



# RAPPORTAGE

## 2024

Programmalijs III – Literatuurstudie:  
Overzicht van methoden om blootstelling  
aan in de lucht verspreide biologische  
deeltjes te evalueren in gesimuleerde  
realistische omgevingen  
Projectnummer 060.51323

**DATUM**

9 oktober 2024

**AUTEURS**

Inge M. Wouters, Anne E. Rittscher-Fogg, Lidwien A. M. Smit, Institute  
for Risk Assessment Sciences (IRAS), Universiteit Utrecht, Utrecht,  
Nederland



# MANAGEMENT SAMENVATTING

## **Infectierisico's in de lucht: wat kunnen we leren van bestaande experimenten?**

De COVID-19-pandemie heeft het belang van goede luchtkwaliteit in binnenruimtes, zoals woningen, scholen en openbare gebouwen nadrukkelijk onder de aandacht gebracht. Sindsdien is er veel onderzoek gedaan naar de aanwezigheid van virussen in de lucht en naar de effectiviteit van ventilatie en luchtreiniging bij het beperken van besmettingsrisico's.

In dit literatuuroverzicht is onderzocht welke experimentele methoden er zijn om blootstelling aan biologische deeltjes in de lucht te onderzoeken. Er werden 91 studies gevonden en in deze rapportage is samengevat welke meetmethoden zijn toegepast, wat hun sterke en zwakke punten zijn, en welke praktische uitdagingen er spelen bij het gebruik ervan in nagebootste realistische situaties. In veel studies werd gewerkt met zogeheten 'proxies' oftewel plaatsvervangers: onschadelijke bacteriën, virussen of deeltjes die zich op een vergelijkbare manier door de lucht verspreiden als echte ziekteverwekkers.

Geconcludeerd kan worden dat er geen standaardmethode bestaat om blootstelling aan in de lucht verspreide biologische deeltjes te evalueren in gesimuleerde omgevingen. Er is geen methode die in alle situaties toepasbaar is. De keuze voor een geschikte aanpak hangt onder meer af van het doel van het onderzoek, de beschikbaarheid van laboratoriumfaciliteiten en apparatuur, en afwegingen rond veiligheid en haalbaarheid. Dit literatuuroverzicht biedt handvatten voor toekomstig onderzoek naar het beperken van blootstelling aan ziekteverwekkers via de lucht.

# INHOUD

<b>Management samenvatting</b>	<b>3</b>
<b>Samenvatting</b>	<b>6</b>
<b>1      <b>Introductie</b></b>	<b>7</b>
<b>2      <b>Methoden</b></b>	<b>8</b>
2.1    Zoekstrategie	8
2.2    Inclusie en exclusie criteria	8
2.3    Data extractie	9
2.4    Data synthese	9
<b>3      <b>Resultaten</b></b>	<b>10</b>
3.1    Bacteriën	10
3.2    Bacteriofagen	11
3.2.1   MS2	11
3.2.2   Phi6	14
3.2.3   PhiX174	15
3.3    Fysieke proxies	16
3.4    Virussen	17
<b>4      <b>Discussie</b></b>	<b>18</b>
Conclusie	22
<b>5      <b>Referenties</b></b>	<b>23</b>
<b>Bijlage 1 Lijst van alle in het review geïnccludeerde studies</b>	<b>26</b>



# SAMENVATTING

## Achtergrond

De COVID-19-pandemie heeft het belang van luchtkwaliteit binnenshuis, zowel thuis als in publieke ruimtes, duidelijk gemaakt. Veel studies hebben geprobeerd om virusconcentraties in de binnenlucht te onderzoeken, met wisselend succes. Onderzoek naar de effectiviteit van ventilatie en mobiele luchtreiniging bij het verkleinen van het risico op luchtweginfecties is nog steeds gaande. In dit literatuuroverzicht vatten we experimentele benaderingen samen en vergelijken we deze. Daarbij richten we ons op het gebruik van biologische proxies in de lucht—zowel generieke bioaërosolen als specifieke pathogene biologische agentia—om mogelijke best practices voor diverse gesimuleerde realistische situaties in kaart te brengen.

## Methoden

We hebben een systematische literatuursearch uitgevoerd in drie databanken: PubMed, Scopus en Web of Science. Titels en samenvattingen werden gescreend, en de artikelen die voldeden aan onze inclusiecriteria en binnen de reikwijdte van het project vielen, werden geselecteerd voor volledige tekstanalyse en opname in de uitgebreide data-extractie. Een tweede auteur beoordeelde eveneens de lijst met titels en abstracts, en eventuele verschillen in selectie werden besproken. We hebben gangbare methoden samengevat, de voordelen en beperkingen ervan vergeleken, en informatie verzameld over uitdagingen bij het toepassen van deze methoden in nagebootste realistische omgevingen.

## Resultaten

De literatuursearch leverde 91 publicaties op. Van deze artikelen richtten 39 (42,3%) zich op bacteriën, 33 (35,9%) gebruikten bacteriofagen, 11 (11,9%) gebruikten alleen een fysieke proxy, en 12 (13,0%) onderzochten menselijke of dierlijke virussen. Sommige studies gebruikten meerdere proxies. We geven een overzicht van benaderingen met uiteenlopende voordelen, uitdagingen en beperkingen, zoals toegepast in diverse onderzoekssituaties.

## Conclusie

Geconcludeerd kan worden dat er geen standaardmethode bestaat om blootstelling aan in de lucht verspreide biologische deeltjes in realistische situaties na te bootsen. De optimale experimentele aanpak om menselijke emissies via bioaërosolen na te bootsen hangt af van meerdere factoren, waaronder het doel van de studie, de beschikbaarheid van biosafety-laboratoriumfaciliteiten en apparatuur, en de mate van aanvaardbaarheid en veiligheid.

