereren een cyclonale luchtstroom waarbij deeltjes door hun massa naar de wand van het apparaat worden gedreven en vervolgens in een vloeistof worden opgevangen, of aan de wand vast blijven zitten.

De Bertin Coriolis Micro is een microbiële luchtcollector die zwevende deeltjes concentreert in een vloeibaar monster. De technologie is geoptimaliseerd voor het verzamelen van virussen, bacteriën, schimmels, pollen en sporen. Het systeem maakt gebruik van een natte cyclonische technologie in combinatie met een hoge luchtstroom, variërend van 100 tot 300 liter per minuut (LPM). De Coriolis Micro realiseert een uiterst efficiënte deeltjesverzameling binnen een tijdsbestek van tien minuten. De verzamelde deeltjes bevinden zich in het groottebereik van 0,5 tot 10  $\mu\text{m}$ .



Figuur 3 De Coriolis Microbial Air sampler

De NIOSH-bioaerosol collector is een tweefase cyclonische bioaerosol collector die aerosoldeeltjes scheidt in drie fracties op basis van de deeltjesgrootte. De cut-off van deze fracties worden bepaald door het debiet waarmee wordt bemonsterd. Bij een debiet van 3,5 liter per minuut bij bemonstering van omgevingslucht, vangt de eerste fase van de collector de deeltjes groter dan 4  $\mu\text{m}$ . De tweede fase verzamelt deeltjes met een diameter tussen 1 en 4  $\mu\text{m}$ . Het verzamelde materiaal in deze twee fasen wordt opgevangen in centrifugebuisjes: een buis van 15 ml voor de eerste fase en een microcentrifugebuisje van 1,5 ml voor de tweede fase. De collectie in deze twee fasen is gebaseerd op droge cyclonische technologie. In de derde fase wordt het materiaal verzameld op een PTFE-filter met een diameter van 37 mm.



Figuur 4: Een schematische weergave van de Niosh bioaerosol collector.

De Biospot VIVAS (Figuur 5) maakt gebruik van watercondensatie om (bio)aerosoldeeltjes op een efficiënte en milde wijze te verzamelen en is een bewezen instrument voor het verzamelen van levensvatbare ziekteverwekkers in de lucht. Hierbij worden aerosoldeeltjes in de lucht omgeven door waterdamp, waardoor ze condenseren en in massa toenemen. Deze zwaardere deeltjes kunnen vervolgens op een zeer milde wijze worden verzameld, zonder blootstelling aan schadelijke fysische krachten. De bemonstering vindt -afhankelijk van het model- plaats met een regelbaar debiet van 8-15 liter per minuut (LPM), waarbij het apparaat een verzamelingsefficiëntie van meer dan 90% claimt voor deeltjes in het groottebereik van 10 nanometer tot 10 micrometer. Het monster wordt opgevangen in een temperatuurgecontroleerde petrischaal, wat bijdraagt aan het behoud van de integriteit van de in de verzamelde aerosoldeeltjes aanwezige micro-organismen. Deze methode is geschikt voor alle bioaerosoldeeltjes, maar met name geschikt voor virussen die gevoelig zijn voor inactivatie door turbulente luchtstromen of mechanische stress.



Figuur 5: De Biospot vivas ontwikkeld door Aerosol devices.

Een andere veelgebruikte techniek is filtratie, waarbij lucht door een filter met zeer kleine poriën wordt geleid. Deze methode effectief is voor het verzamelen van virale RNA of DNA ten behoeve van moleculaire detectie, maar door verdroging en ook door de procedure die nodig is om de virussen van de filters te halen is deze methode minder geschikt voor bemonstering waarbij het behoud van virus infectiviteit belangrijk is (Pan et al, 2019). Gelatinefilters presteren op dit vlak iets beter. Ze zijn minder destructief voor virussen en worden daarom vaker ingezet om infectieuze virusdeeltjes te isoleren (Tseng & Li, 2005).

Elke collector heeft specifieke eigenschappen, en ook virussen verschillen in de mate waarin ze bestand zijn tegen de destructieve invloeden van de collectoren. Het is daarom belangrijk om de goede collector te selecteren, afhankelijk van de onderzoeksvraag en viruseigenschappen. In de beschikbare literatuur worden veel verschillende collectoren gebruikt, waardoor het vergelijken van gegevens met eerder gepubliceerde informatie erg lastig is. Er is daarom een sterke behoefte aan meer standaardisatie van de verschillende methoden, zodat er een meer eenduidig beeld ontstaat over het verlies van infectiviteit van virussen in de lucht onder verschillende omstandigheden (Dybwad et al, 2014).

## 2 MATERIAAL EN METHODEN

### 2.1 Methoden om virussen in lucht te bemonsteren

In deze studie is gebruik gemaakt van de volgende collectoren en virussen bij de verschillende organisaties:

Tabel 1: De in deze studie gebruikte collectoren en onderzochte virussen.

| <b>Collectoren</b>           | <b>TNO</b> | <b>RIVM</b> | <b>Erasmus MC</b> |
|------------------------------|------------|-------------|-------------------|
| SKC Impinger                 | +          |             | +                 |
| Niosh BC251                  | +          |             | +                 |
| Coriolis Micro               | +          | +           | +                 |
| Biospot Vivas                | +          |             | +                 |
| 6-stage impactor             |            |             | +                 |
|                              |            |             |                   |
| <b>Virussen</b>              |            |             |                   |
| Bacteriofaag Phi x 174       | +          |             |                   |
| SARS-CoV-2                   |            | +           | +                 |
| Influenza A virus (H1N1)     |            | +           | +                 |
| Rhinovirus                   |            | +           |                   |
| Parainfluenzavirus type 3    |            |             | +                 |
| Respiratoir syncytieel virus |            |             | +                 |
| Humaan metapneumovirus       |            |             | +                 |

### 2.2 Experimenten TNO-CBRN

Voor het evalueren van collectoren is het gewenst een goed gecontroleerde omgeving te gebruiken, waarbinnen de grootte van de aerosolen gecontroleerd kan variëren. TNO heeft de beschikking over een BSL-1 Dycor Aerosol Testkamer (Figuur 6). Deze kamer bestaat uit een 12 m<sup>3</sup> (3 x 2 x 2 m) ruimte waar HEPA gefilterde lucht wordt toegevoerd. Door middel van twee ventilatoren wordt de kamer optimaal gemengd. De generatie van aerosolen wordt gedaan door middel van een Collison nebulizer en de large particle diluter van Dycor®. De large Particle Diluter van Dycor gebruikt een 48 MHz ultrasonic nozzle van Sonotek voor het genereren van de bioaerosoldeeltjes. De large particle diluter wordt gebruikt voor het maken van deeltjes > 1 µm. De Collison nebulizer wordt toegepast voor het maken van de deeltjes < 1µm.