# 1 INTRODUCTIE

De gebouwen waarin we wonen en werken kunnen een aanzienlijke invloed hebben op onze gezondheid. De recente COVID-19-pandemie leidde tot een groeiende belangstelling voor de kwaliteit van binnenlucht, wat een golf aan nieuw onderzoek en beleid op gang bracht om deze te begrijpen en te reguleren (Lewis, 2023). Hoewel uit empirisch bekend is dat ventilatie en luchtreiniging de hoeveelheid in de lucht zwevende deeltjes en daarmee ook ziekteverwekkers kunnen verminderen, loopt de ontwikkeling van wetgeving en richtlijnen wereldwijd sterk uiteen, wat in de praktijk tot verwarring kan leiden over verantwoordelijkheden en praktische uitvoering (Lewis, 2023; Morawska et al., 2024). Onderzoek naar de effectiviteit van ventilatie en mobiele luchtreinigers bij het verminderen van het risico op luchtweginfecties staat nog in de kinderschoenen. Een belangrijk hiaat in dit onderzoek is het opnemen van blootstelling aan biologische deeltjes in de lucht in experimentele onderzoeksopzetten.

In experimentele settings moet de evaluatie van blootstelling aan biologische deeltjes in de lucht zo nauwkeurig mogelijk de realiteit van de menselijke bron benaderen, om de validiteit en relevantie van de resultaten te waarborgen. Dit hangt van meerdere kritieke factoren af. Ten eerste produceren menselijke activiteiten zoals niezen, hoesten en uitademen aerosolen met een breed scala aan deeltjesgroottes, die sterk variëren afhankelijk van iemands gezondheidstoestand en de aard van de activiteit (Fennelly, 2020). Een nauwkeurige simulatie van deze omstandigheden vereist instrumenten die een vergelijkbare deeltjesgrootteverdeling kunnen genereren. Ten tweede is het behoud van de levensvatbaarheid van ziekteverwekkers cruciaal, aangezien menselijk speeksel diverse eiwitten en koolhydraten bevat die de overlevingstijd van ziekteverwekkers buiten het lichaam beïnvloeden (Humphrey et al., 2023). Deze complexiteit moet in de experimentele omstandigheden worden nagebootst, zodat deze goed aansluiten bij de eigenschappen van natuurlijke ademhalingsdeeltjes. Ten derde dienen de luchtstromen en ademhalingspatronen die worden gebruikt voor het genereren en bemonsteren van aërosolen, overeen te komen met de menselijke ademhaling tijdens verschillende activiteiten (Fennelly, 2020). Apparatuur in dit soort studies moet daarom instelbare luchtstromen hebben, om situaties van rustademhaling tot zware inspanning na te bootsen. Tot slot speelt menselijk gedrag een grote rol in de blootstelling aan pathogenen in de lucht. Factoren zoals beweging, spraak en interacties met de omgeving moeten worden meegenomen in de onderzoeksopzet. Dit kan betekenen dat typische binnenactiviteiten en gedragingen worden gesimuleerd om realistische blootstellingsscenario's te creëren (Bagheri et al., 2023; Zhao, Feng en Ma, 2022).

Ondanks de wens naar realisme, zijn er soms concessies nodig omwille van veiligheid en uitvoerbaarheid. Zo is het gebruik van bepaalde respiratoire ziekteverwekkers waarvoor een Biosafety Level 2 (BSL-2) laboratorium vereist is, vaak niet praktisch bij studies met menselijke deelnemers vanwege veiligheids- en regelgevingseisen. Het kiezen van veilige plaatsverangers die het gedrag van gevaarlijkere pathogenen goed nabootsen, is daarom essentieel. In deze review gebruiken we de term biologische "proxy" voor een organisme of stof die in een experiment wordt ingezet in plaats van een (mogelijk risicovolle) blootstelling, uit veiligheidsoverwegingen of praktische redenen. Denk bijvoorbeeld aan het

gebruik van een bacteriofaag in plaats van een menselijk respiratoir virus om de effectiviteit van luchtreinigers te meten.

Dit review richt zich op methoden die het vinden van een balans beogen tussen realistische simulatie enerzijds en veiligheid en haalbaarheid anderzijds. Door zorgvuldig rekening te houden met deeltjesgrootteverdeling, levensvatbaarheid van pathogenen, luchtstromen, menselijk gedrag en de mate van acceptatie van experimentele methoden, kunnen onderzoekers studies ontwerpen die waardevolle inzichten opleveren in de effectiviteit van luchtreinigingsmaatregelen in binnenruimtes. Deze literatuurstudie beoogt handvatten te bieden voor de ontwikkeling van dergelijk onderzoek, met oog voor de complexiteit van blootstelling aan biologische deeltjes in de lucht van menselijke oorsprong.

In deze literatuurstudie vatten we studies samen waarin een biologische proxy werd ingezet in experimentele settings in plaats van gebruik te maken van algemene bioaërosolen of specifieke humaan pathogene virussen, bacteriën of schimmels. De studie focust met name op de gebruikte methoden. Daarmee willen we mogelijke best practices identificeren voor toekomstig onderzoek in gesimuleerde realistische scenario's.

## 2 METHODEN

### 2.1 Zoekstrategie

Er werd een systematische literatuuranalyse uitgevoerd in drie databanken: PubMed, Scopus en Web of Science. De volgende zoektermen werden gebruikt: *artificial bioaerosols*, *artificial viral aerosol*, *artificial bacterial aerosol*, *surrogate bacterial aerosol* en *surrogate viral aerosol*. De resultaten van deze zoekacties werden geëxporteerd en ingevoerd in Excelsheets (Microsoft Corporation, 2018, Redmond, WA, USA). Titels en samenvattingen werden gescreend; de artikelen die voldeden aan onze inclusiecriteria (zie 2.2) en binnen de reikwijdte van het project vielen, werden geselecteerd voor volledige tekstanalyse en mogelijke inclusie in de volledige data-extractiefase. De lijst met titels en samenvattingen werd ook beoordeeld door een tweede auteur, en eventuele verschillen werden besproken.

### 2.2 Inclusie en exclusie criteria

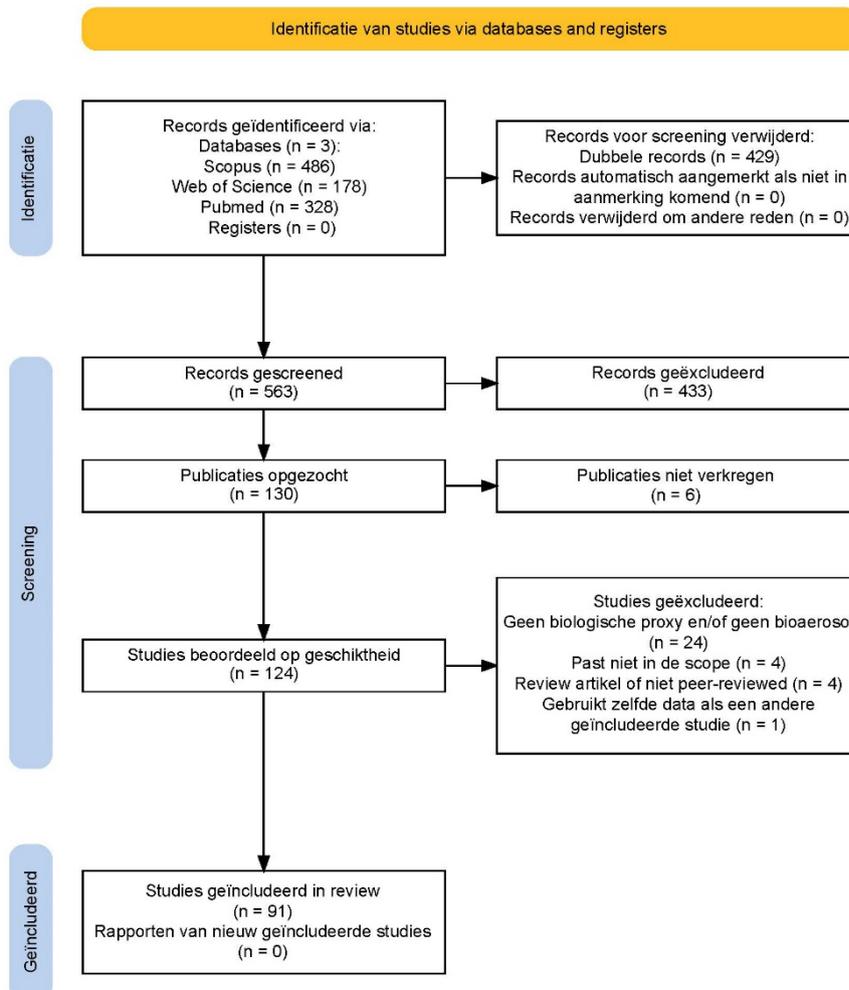
Opgenomen artikelen moesten in het Engels gepubliceerd zijn, originele data rapporteren en beschrijven hoe een proxy voor een biologische blootstelling werd geaërosoliseerd en gemeten. We kozen ervoor om de zoekopdracht breed te houden, om zo methoden te kunnen identificeren die in verschillende contexten en tijdsperioden zijn gebruikt. Daarom zijn er geen verdere beperkingen aan publicatiedata opgelegd. Alle artikelen gepubliceerd voor de datum van de zoekopdracht, 3 augustus 2023, werden beschouwd.

## 2.3 Data extractie

Voor elk artikel werden de volgende gegevens verzameld: titel, auteur, jaar van publicatie, regio, studiedoel, studieomgeving, uitkomst, het type nagebootste pathofoon (bacterie, virus, schimmel of algemene deeltjes), het specifiek nagebootste pathofoon, welke proxy werd gebruikt in het experiment, de deeltjesgrootte, of de studie verschillende methoden direct met elkaar vergeleek, controlemethoden voor bemonstering, gebruikte buffervloeistof, of levensvatbaarheid werd gemeten (en hoe), gebruikte aërosolisatiemethode, gebruikte meetmethode, methodologische beperkingen zoals genoemd in het artikel, en ten slotte de benoemde voordelen van de methode.

## 2.4 Data synthese

Het PRISMA-stroomdiagram (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses; Figuur 1) geeft weer hoeveel artikelen uit verschillende bronnen werden gevonden en om welke redenen artikelen zijn uitgesloten. Het figuur is gemaakt met behulp van een Shiny-app die werd ontwikkeld door Haddaway et al. in 2022.



Figuur 1. PRISMA stroomdiagram.

## 3 RESULTATEN

De literatuuranalyse naar biologische proxies leverde 91 onderzoeksartikelen op (zie bijlage 1). Van deze artikelen rapporteerden er 40 (45,0%) metingen aan één of meerdere bacteriesoorten, gebruikten er 34 (37,4%) een bacteriofaag, 12 (13,2%) maten alleen een fysieke proxy, en 10 (10,9%) onderzochten een humaan of dierlijk virus. De totalen tellen op tot meer dan 100%, omdat sommige artikelen meerdere proxies gebruikten en daardoor in meerdere categorieën werden meegeteld.

### 3.1 Bacteriën

Hoewel de groep studies die een bacteriële proxy gebruikte de grootste is, was het merendeel van deze artikelen (25 van de 40) erop gericht om *Bacillus anthracis* na te bootsen een potentieel bioterrorisme-agens. Daarmee is hun waarde als algemene proxy beperkt. De specifieke bacteriën zijn onder andere *Bacillus globigii*, *Bacillus atropheus*, *Bacillus subtilis var. niger*, *Bacillus thuringiensis* en de *Bacillus anthracis* stam Sterne.