Deze testkamer is gebruikt voor het vernevelen van bacteriofaag Phi X 174, waarbij in drie verschillende experimenten aerosolen zijn gemaakt van een verschillende gemiddelde grootte van < 1µm, 1-4 µm , en >4 µm. Voor het real-time analyseren van de aanwezige aerosoldeeltjes is gebruik gemaakt van een Aerodynamic Particle Sizer, TSI 3321, welke met een tijdsresolutie van 6 secondes de concentratie van deeltjes in het 0.5-20 micrometer bereik vastlegt.

Vervolgens zijn 4 verschillende aerosolcollectoren gebruikt om te bepalen hoe efficiënt infectieuze bacteriofagen konden worden verzameld.

De bij deze testen gebruikte Phi X 174, werd gekweekt op *Escherichiae coli* (Migula 1895) DSM-13127. De *E. coli* is gekweekt op Luria Broth medium. Om aerosoldeeltjes in de gewenste grootte te genereren is de gekweekte stock verdund met kweekmedium tot concentraties van respectievelijk  $1 \times 10^5$ ,  $5 \times 10^6$  en  $1 \times 10^8$  PFU/ml.



Figuur 6: De TNO Aerosol test kamer waarin de verschillende luchtbemonsteringsapparaten zijn getest met Phi X 174.

### 2.2.1 Testopbouw

Voor iedere meting is de kamer schoongemaakt door de lucht te verversen met 1 volumevervanging per minuut gedurende meerdere minuten. Vervolgens zijn aerosolen op een gewenste concentratie gegenereerd en gedurende 10 minuten op deze concentratie gehouden. Gedurende deze periode van 10 minuten zijn de te evalueren samplers tegelijk aangezet voor bemonstering. De genomen monsters zijn vervolgens geanalyseerd op het aantal opgevangen infectieuze virussen door middel van kweek. Er zijn drie verschillende deeltjesgroottes gegenereerd: kleiner dan  $1 \mu\text{m}$ , tussen 1 en  $4 \mu\text{m}$ , en groter dan  $4 \mu\text{m}$ . Alle metingen zijn uitgevoerd in vijfvoud om de reproduceerbaarheid en betrouwbaarheid van de resultaten te waarborgen. In tabel 2 zijn de flow instellingen en sample volumes weergegeven die gebruikt zijn voor het bemonsteren van aerosolen in de aerosol test kamer.

Tabel 2. De toegepaste flow instellingen en het volume waarin de aerosolen zijn opgenomen na bemonstering van de Coriolis, Biospot Vivas, Impinger en Niosh.

| Collector     | Flow settings | Volume vloeistof na bemonstering   |
|---------------|---------------|--|
| Coriolis      | 300 L/min     | 15 ml  |
| Biospot Vivas | 15 L/min      | 3 ml   |
| Impinger      | 12,5 L/min    | 20 ml  |
| Niosh         | 3,5 L/min     | Filter: 2 ml (bij $1 < x < 4$<br>experiment 2,5 ml)<br>1,5 tube: 1 ml<br>15 tube: 2,5 ml |

## 2.3 Experimenten RIVM

### 2.3.1 Context

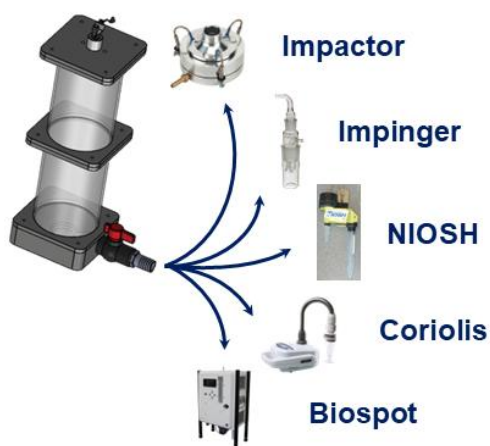
Om betrouwbare kwantificering van virussen in lucht te realiseren is in dit project een bemonsteringsmethode, de Coriolis Microbial Air sampler (figuur 3) getest. Hierbij wordt niet alleen gekeken naar de hoeveelheid gemeten virus, maar ook naar het aandeel dat daadwerkelijk infectieus blijft na monsternamen. Waar het hierboven omschreven onderzoek bij TNO, waarin verschillende apparatuur vergeleken is, is uitgevoerd met bacteriofagen, zijn deze experimenten uitgevoerd met voor de mens ziekteverwekkende virussen. Door verschillende ziekteverwekkende respiratoire virussen te testen onder gecontroleerde omstandigheden en gebruik te maken van zowel kweek als moleculaire detectietechnieken, ontstaat inzicht in de prestaties en beperkingen van huidige bemonsteringsmethoden. Dit stelt ons in staat om resultaten uit luchtmetingen goed te interpreteren en de risico's van overdracht via de lucht beter te beoordelen.

### 2.3.2 Methode

In dit onderzoek zijn drie verschillende virussen in het laboratorium gekweekt (SARS-CoV-2, influenza A (H1N1) virus, rhinovirus A-16), direct toegevoegd aan de opvangvloeistof in de cone van de Coriolis air sampler (Figuur 1). De SARS-CoV-2 experimenten zijn hierbij uitgevoerd in een BSL3 lab. Tijdens de experimenten is het apparaat aangezet met verschillende luchtstroomsnelheden (0, 100 en 300 L/min) om vast te stellen of het bemonsteren van lucht invloed heeft op de hoeveelheid en besmettelijkheid van de aanwezige virussen. Dit onderzoek vangt dus geen virus uit de lucht, maar kijkt enkel naar de overleving van het virus in het apparaat. Na de metingen is bepaald hoeveel virus er is teruggevonden, zowel het totaal aan aanwezige virusdeeltjes (RNA) als de hoeveelheid levende (besmettelijke) virusdeeltjes (TCID<sub>50</sub>).