De op één na meest gebruikte bacteriesoort was *Escherichia coli* (*E. coli*, acht artikelen). Deze soort is beter geschikt als algemene proxy voor bacteriën en/of microbiële blootstelling. In totaal werden vijftien andere bacteriesoorten gebruikt in de verzamelde artikelen, en één studie onderzocht natuurlijk voorkomende bacteriën in buitenlucht.

*E. coli* is een gram-negatieve bacterie die veilig gehanteerd kan worden in een laboratorium met bioveiligheidsniveau 1 (BSL-1) wanneer met een niet-pathogene stam gewerkt wordt, wat haar geschikt maakt voor gebruik in de meeste laboratoria. Ze is relatief makkelijk te kweken en lijkt aërosolisatie goed te verdragen. In de studies met *E. coli* die in deze review zijn opgenomen, gebruikte de helft een 'collision nebulizer' om de bacterie te vernevelen (4 van 8). Eén artikel gebruikte een medicatievernevelaar (Pari LC Plus), twee gebruikten een Sparging Liquid Aerosol Generator (SLAG), en in één studie werd *E. coli* gemeten zoals die van nature door menselijke deelnemers werd uitgeademd. Voor het meten van de geaërosoliseerde *E. coli* gebruikten vier studies een impactormethode, drie een impinger of cyclone-methode, en één studie gebruikte beeldvorming van een speciaal ontwikkeld filter.

In hun studie uit 2011 onderzochten Thomas et al. het effect van verneveling met een collision nebulizer op de levensvatbaarheid van *E. coli*-cellen. Ze ontdekten dat na 10 minuten verneveling de cellen aanzienlijke schade aan de celwand hadden opgelopen. De auteurs vermoeden dat dit komt door de recirculatie van de vernevelvloeistof, wat frictie op de cellen uitoefent (Thomas et al., 2011). Dit suggereert dat een mildere methode van aërosolisatie wenselijk is als een studie gericht is op het meten van de levensvatbaarheid van geaërosoliseerde *E. coli*-cellen.

Een van de zeventien andere onderzochte bacteriën in deze categorie was *Staphylococcus epidermidis*. In de studie van Thompson et al. (2011) werd *S. epidermidis* kunstmatig geaërosoliseerd als een veilige proxy voor *Staphylococcus aureus*. De studie toonde aan dat *S. epidermidis*, en waarschijnlijk ook *S.*

*aureus*, levensvatbaar kan blijven in aërosolen gedurende vijf dagen of langer. Deze eigenschap – het behoud van levensvatbaarheid tijdens aërosolisatie en meting – gecombineerd met de veiligheid, maakt deze bacterie een sterke kandidaat als surrogaat voor onderzoek met risicovolle bacteriën. Hoewel deze soort slechts in één van de geïnccludeerde studies werd gebruikt, verdient ze verdere beschouwing vanwege haar potentie als surrogaat voor pathogene bacteriën én als proxy voor menselijke aanwezigheid, aangezien *S. epidermidis* van nature voorkomt op de menselijke huid als onschadelijk onderdeel van ons microbioom.

## 3.2 Bacteriofagen

De op één na grootste categorie werd gevormd door de bacteriofagen (of fagen) – virussen die bacteriën infecteren – 37,4% van de geïnccludeerde artikelen beschreven experimenten waarin één of meer fagen werden gebruikt (zie Tabel 1). Van deze 34 artikelen gebruikte 55,9% (19 artikelen) de MS2-bacteriofaag, 29,4% (10 artikelen) de Phi6-bacteriofaag, 14,7% (5 artikelen) PhiX174, en 17,6% (6 artikelen) gebruikte uitsluitend andere fagen (PR772, f2, SM702, T-1, Phi11, PP1777, PP1450, PP1792, PP1797). Deze fagen verschillen sterk in grootte, vorm en gedrag, waardoor het theoretisch mogelijk is om een faag te selecteren die nauw aansluit bij het virus dat men wil bestuderen. De belangrijkste fagen die in deze review zijn opgenomen – MS2, Phi6 en PhiX174 – worden beschouwd als veilig voor mens en dier. Deze fagen zijn bovendien relatief eenvoudig te kweken op hun gastheercellen en vereisen geen gespecialiseerde apparatuur voor groei en hantering, waardoor ze in de meeste laboratoria omgevingen bruikbaar zijn.

Een belangrijk voordeel van het gebruik van een bacteriofaag als proxy voor een pathogeen virus is de mogelijkheid om de levensvatbaarheid van de aërosoldeeltjes te meten. Dit gebeurt doorgaans met een plaque assay, waarbij fagen worden verdund en gekweekt op een agarplaat die is bedekt met hun gastheerbacterie. Vervolgens ontstaan plaques, elk een resultaat van een faag die een bacterie heeft geïnfecteerd en vernietigd. De resultaten worden uitgedrukt in Plaque Forming Units (PFU). Fagen kunnen ook gekwantificeerd worden met behulp van qPCR, wat een totaalbeeld geeft van de verzamelde fagen, ongeacht hun levensvatbaarheid. Door resultaten van qPCR en plaque assays te vergelijken, kan informatie worden verkregen over de mate levensvatbaarheid en dus de mate van stress die de bemonsteringsopstelling op de bacteriofaag uitoefent.

### 3.2.1 MS2

De meest gebruikte bacteriofaag in de studies in deze review was MS2, een RNA-virus zonder omhulling dat *E. coli* infecteert. Meerdere studies geven aan dat MS2 praktisch hanteerbaar is. Tung-Thompson et al. merkten op dat MS2 "eenvoudig in het laboratorium tot hoge titers kan worden gekweekt", wat ook door andere onderzoekers werd bevestigd.

MS2 lijkt goed bestand tegen de mechanische belasting van bemonstering. Turgeon et al. (2014) vonden dat de hoeveelheid levensvatbare MS2 die werd teruggevonden met een plaque assay vergelijkbaar was met de hoeveelheid die via qPCR werd gedetecteerd, wat aangeeft dat de levensvatbaarheid van MS2

niet werd aangetast door de bemonsteringsopstelling. Deze resultaten werden bereikt zonder gebruik van een organische vernevelingsbuffer om de bacteriofaag te stabiliseren. Andere studies hebben echter aangetoond dat de terugwinning van infectieuze MS2 wel degelijk beïnvloed wordt door de keuze van vernevelingsbuffer (Zuo et al., 2014).

Tabel 1. Karakteristieken van de belangrijkste bacteriofagen die als proxy werden gebruikt voor virale blootstelling

Bacteriofaag	Belangrijke karakteristieken	Gastheer bacterie	Getest als surrogaat voor	Aanbevolen methoden	Referenties
<b>MS2</b>	Enkelstrengs RNA virus van de <i>Leviviridae</i> familie, zonder enveloppe, (27-34 nm)	<i>Escherichia coli</i>	SARS-COV-2, Human Norovirus	Gebruik van PC (i.p.v. PTFE) filters geeft hogere opbrengst van infectieuze virussen	Turgeon et al 2014, Grendon et al 2010, Tung-Thompson et al 2015, Appert et al 2012, Raynor et al 2021
<b>Phi6</b>	Dubbelstrengs RNA virus van de <i>Cystoviridae</i> familie, met enveloppe, 80-100 nm	<i>Pseudomonas syringae</i>	Influenza A, SARS-COV-2	Gebruik van een organisch vernevelingsmiddel verhoogde de terugwinningsperiode van levensvatbare virussen, wat wellicht niet verenigbaar is met alle vernevelingsmiddelen. Gebruik van PC (i.p.v. PTEE) filters geeft hogere opbrengst van infectieuze virussen	Turgeon et al 2014, Oksanen et al 2022, Sanmark et al 2023, Bailey et al 2022, Humphrey et al. 2023
<b>PhiX174</b>	enkelstrengs DNA phage van de <i>Microviridae</i> familie, zonder enveloppe, 25nm	<i>Escherichia coli</i>	Newcastle Virus Disease, ssDNA viruses	SKC Sampler resulteerde in betere infectieuze virus opbrengst dan de NIOSH sampler methode	Turgeon et al 2014, Vyskocil et al 2020, Turgeon et al 2016

Gendron et al. (2010) concludeerden bovendien dat de hoeveelheid infectieuze MS2 die werd teruggewonnen niet werd beïnvloed door het type filter in het meetapparaat, en dat MS2 nog steeds levensvatbaar was na 12 uur bemonstering – in tegenstelling tot Phi6, die na slechts vier uur niet meer kweekbaar was. Daarnaast is aangetoond dat MS2, naast bestendigheid tegen blootstellingsduur, ook relatief ongevoelig is voor variaties in relatieve vochtigheid en temperatuur (Turgeon et al., 2016; Verreault et al., 2015). Hoewel deze robuustheid voordelen biedt bij het opzetten van experimenten, betekent dit ook dat MS2 mogelijk geen geschikte vervanger is voor humane pathogenen die juist wél gevoelig zijn voor omgevingsfactoren. Zo vergeleek Appert et al. (2012) MS2 met een humaan adenovirus onder verschillende bemonsteringsomstandigheden, en ontdekten dat MS2 veel robuuster was dan het adenovirus. Opmerkelijk is dat deze studie ook aantoonde dat de relatieve hoeveelheid teruggevonden MS2 werd beïnvloed door de luchtvochtigheid – hoger bij hogere luchtvochtigheid.

Twijfels over de geschiktheid van MS2 als surrogaat voor humane virussen worden verder ondersteund door het werk van Zuo et al. (2013). In hun studie vergeleken zij MS2 met het aviaire influenzavirus H9N9, het varkensgriepvirus H3N2, en het varken virus transmissibele gastro-enteritisvirus. Zij vonden dat MS2 andere herstel- en overlevingspatronen vertoonde dan deze dierlijke virussen, en concludeerden dat MS2 geen geschikte algemene surrogaat is voor dierlijke of humane virussen (Zuo et al., 2013).

Er is ook bewijs dat MS2 ongeschikt is voor studies naar de effectiviteit van antimicrobiële middelen, omdat MS2 resistentie vertoonde tegen meerdere antimicrobiële behandelingen, waaronder UV-straling met kiemdodende werking (Rengasamy et al., 2010; Verreault et al., 2015). Deze bevindingen benadrukken het belang van voorzichtigheid bij het vertalen van resultaten uit surrogaatstudies naar humane virussen.

Doordat MS2 goed bestand is tegen bemonsteringsstress, worden er weinig restricties gesteld aan de keuze van instrumentatie. Voor het aërosoliseren van MS2 werd in 14 van de 19 studies (68,4%) gebruikgemaakt van een 'collision nebulizer'. Andere gebruikte methoden waren ultrasone verneveling, een airbrush, medische vernevelaars, een vaste stof-aërosolgenerator en een speciaal ontworpen opstelling die een braakincident moest nabootsen. Uit de verzamelde studies blijkt dat zowel 'collision nebulizers' als ultrasone vernevelaars geen significante invloed hebben op de levensvatbaarheid van MS2 (Woo et al., 2010; Zuo et al., 2014). Voor de airbrush is onvoldoende informatie beschikbaar om een vergelijkbare conclusie te trekken.

In een studie uit 2014 testte Zuo et al. de invloed van verschillende vernevelingsbuffers op de terugwinning van levensvatbaar MS2. Zij ontdekten dat menselijk speeksel alleen aanzienlijk minder bescherming bood dan een mengsel van speeksel met celweekmedium – een combinatie die vaak voorkomt in studies waarin MS2 wordt verneveld. Het gebruik van (kunstmatig) speeksel als enige buffer zou dus een deel van MS2's bestendigheid kunnen wegnemen en de resultaten daarmee beter vergelijkbaar maken met die van menselijke virussen.