## 2.4 Experimenten bij Erasmus MC

Bij Erasmus MC is een experimentele opstelling ontworpen om de verzamelefficiëntie van maximaal vijf verschillende collectoren (BioSpot, impinger, impactor, Niosh en Coriolis) voor in lucht aanwezige virussen te vergelijken. In deze opstelling, die geplaatst is in een onderdruk isolator, wordt 100 µl van een virussuspensie (Influenza A virus (IAV), SARS-CoV-2 (SARS2), parainfluenzavirus type 3 (PIV3), respiratoir syncytieel virus (RSV) en humaan metapneumovirus (HMPV)) verneveld in een ronde aerosolkamer (50 cm hoog, 15 cm diameter) met behulp van een Aeroneb Solo. Op deze aerosolkamer kunnen vervolgens met een slang van 1.70 meter de verschillende luchtbemonsteringssystemen worden aangesloten om de efficiëntie van de opvangcollectie te bepalen. Testen om RNA (qPCR: totale hoeveelheid virus) en infectieus virus (plaque assays) te kwantificeren zijn opgezet en operationeel voor de verschillende virussen. De experimenten zijn uitgevoerd in triplo. Als eerste zijn er experimenten uitgevoerd met een monstervolume ingesteld op 100 liter, wat betekent dat de bemonsteringstijd voor elke apparaat verschillend was: BioSpot 6 min 42 sec, impinger 8 min, 6-stage impactor 3 min 30 sec, Niosh 28 min 36 sec en Coriolis 1 min (bij 100L/min). Vervolgens zijn er experimenten gedaan waarbij niet het samplingvolume, maar de samplingtijd is gestandaardiseerd op 5 of 30 minuten, waardoor het totale luchtvolume dat bemonsterd is voor alle luchtbemonsteringssystemen anders is.



Figuur 7: De collectoren die zijn getest in het onderzoek van Erasmus MC.

## 3 RESULTATEN

### 3.1 Resultaten TNO

In dit onderzoek werden de luchtcollectoren Coriolis, Biospot Vivas, Impinger en Niosh met elkaar vergeleken. De bacteriofaag Phi X 174 werd, in vijfvoud, verneveld bij drie deeltjesgroottes;  $<1$ ,  $1 < x < 4$  en  $> 4 \mu\text{m}$ . Door middel van een plaque-assay werd het aantal opgevangen infectieuze bacteriofagen bepaald.

#### 3.1.1 De grootte van de gegenereerde aerosoldeeltjes

Met de Aerodynamic Particle Sizer (APS) model 3321, die high-resolution, real-time gegevens van de aerodynamische diameter van deeltjes in het bereik van 0,5 tot 20 micrometer levert, is de diameter van de gegenereerde aerosolen bepaald. De grootte van de deeltjes is weergegeven in tabel 3

|  | Mean<br>[ $\mu\text{m}$ ] | Geomean<br>[ $\mu\text{m}$ ] | Mode<br>[ $\mu\text{m}$ ] | GSD [-] |
|--|---------------------------|------------------------------|---------------------------|---------|
| Deeltjes<br>< 1 $\mu\text{m}$            | 0.57                      | 0.57                         | 0.52                      | 1.21    |
|  | 0.62                      | 0.62                         | 0.52                      | 1.21    |
|  | 0.62                      | 0.62                         | 0.52                      | 1.21    |
|  | 0.61                      | 0.61                         | 0.52                      | 1.21    |
|  | 0.62                      | 0.62                         | 0.52                      | 1.22    |
| Deeltjes<br>$1 < x < 4$<br>$\mu\text{m}$ | 1.77                      | 1.77                         | 2.33                      | 1.62    |
|  | 1.73                      | 1.73                         | 2.07                      | 1.65    |
|  | 1.72                      | 1.72                         | 2.13                      | 1.67    |
|  | 1.70                      | 1.70                         | 1.78                      | 1.72    |
|  | 1.58                      | 1.58                         | 1.64                      | 1.82    |
| Deeltjes<br>> 4 $\mu\text{m}$            | 3.41                      | 3.41                         | 4.02                      | 2.12    |
|  | 3.52                      | 3.52                         | 4.20                      | 2.19    |
|  | 3.67                      | 3.67                         | 4.37                      | 2.14    |
|  | 3.72                      | 3.72                         | 4.57                      | 2.09    |
|  | 3.74                      | 3.74                         | 4.79                      | 2.07    |

Tabel 3: Karakterisering van de aerosol waarvan de verzamelresultaten staan in tabel x.

Uit de blootstellingskarakteristieken blijkt dat de deeltjes  $< 1 \mu\text{m}$  een zeer consistente grootteverdeling vertonen. Zowel de gemiddelde (mean) als de geometrische diameter (geomean) liggen tussen de 0,57 en 0,62  $\mu\text{m}$ . De kolom Mode geeft de meest voorkomende deeltjesgrootte aan en deze blijft stabiel op 0,52  $\mu\text{m}$ . De lage geometrische standaarddeviatie (GSD) geeft een smalle spreiding in de deeltjesgrootte aan. De meeste deeltjes zijn dus ongeveer even groot.

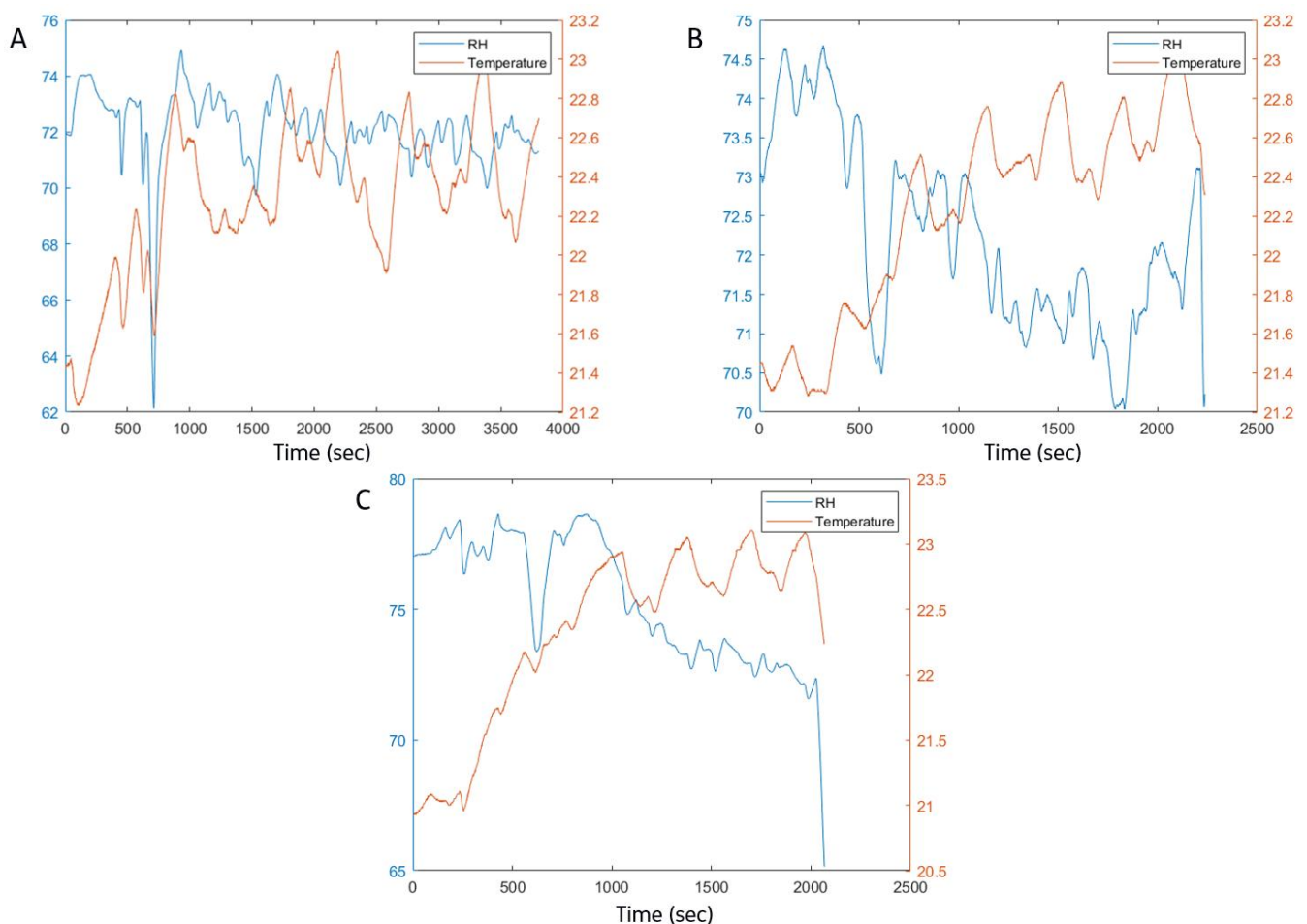
Voor de deeltjes tussen 1 en 4  $\mu\text{m}$  is iets meer variatie zichtbaar. De gemiddelde diameter varieert van 1,58 tot 1,77  $\mu\text{m}$ , terwijl de meest voorkomende grootte varieert van 1,64 tot 2,33  $\mu\text{m}$ . Deze spreiding



suggereert dat er meerdere typen of bronnen van deeltjes aanwezig zijn binnen dit segment. De GSD loopt op tot 1,82, wat bevestigt dat de deeltjes in deze groep minder uniform van grootte zijn. De deeltjes groter dan 4  $\mu\text{m}$  laten een geleidelijke toename in gemiddelde diameter zien. Ook de meest voorkomende grootte neemt toe. De GSD blijft in dit segment relatief hoog, wat betekent dat er een spreiding is in de grootte van deze grotere deeltjes.

### 3.1.2 Temperatuur en relatieve luchtvochtigheid tijdens blootstelling

Tijdens experimenten met deeltjes van verschillende groottes (<1  $\mu\text{m}$ , 1–4  $\mu\text{m}$  en >4  $\mu\text{m}$ ) zijn temperatuur en relatieve luchtvochtigheid (RV) gemeten. Deze omgevingsparameters zijn van belang omdat ze direct invloed hebben op het gedrag, zoals bijvoorbeeld verdamping van aerosolen in de lucht, en daarmee de grootte van de aerosolen. In figuur 8 zijn de resultaten van de temperatuur en de relatieve luchtvochtigheid weergegeven.



Figuur 8: Temperatuur en vochtigheid als functie van de tijd (seconden) gedurende de blootstelling gekarakteriseerd met de parameters in tabel 2. (A). Blootstelling aan deeltjes <1  $\mu\text{m}$ . (B). Blootstelling aan deeltjes 1-4  $\mu\text{m}$ . (C). Blootstelling aan deeltjes > 4  $\mu\text{m}$ .

De RV bevond zich bij alle experimenten tijdens de duur van het experiment tussen de 70 en 75%. Alleen bij het begin van het experiment met de deeltjes > 4  $\mu\text{m}$  was de RV een korte tijd iets boven de 75%. De experimenten zijn allemaal uitgevoerd bij een temperatuur tussen de 22 en 23°C.

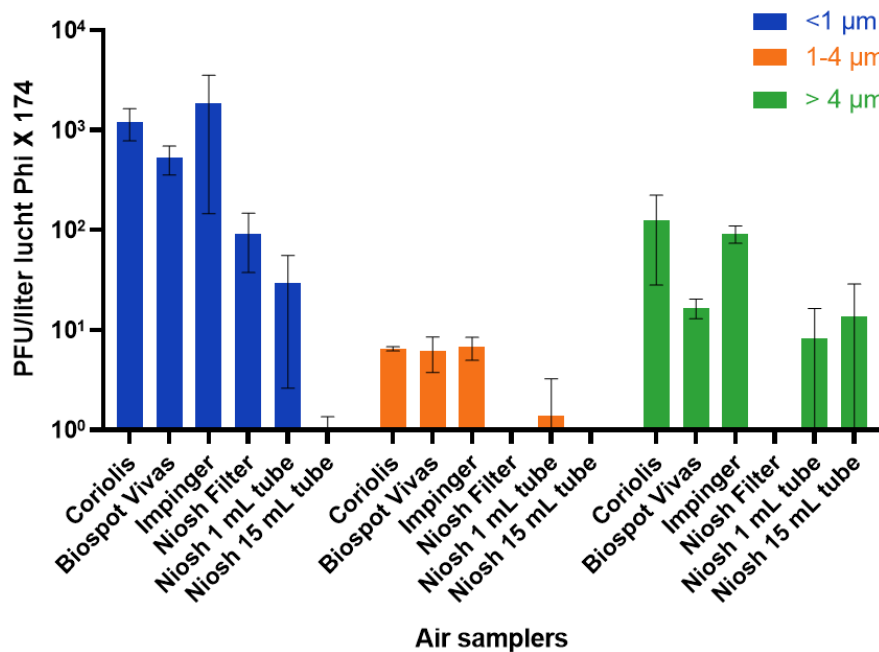
### 3.1.3 Collectie van phi X 174 met de verschillende collectoren.