Voor het meten van MS2 in de lucht werd het vaakst een impinger gebruikt (11 artikelen). Raynor et al. voerden in 2021 een uitgebreide studie uit waarin ze de bemonsteringsefficiëntie vergeleken van populaire bioaërosolmeettechnieken, met gebruik van MS2, varkensinfluenza en vogelgriep als modelorganismen. Ze concludeerden dat de SpinCon II – een type impinger dat cyclonische bewegingen in combinatie met impingement gebruikt om de bemonstering te verbeteren – de hoogste relatieve terugwinning van MS2 behaalde, hoewel alle geteste methoden, inclusief impactors en andere impingers, goed presteerden. Toch is het belangrijk op te merken dat meetinstrumenten met een lagere flow rate, zoals de Andersen-impactor (28,3 L/min) en de AGI-30 impinger (12,5 L/min), een nauwkeurigere schatting gaven van de concentratie van het virus in de lucht. Raynor et al. stelden dat deze lagere flow rates mogelijk minder RNA-schade veroorzaken aan het bemonsterde virus en daardoor betrouwbaardere PCR-resultaten opleveren

### 3.2.2 Phi6

Phi6 is een omhuld RNA-bacteriofaag die de bacterie *Pseudomonas syringae* infecteert. Door zijn vergelijkbare grootte, oppervlaktestructuur en vermogen om infectieus te blijven, is Phi6 een populaire keuze geworden als veilig surrogaat voor SARS-CoV-2 in experimenten (Oksanen et al., 2022). Turgeon et al. (2014) voerden een studie uit waarin vijf veelgebruikte bacteriofagen samen met twee pathogene virussen (het Newcastle disease virus van pluimvee en Influenza A virus H1N1) werden getest met verschillende aërosol monsternamemethoden (vloeibare en droge cycloonsamplers). De studie concludeerde dat er geen significante verschillen waren in de hoeveelheid kweekbare Phi6 die werd opgevangen door de verschillende bemonsteringsmethoden, en dat de verhouding tussen kweekbare Phi6 en met qPCR gedetecteerde Phi6 vergelijkbaar was met die van het influenzavirus. Dit wijst erop dat Phi6 en influenzavirussen vergelijkbaar reageren op bemonsteringsstress, en Phi6 dus als geschikte proxy kan dienen voor influenzavirussen.

Gendron et al. (2010) toonden aan dat Phi6 zeer gevoelig is voor omgevingscondities. Verreault et al. vergeleken Phi6 met drie andere fagen (MS2, PhiX174 en PR772) en konden bij 30°C geen infectieuze Phi6 terugvinden, zelfs niet bij korte blootstellingstijd. Ook bij 18°C en 30°C werd geen infectieuze Phi6 aangetroffen bij langere blootstellingstijd. Blootstelling aan hoge relatieve vochtigheid veroorzaakte eveneens snel verlies van infectiviteit (Verreault et al., 2015). Ter vergelijking: MS2 en PhiX174 waren ook gevoelig voor temperatuur, maar werden nog wel in significante mate teruggevonden onder alle testcondities (Verreault et al., 2015). Een studie van Turgeon et al. (2014) concludeerde echter dat het toevoegen van een organische oplossing voor verneveling de terugwinning van infectieuze Phi6 significant verhoogde. Dit is relevant, omdat Phi6 bekend staat om zijn snelle verlies van levensvatbaarheid bij blootstelling aan lucht, wat zijn bruikbaarheid als proxy voor infectieuze aërosoldynamiek beperkt (Humphrey et al., 2023; Turgeon et al., 2014; Verreault et al., 2015).

Hoewel Phi6 algemeen als veilig wordt beschouwd voor mens, dier en milieu, is er nog steeds een risico op gezondheidseffecten in experimentele settings door endotoxinen die vrijkomen bij het lysisen van de gastheercel (Sanmark et al., 2023). Sanmark et al. (2023) voerden aanvullende veiligheidstests uit en vonden geen symptomen van irritatie of ontsteking bij mensen die werden blootgesteld aan aërosolvormige Phi6, wat de geschiktheid vergroot voor gebruik in studies met menselijke deelnemers. Echter alleen wanneer er persoonlijke beschermingsmiddelen toegepast worden, waaronder FFP2 en FFP3 mondkmaskers, veiligheidsbrillen etc.

Net als bij de MS2-bacteriofaag was de Collision-vernevelaar de populairste aërosoliseringsmethode (60%, 6 van 10 studies). Twee studies gebruikten een ultrasone vernevelaar, één een airbrush, en één studie mat aërosolen afkomstig van een gesimuleerde tandheelkundige procedure op een dummy. Om Phi6 te meten, werden de volgende methoden gebruikt: drie studies gebruikten een impinger, drie een filter- en pompsysteem, twee gebruikten alleen passieve verzameling (passieve platen of oppervlakte-swabs), en één studie gebruikte een impactor (Andersen) en een cyclone sampler (NIOSH).

Gendron et al. (2010) onderzochten ook de invloed van bemonsteringsstress bij het gebruik van filters met pomp, en toonden aan dat het type filter wat gebruikt wordt voor monsternamen uitmaakt. Gebruik van polycarbonaat (PC) filters leidde tot viermaal hogere terugwinning van levensvatbare Phi6 dan het gebruik van PTFE-filters. Een andere studie vond geen significant verschil in relatieve terugwinning tussen de SKC biosampler (impinger) en de NIOSH cycloonsampler bij 10L/min of 3.5L/min (Turgeon et al., 2014).