Nadat de condities in de AT kamer constant waren, zijn de verschillende collectoren aangezet, met een constante bemonsteringstijd van 10 minuten. De collectoren hebben verschillende debieten, variërend van 3,5 liter per minuut voor de Niosh tot 300 liter per minuut voor de Coriolis. De collectoren hebben daardoor in de 10 minuten bemonsteringstijd verschillende volumes bemonsterd.

De coriolis, biospot vivas en de impinger maken gebruik van een verzamel vloeistof, terwijl de Niosh deeltjes verzameld aan de wand van de buis. De laatste stap van de Niosh is een filtratiestap, voor deeltjes kleiner dan 1 µm. De volumes waarin de aerosolen zijn opgenomen zijn weergegeven in tabel 2. Van deze verzamelde volumes is 1 ml genomen voor de analyse van Phi X 174 door middel van plaque assays.

De collectoren die in dit onderzoek zijn getest verschillen in de luchtsnelheid en bemonsteringsvolume. Van het totale bemonsteringsvolume is 1 ml onderzocht op het aantal pfu/ml Phi X 174. Om te bepalen hoeveel levensvatbare bacteriofagen zijn verzameld per liter lucht zal moeten worden gecorrigeerd voor verschillen in de hoeveelheid liters aangezogen lucht en verschillen in het volume van de bemonsteringsvloeistof. Deze correctie vindt plaats door het aantal pfu/ml van alle collectoren om te rekenen volgens:

$$\text{PFU/L lucht} = \frac{\text{PFU/mL}}{\text{Flow rate (L/min)}} * \text{bemonsteringsvolume (ml)}$$



Figuur 9. Het aantal PFU Phi X 174 per liter lucht verzameld door de Coriolis, Biospot Vivas, Impinger en Niosh bij een bemonstering van 10 minuten en een deeltjesgrootte van <1, 1 < x < 4 en > 4 µm.

Figuur 9 geeft de meetresultaten weer, gecorrigeerd voor de verschillende volumes lucht, en voor de verschillen in bemonsteringsvolume. Dit maakt het mogelijk om de collectoren onderling te vergelijken. De Coriolis, de Biospot Vivas en de Impinger presteren ongeveer gelijk in het verzamelen van infectieus Phi X 174. De opbrengst van de Niosh is lager. De Niosh vangt de aerosoldeeltjes op op basis van verschillende groottes in twee fracties en op een filter. De figuur laat zien dat dit klopt, maar er ook wel aerosoldeeltjes van een andere grootte dan beoogd worden aangetroffen in de verschillende fracties.

### 3.2 Resultaten RIVM

Uit de experimenten is gebleken dat:

- Hogere luchtstroomsnelheden leiden tot een groter verlies van vloeistof in het apparaat.
- Bij SARS-CoV-2 was er geen afname te zien in het totaal aan aanwezige virusdeeltjes bij hogere luchtstromen, maar wel een duidelijke afname in de hoeveelheid *infectieuze* virusdeeltjes. Bij gebruik van de Coriolis op de hoogste stand was deze afname ongeveer 2 log (d.w.z. een 99% afname van infectieuze virusdeeltjes).
- Bij influenza A (H1N1) resulteerde een hogere luchtstroom in een afname aan zowel het totaal aan aanwezige virusdeeltjes als de hoeveelheid infectieuze virusdeeltjes. Bij gebruik van de Coriolis op de hoogste stand was deze afname van infectieuze virusdeeltjes ongeveer 1 – 1.5 log ( d.w.z. een afname van 90 – 96%).
- Bij Rhinovirus-16 waren er geen afnames in aanwezige of infectieuze virusdeeltjes bij hogere luchtstromen.

### 3.3 Resultaten EMC

In de studies met de aerosolkamer waarbij de opvang efficiëntie van vijf verschillende collectoren is vergeleken is de collectietijd van alle samplers aangepast zodat in totaal 100 liter lucht is bemonsterd (Tabel 4).

Tabel 4: Totale bemonsteringstijd voor de verschillende collectoren

|          | luchtsnelheid | 100 L lucht   |
|----------|---------------|---------------|
| Impactor | 28.3 L / min  | 3 min 30 sec  |
| Impinger | 12.5 L / min  | 8 min         |
| NIOSH    | 3.5 L / min   | 28 min 36 sec |
| Coriolis | 100 L / min   | 1 min         |
| Biospot  | 15 L / min    | 6 min 42 sec  |

Een analyse met behulp van kwantitatieve PCR laat zien dat met alle collectoren ongeveer tussen de 60 en 97 % van het verneveld virus kon worden opgevangen (Tabel 5). Er werden geen heel grote verschillen tussen de verschillende collectoren aangetoond in de algehele collectie efficiëntie. De opvang efficiëntie van SARS2, IAV, RSV en PIV3 was het hoogst met de Impinger en voor HMPV met de BioSpot.

Tabel 5: Percentage opgevangen RNA ten opzichte van totale hoeveelheid verneveld RNA in virussuspensie (gemiddelde van 3 metingen).

|          | SARS2       | IAV         | RSV         | HMPV        | PIV3        |
|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Impactor | 86,4        | 89,8        | 71,9        | 92,1        | 82,2        |
| Impinger | <b>95,7</b> | <b>97,0</b> | <b>90,0</b> | 94,9        | <b>91,7</b> |
| NIOSH    | 83,0        | 75,1        | 61,5        | 81,8        | 64,8        |
| Coriolis | 91,1        | 86,6        | 83,4        | 88,0        | 83,3        |
| Biospot  | 95,4        | 86,0        | 87,5        | <b>95,6</b> | 85,9        |

De plaque assays -waarbij er naar infectieus virus wordt gekeken- lieten zien dat er in het algemeen meer SARS2 en IAV werd opgevangen dan RSV, HMPV en PIV3. Van de paramyxo/pneumovirussen werd veel minder infectieus virus opgevangen, met de hoogste opbrengst met de Coriolis voor RSV, de impactor voor HMPV en de BioSpot voor PIV3. Voor RSV werd er sowieso met alle samplers maar zeer weinig infectieus virus opgevangen. Eerder experimenten lieten zien dat in een andere experimentele opstelling infectieus RSV na verneveling wel redelijk goed kon worden opgevangen (Kutter et al., 2021). Om die reden zijn aanvullende experimenten gedaan, en daaruit blijkt dat het transport van de virussen door de aerosol kamer (50cm) en de buis die de aerosol kamer met de sampler verbindt (170 cm), dermate lang is dat dit genoeg is om de infectiviteit van RSV te verliezen. De verwachting is dat als een groter volume RSV virussuspensie wordt verneveld in een kleinere aerosolkamer (zoals is gedaan door Kutter et al, 2021, er een hogere luchtvochtigheid ontstaat, en daardoor het wel mogelijk is om infectieus RSV op te vangen. Een voorzichtige voorlopige hypothese zou kunnen zijn dat RSV niet lang infectieus kan blijven onder omstandigheden met een lage of gemiddelde relatieve luchtvochtigheid, waardoor de rol van airborne transmissie in de verspreiding van RSV in de populatie wellicht minder belangrijk is dan voor bijvoorbeeld influenzavirus of SARS-CoV-2.

Tabel 6: Percentage opgevangen infectieus virus ten opzichte van hoeveelheid verneveld virus in suspensie.

|          | SARS2       | IAV          | RSV        | HMPV        | PIV3        |
|----------|-------------|--------------|------------|-------------|-------------|
| Impactor | 13,0        | 58,8         | 0,9        | <b>18,3</b> | 16,1        |
| Impinger | <b>93,9</b> | <b>127,4</b> | 0,7        | 5,6         | 9,0         |
| NIOSH    | 0,6         | 12,2         | 0,0        | 3,2         | 8,4         |
| Coriolis | 11,6        | 38,3         | <b>2,4</b> | 13,8        | 16,2        |
| Biospot  | 36,3        | 69,3         | 0,9        | 16,9        | <b>27,2</b> |

Vergelijkbare experimenten zijn uitgevoerd waarbij niet het luchtvolume, maar de tijdsduur van bemonsteren is gestandaardiseerd. Tot nu toe zijn de data voor IAV, RSV en HMPV geanalyseerd. Met zowel een sampletijd van 5 of 30 minuten werd wederom het overgrote deel van het virale RNA opgevangen, hoewel de opbrengst van de impactor en de Niosh voor IAV en RSV wat minder was ten opzichte van de rest (circa 60-70 %) (Tabel 7). Na 30 minuten bemonsteren was de RNA-opbrengst in de meeste gevallen een fractie hoger dan na 5 minuten bemonsteren, maar het verschil is vaak klein. Alleen bij de Biospot Vivas was de opbrengst in alle gevallen iets lager na 30 minuten bemonsteren.

Tabel 7: Percentage opgevangen RNA na 5 minuten en 30 minuten bemonsteren ten opzichte van totale hoeveelheid verneveld RNA in virussuspensie (gemiddelde van 3 metingen).

|          | IAV         |             | RSV         |             | HMPV        |              |
|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
|          | 5 minuten   | 30 minuten  | 5 minuten   | 30 minuten  | 5 minuten   | 30 minuten   |
| Impactor | 59,7        | 56,5        | 61,1        | 59,4        | 79,3        | 81,9         |
| Impinger | <b>96,3</b> | <b>98,7</b> | <b>92,2</b> | <b>95,5</b> | <b>99,2</b> | <b>100,7</b> |
| NIOSH    | 70,0        | 70,9        | 61,8        | 68,7        | 87,4        | 88,2         |
| Coriolis | 87,4        | 92,6        | 84,6        | 88,3        | 92,9        | 96,4         |
| Biospot  | 90,2        | 84,9        | 88,9        | 85,4        | 97,4        | 95,8         |

Met betrekking tot de hoeveelheid opgevangen infectieus virus is het interessant om te zien dat na 30 minuten bemonsteren de opbrengst bij de meeste condities lager is dan na 5 minuten bemonsteren, terwijl de hoeveelheid opgevangen viraal RNA nagenoeg gelijk is (Tabel 8). Dit verschil in de hoeveelheid infectieus virus suggereert dat de tijdsduur van bemonstering een belangrijke factor is bij de keuze en het gebruik van een sampler. Een langdurig verblijf van virussen in het bemonsteringsapparaat leidt tot verlies van infectiviteit, wat kan resulteren in een verkeerde interpretatie van de resultaten.

Tabel 8: Percentage opgevangen infectieus virus na 5 of 30 minuten ten opzichte van totale hoeveelheid verneveld RNA in virussuspensie (gemiddelde van 3 metingen).

|          | IAV         |             | RSV        |            | HMPV        |             |
|----------|-------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|
|          | 5 minuten   | 30 minuten  | 5 minuten  | 30 minuten | 5 minuten   | 30 minuten  |
| Impactor | 33,4        | 16,9        | 2,5        | 0,9        | 5,6         | 4,3         |
| Impinger | <b>67,6</b> | <b>74,0</b> | 4,7        | 0,5        | 17,4        | 10,7        |
| NIOSH    | 7,5         | 5,1         | 2,6        | 1,0        | 4,4         | 6,1         |
| Coriolis | 39,8        | 29,1        | <b>5,8</b> | <b>2,4</b> | <b>34,3</b> | <b>26,3</b> |
| Biospot  | 64,4        | 32,7        | 4,0        | 2,6        | 16,4        | 11,4        |

## 4 CONCLUSIE EN DISCUSSIE

### 4.1 Conclusie

Bij het RIVM, TNO CBRN en Erasmus MC is het effect van verschillende typen viruscollectoren geëvalueerd. In de meeste experimenten is genomisch materiaal (RNA) van gaerosoliseerde virussen verzameld om de totale opbrengst te kwantificeren, en is het aantal plaquevormende eenheden (PFU) bepaald om de hoeveelheid infectieus virus vast te stellen.