### 3.2.3 PhiX174

Net als MS2 is PhiX174 een niet-omhulde faag die *E. coli* infecteert, maar in tegenstelling tot MS2 is het een enkelstrengs DNA-bacteriofaag. PhiX174 lijkt qua weerstand tegen bemonsteringsstress tussen Phi6 en MS2 in te vallen. De infectiviteit van PhiX174 wordt sterk beïnvloed door de tijd dat het deeltje in de lucht blijft zweven, vooral bij lage relatieve vochtigheid, resulterend in verminderde infectiviteit. Het gebruik van een organisch vernevelingsmiddel bracht geen verbetering in infectiviteit (Turgeon et al., 2014; Turgeon et al., 2016).

Turgeon et al. (2014) testten vijf bacteriofagen samen met twee pathogene virussen (Newcastle disease virus (treft met name pluimvee en andere vogels) en humaan Influenza A virus H1N1) met verschillende aërosolmonsters en concludeerden dat er geen significante verschillen waren in relatieve terugwinning van PhiX174 of MS2 vergeleken met het Newcastle disease virus. Dit wijst op het potentieel van PhiX174 als proxy voor dit belangrijke virus bij vogels.

Van de zes artikelen in deze review die PhiX174 gebruikten, gebruikten drie een 6-Jet Collision vernevelaar. De overige studies gebruikten respectievelijk een medische vernevelaar (Pari-Prep), een vaste stof-aërosolgenerator, en een tandheeskundige dummy met gesimuleerde aërosolprocedures. Voor de meting gebruikten twee studies een Andersen-impactor, twee een SKC biosampler (impinger), twee een AGI-30 impinger en één een BioSpot-VIVAS (gebaseerd op condensatiegroei). Sommige studies gebruikten meerdere methoden. Daarnaast gebruikten twee studies petrischalen voor plaquetellingen naast actieve bemonstering. Gebruik van de SKC biosampler leidde tot 100-voudig hogere terugwinning van infectieuze PhiX174 vergeleken met de NIOSH sampler (Turgeon et al., 2014). Een Andersen-impactor werd succesvol gebruikt bij metingen van PhiX174 tijdens gesimuleerde tandheeskundige procedures (Beltran et al., 2023). In deze studie werd PhiX174 zowel actief (met de impactor) als passief (met agar sedimentatie platen) gemeten, en men concludeerde dat beide methoden op een afstands- en tijdsafhankelijke manier infectieuze deeltjes konden opvangen (Beltran et al., 2023).

### 3.3 Fysieke proxies

Van de geïncludeerde artikelen gebruikten er twaalf uitsluitend een fysieke, inerte proxy in hun experiment. Daarnaast namen vijf studies een fysieke proxy naast de biologische proxy op, om extra informatie te verkrijgen — bijvoorbeeld over bemonsteringsefficiëntie, of de hoeveelheid dragerdeeltjes. De methoden die toegepast werden in de studies met “alleen fysieke proxy” waren divers. De artikelen in deze groep maten enkel een niet-biologische parameter, zoals deeltjesaantal, of gebruikten beeldvorming om het effect van de experimentele opstelling te beoordelen. Grofweg vallen deze studies uiteen in drie groepen: acht artikelen gebruikten niet-biologische deeltjes (aërosollen van zout oplossing, kunstmatig slijm, een oliebasis, micro-/nanodeeltjes of alleen buffer), drie gebruikten uitsluitend fluorescerende markers (GlowGerm™ of Fluoresbrite Carboxy-microsferen), en één artikel analyseerde alleen omgevingsparameters zoals totale vluchtige organische stoffen (TVOC's), CO<sub>2</sub>-concentratie, PM<sub>2.5</sub> en PM<sub>10</sub> en relatieve vochtigheid (RV).

Een studie van Coyle et al. uit 2021 laat goed zien wat voor informatie met een fysieke proxy kan worden verzameld — in dit geval een kaliumzoutoplossing. De oplossing werd aërosolvormig gemaakt bij een gesimuleerde ademfrequentie in een vergaderruimte-achtige setting met “ontvanger”-ademsimulatoren. Vervolgens werden verschillende combinaties van interventies getest, waaronder variatie in ventilatie (hoeveelheid luchtwisselingen), luchtreinigers met HEPA-filters in verschillende configuraties in de ruimte en simulatie van het dragen van een mondmasker door de dummy-deelnemers. Het maskeren van zowel de bron als de ontvangers was de meest consistente effectieve manier om (blootstelling aan) het aantal deeltjes in de lucht te verminderen (Coyle et al., 2021). Ook bleek de locatie van luchtreinigers met HEPA-filters in een ruimte invloed te hebben op hun luchtreinigende werking. Beperkingen van deze studie waren dat het vernevelde aërosol niet het brede spectrum aan deeltjesgroottes vertegenwoordigde dat mensen uitademen, en evenmin de invloed van warmte en vochtigheid had die kenmerkend zijn voor menselijke uitademing (Coyle et al., 2021). Die beperkingen gelden echter niet alleen voor experimentele opstellingen met fysieke proxies, maar voor vrijwel alle kunstmatige aërosolisatiestudies.

Een andere studie in deze groep werd uitgevoerd door Lee et al. (2023). In plaats van deeltjes kunstmatig te aërosoliseren, gebruikten zij zes omgevingsparameters (relatieve vochtigheid, kooldioxide, totale vluchtige organische stoffen, PM<sub>2.5</sub>, PM<sub>10</sub> en temperatuur) als input voor een kunstmatige-intelligentiemodel om het aantal “bacterie-achtige”, “schimmel-achtige” of “pollen-achtige” deeltjes in de lucht te voorspellen, zoals bepaald met een real-time fluorescerend aërosolcytometer. Na training van de modellen op data uit een kantoorgebouw en een winkelcentrum, konden vervolgens de concentratie bioaerosolen in de lucht met 60–80% nauwkeurigheid voorspeld worden. Daarnaast sloten de modeluitkomsten goed aan bij de bekende effecten van temperatuur, luchtvochtigheid en fijnstof (PM) op bioaërosolconcentraties binnenshuis (Lee et al., 2023). Deze studie laat zien dat omgevingsmetingen — die met relatief goedkope sensoren uitvoerbaar zijn — in combinatie met andere gegevens over bioaerosolen potentieel bieden in de toekomst.