#### Belangrijkste bevindingen:

- **Efficiëntie van RNA-verzameling:** De collectoren zijn in staat om virussen (zowel infectieus als niet infectieus, gemeten met viraal RNA) uit lucht te verzamelen met een efficiëntie tussen de 60% en 97%.
- **Verzameling van infectieus virus:** Hoewel de collectoren ook infectieuze virussen kunnen opvangen, gebeurt dit voor een aantal virussen met een aanzienlijk lagere efficiëntie, afhankelijk van het type virus en de gebruikte collector.
- **Virusrobustheid en verlies van infectiviteit:**
  - *Respiratoir syncytieel virus (RSV)* bleek het minst robuust; het verzamelen van infectieus RSV was met geen enkele collector succesvol. Mogelijk komt dit door de experimentele opzet, en is dit virus gevoelig voor lage luchtvochtigheid.
  - *Parainfluenzavirus type 3 (PIV3)* en *humaan metapneumovirus (HMPV)* vertoonden eveneens een sterk verlies aan infectiviteit bij alle geteste collectoren onder omgevingsomstandigheden.
  - *Influenza A-virus (IAV)* en *SARS-CoV-2* lijken iets robuuster te zijn, maar cyclonale collectoren (zoals NIOSH en Coriolis) hebben een groter effect op verlies van infectiviteit, dan de Biospot vivas en de Impinger.
  - *Rhinovirus* toonde zich het meest robuust; er werd geen verlies van infectiviteit waargenomen tijdens bemonstering met de Coriolis. Dit komt overeen met de literatuur, waarin rhinovirus als stabiel wordt beschouwd dan IAV en SARS-CoV-2.
  - Ook bacteriofaag Phi X 174 wordt door de collectoren effectief in infectieuze conditie verzameld bij verschillende aerosolgroottes door alle collectoren.
- **Invloed van bemonsteringsduur en bemonsterd volume:** Langere bemonsteringstijden leiden tot een grotere afname van infectiviteit, vermoedelijk door accumulatieve schade aan virusdeeltjes gedurende de blootstelling. In geval van lagere virusconcentraties in de lucht kan het noodzakelijk zijn een groter volume te bemonsteren, om voldoende virussen te kunnen verzamelen, waarbij een langere bemonsteringstijd moet worden afgewogen tegen meer accumulatieve schade aan de virusdeeltjes.
- **Interpretatie van data:** De resultaten van (gepubliceerde) informatie over het aantal infectieuze virussen in lucht kunnen alleen correct worden geïnterpreteerd indien rekening is gehouden met de gebruikte meetmethode en de eigenschappen van het virus. Beleidsbeslissingen en risico-inschattingen die gebaseerd zijn op dergelijke meetgegevens dienen dan ook altijd te worden genomen met kennis van deze methodologische beperkingen.

## 4.2 Discussie

Deze studie is een eerste aanzet tot het bepalen van het effect van collectoren op het verzamelen van virussen uit lucht. Een belangrijke reden hiervoor is dat de collector invloed heeft op het verlies van infectiviteit van het virus. Door het verzamelen van lucht met daarin virusdeeltjes, verliezen de virusdeeltjes het vermogen om te infecteren. Dit betekent dat het belangrijk is om de effecten van luchtbemonstering mee te nemen bij het interpreteren van meetgegevens. Allereerst kan, afhankelijk van het virus, het meten van enkel het aantal besmettelijke virusdeeltjes (TCID<sub>50</sub>) een significante *onderschatting* zijn van de daadwerkelijke aanwezigheid en besmettelijkheid van het virus in de lucht. Indien infectieus virus in de lucht niet kan worden aangetoond, betekent dit niet dat het niet aanwezig was. Daarom is het aan te bevelen om bij het uitvoeren van luchtbemonstering ook het viraal RNA te meten en mee te nemen in de analyses, aangezien dit eenvoudiger is aan te tonen, alhoewel het geen directe informatie geeft over de hoeveelheid infectieuze virusdeeltjes.

Daarnaast valt op dat virussen enorm verschillen in robuustheid voor de diverse collectiemethoden. Het RS virus is bijvoorbeeld nagenoeg niet infectieus uit de lucht te verzamelen in de geteste experimentele proefopzet, ook niet met een zeer milde methode zoals de Biospot vivas. Mogelijk zijn aanpassingen aan de experimentele opzet nodig om het verlies van infectiviteit van deze virussen in de lucht te bestuderen. Andere virussen, zoals het Rhinovirus of bacteriofaag PHI X 174 zijn veel robuuster, en verliezen geen of weinig infectiviteit als gevolg van de collectiemethode.

Naast de collector en viruseigenschappen, is ook de bemonsteringstijd van invloed op het aantal infectieuze virussen dat kan worden verzameld. Een langere collectietijd resulteert in meer schadeaccumulatie, en dus minder infectieus virus.

Dit betekent dat resultaten van (gepubliceerde) luchtmetingen alleen goed te interpreteren zijn als rekening wordt gehouden met de gebruikte meetmethode en viruseigenschappen.

### **Virusrobuustheid en bemonsteringsmethode**

Er is een duidelijke variatie in robuustheid tussen virussen ten aanzien van de verschillende bemonsteringsmethoden. Zo bleek het respiratoir syncytieel virus (RSV) in de gehanteerde experimentele opzet vrijwel niet infectieus te verzamelen, zelfs niet met een milde methode zoals de Biospot VIVAS toepast. Dit suggereert dat aanpassingen in de experimentele opzet noodzakelijk kunnen zijn om het verlies van infectiviteit bij dergelijke virussen adequaat te bestuderen.

Zoals uit de conclusies blijkt, zijn de gebruikte collector, de virologische eigenschappen en de duur van de bemonstering bepalend voor het aantal infectieuze virusdeeltjes dat effectief kan worden verzameld. Dit zal voor elk experiment moeten worden geoptimaliseerd.

### **Implicaties voor beleid en risicoanalyse**

Een grootschaliger onderzoek waarin meerdere meetmethoden en een breder scala aan virussen wordt vergeleken, is waardevol voor het verbeteren van de interpretatie en toepasbaarheid van luchtmetingen ten behoeve van het bepalen van het risico van respiratoire virussen in de lucht.





## 5 REFERENTIES

- Adenaiye OO, Lai J, Bueno de Mesquita PJ, et al. Infectious Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in Exhaled Aerosols and Efficacy of Masks During Early Mild Infection. *Clinical Infectious Diseases : an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2022 Aug;75(1):e241-e248. DOI: 10.1093/cid/ciab797. PMID: 34519774; PMCID: PMC8522431.
- Coleman KK, Tay DJW, Tan KS, Ong SWX, Than TS, Koh MH, Chin YQ, Nasir H, Mak TM, Chu JJH, Milton DK, Chow VTK, Tambyah PA, Chen M, Tham KW. Viral Load of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in Respiratory Aerosols Emitted by Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) While Breathing, Talking, and Singing. *Clin Infect Dis*. 2022 May 30;74(10):1722-1728. doi: 10.1093/cid/ciab691. PMID: 34358292; PMCID: PMC8436389.
- Dybwad M., Gunnar Skogan & Janet Martha Blatny (2014) Comparative Testing and Evaluation of Nine Different Air Samplers: End-to-End Sampling Efficiencies as Specific Performance Measurements for Bioaerosol Applications, *Aerosol Science and Technology*, 48:3, 282-295, DOI: 10.1080/02786826.2013.871501
- Kutter J.S., Dennis de Meulder, Theo M. Bestebroer, Ard Mulders, Ron A.M. Fouchier, Sander Herfst. Comparison of three air samplers for the collection of four nebulized respiratory viruses - Collection of respiratory viruses from air. *Indoor Air*. 2021;31:1874–1885
- Lai J., Kristen K Coleman, S-H Sheldon Tai, Jennifer German, Filbert Hong, Barbara Albert, Yi Esparza, Dewansh Rastogi, Aditya Srikakulapu, Petri Kalliomäki, Maria Schanz, Alycia A Smith, Isabel Sierra Maldonado, Molly Oertel, Naja Fadul, T Louie Gold, Kathleen McPhaul, Tianzhou Ma, Benjamin J Cowling, Donald K Milton. Relative efficacy of masks and respirators as source control for viral aerosol shedding from people infected with SARS-CoV-2: a controlled human exhaled breath aerosol experimental study. *EBioMedicine* 2024 Jun:104:105157. doi: 10.1016/j.ebiom.2024.105157. Epub 2024 May 30
- Killingley, B., Alex J. Mann, Mariya Kalinova, Alison Boyers, Niluka Goonawardane, Jie Zhou, Kate Lindsell, Samanjit S. Hare, Jonathan Brown, Rebecca Frise, Emma Smith, Claire Hopkins, Nicolas Noulon, Brandon Löndt, Tom Wilkinson, Stephen Harden, Helen McShane, Mark Baillet, Anthony Gilbert, Michael Jacobs, Christine Charman, Priya Mande, Jonathan S. Nguyen-Van-Tam, Malcolm G. Semple, Robert C. Read, Neil M. Ferguson, Peter J. Openshaw, Garth Rapeport, Wendy S. Barclay, Andrew P. Catchpole and Christopher Chiu. Safety, tolerability and viral kinetics during SARS-CoV-2 human challenge in young adults. *Nature Medicine* | VOL 28 | May 2022 | 1031–1041
- Niese, Rebecca, Lucie C. Vermeulen, Maarten Schipper, Ingmar Janse, Frank Verhoeven, Anne Jetske Boer, Alvin Bartels, Erwin Duizer, Ana Maria de Roda Husman and Mariëtte Lokate. Indoor Spreading and Infectivity of SARS-CoV-2 Detected in Air and on Surfaces After Speaking or Singing of Symptomatic Individuals. *Wiley Indoor Air Volume 2025*, Article ID 4404220, 13 pages

<https://doi.org/10.1155/ina/4404220>

Pan M, Lednicky JA, Wu CY. Collection, particle sizing and detection of airborne viruses. *J Appl Microbiol.* 2019 Dec;127(6):1596-1611. doi: 10.1111/jam.14278. Epub 2019 Jun 26. PMID: 30974505; PMCID: PMC7167052.

Raynor PC, Adesina A, Aboubakr HA, Yang M, Torremorell M, Goyal SM. Comparison of samplers collecting airborne influenza viruses: 1. Primarily impingers and cyclones. *PLoS One.* 2021 Jan 28;16(1):e0244977. doi: 10.1371/journal.pone.0244977. PMID: 33507951; PMCID: PMC7842955.

Stadnytskyi V, Anfinrud P, Bax A. Breathing, speaking, coughing or sneezing: What drives transmission of SARS-CoV-2?. *J Intern Med* 2021; <https://doi.org/10.1111/joim.13326>

Silva PG, Branco PTBS, Soares RRG, Mesquita JR, Sousa SIV. SARS-CoV-2 air sampling: A systematic review on the methodologies for detection and infectivity. *Indoor air.* 2022 Aug;32(8):e13083. DOI: 10.1111/ina.13083. PMID: 36040285; PMCID: PMC9538005.

Stadnytskyi V, Anfinrud P, Bax A. Breathing, speaking, coughing or sneezing: What drives transmission of SARS-CoV-2?. *J Intern Med* 2021; <https://doi.org/10.1111/joim.13326>

Verreault D, Sylvain Moineau and Caroline Duchaine. Methods for Sampling of Airborne Viruses *MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS*, Sept. 2008, p. 413–444

Wang, C.C., Kimberly A. Prather, Josué Sznitman, Jose L. Jimenez, Seema S. Lakdawala, Zeynep Tufekci, Linsey C. Marr, Airborne transmission of respiratory viruses. *Science* 373, 981 (2021) 27 August 2021

WHO: [Leading health agencies outline updated terminology for pathogens that transmit through the air](#)