Het gebruik van deze groep fysieke proxies heeft duidelijke voordelen: ze vereisen geen gespecialiseerd veiligheidsmateriaal en kunnen waardevolle informatie opleveren over het werkbereik van instrumenten, deeltjesaantallen, grootteverdelingen en luchtstromen door ventilatiesystemen. Het voor de hand

liggende nadeel is echter dat ze geen informatie geven over bioaerosolen zelf en de levensvatbaarheid en persistentie van biologische agentia in de omgeving.

### 3.4 Virussen

Tot slot includeerde een kleine groep artikelen (11 van 91) een aërosolvormig virus in hun studie. Drie van deze artikelen gebruikten dierlijke bacteriën (*Bordetella bronchiseptica*) of virussen (murine hepatitis virus (2), feline calicivirus, feline herpesvirus-1, canine parvovirus of canine distemper virus (1)), en acht artikelen gebruikten een verzwakte of nauw verwante stam van een humaan virus. Daarnaast vergeleken vier van de geïncorporeerde artikelen verschillende virussen met de MS2-bacteriofaag, wat waardevolle inzichten oplevert in hoe deze bacteriofaag als surrogaat kan functioneren in toekomstig onderzoek.

Deze groep proxies vereist nog steeds gespecialiseerde veiligheidscondities bij hantering en is niet universeel toepasbaar in experimentele studies naar binnenluchtkwaliteit; daarom worden ze in deze review niet uitgebreid besproken. Eén interessante toegepaste ziekteverwekker in deze groep is echter het Murine Hepatitis Virus (MHV), dat in twee geïncorporeerde studies werd gebruikt (Nieto-Caballero et al., 2023; Kalaiselvan et al., 2022). In beide gevallen werd MHV ingezet als proxy voor SARS-CoV-2, omdat — zoals Nieto-Caballero et al. (2023) opmerken — het opmerkelijk vergelijkbare fysiologie heeft en er aanwijzingen zijn dat MHV vergelijkbaar reageert op omgevingsfactoren en desinfectiemaatregelen als SARS-CoV-2 (Nieto-Caballero et al., 2023; Kalaiselvan et al., 2022). Het gebruik van MHV in onderzoek naar interventies tegen de verspreiding van SARS-CoV-2 heeft belangrijke voordelen: het is (voor zover bekend) niet pathogeen voor de mens, en de tot nu toe met MHV verkregen resultaten zijn bruikbaar als model voor SARS-CoV-2. Het model is echter niet perfect: het virus vereist BSL-2-omgang en is zeer besmettelijk, waardoor extra voorzichtigheid nodig is in faciliteiten waar ook laboratoriumknaagdieren aanwezig zijn.

In negen van de elf studies in deze groep werd een Collison-vernevelaar gebruikt om de virussen te aërosoliseren. De overige twee studies maten aerosolen die “per ongeluk” bij handelingen vrijkomen: één afkomstig van aërosolvormende tandheelkundige handelingen op een dummy-patiënt, en één die incidentele aerosolen uit PCR-apparatuur wilde detecteren. Voor de bemonstering van de geaërosoliseerde virussen werden verschillende methoden gebruikt; drie studies vergeleken meerdere methoden en zijn daarom in meerdere categorieën meegeteld. Vijf artikelen gebruikten een filter- en pompgebaseerde methode (met PTFE- of gelatinefilters). Een impactormethode kwam viermaal voor; twee studies gebruikten een NIOSH-cycloonsampler; twee gebruikten impingers; en één maakte gebruik van een BioSpot-VIVAS.

In de studie van Raynor et al. (2021) werd de bemonsteringsefficiëntie van zes verschillende impinger- of cycloonsamplers, een filtergebaseerde sampler en een cascade-impactor met elkaar vergeleken onder andere ook voor kunstmatig aerosolen van vogelgriepvirussen. De auteurs concludeerden dat de meetcontext een belangrijke factor is bij de keuze van een methode. Zo zou een sampler met hoge flow rate, zoals de in de studie opgenomen SpinCon II, geschikt zijn voor metingen in kantooromgevingen

waar lage concentraties van het doelvirus worden verwacht (Raynor et al., 2021). Instrumenten met een hoge flow rate verzamelen meer lucht in een kortere tijd en vergroten daardoor de kans om virusdeeltjes op te vangen; toch bleek in dezelfde studie dat instrumenten met een lagere flow rate — zoals de Andersen-impactor, de AGI-30 en Biosampler-impingers, en de BioSpot-VIVAS — de concentratie van virusdeeltjes in de lucht nauwkeuriger konden voorspellen (Raynor et al., 2021).

Raynor et al. suggereren dat het verschil mogelijk wordt veroorzaakt doordat high-flow-instrumenten een groot luchtvolume concentreren in het bemonsteringsmedium, wat kan leiden tot meer schade aan het virus. Een andere verklaring is dat instrumenten met hoge flow minder efficiënt zijn in het verzamelen van deeltjes aan de uiterste randen van het deeltjesgroottespectrum. Dat is relevant, omdat sommige virussen hun infectiviteit alleen behouden binnen een beperkt bereik van deeltjesgroottes. Zo vergeleken Appert et al. (2012) de prestaties van een 8-traps Andersen-impactor en een MOUDI-impactor bij het bemonsteren van kunstmatig geaërosoliseerde MS2 en adenovirus. Zij vonden dat het aantreffen van infectieus adenovirus sterk samenhangt met deeltjes in het 0,56–1,9 µm-bereik, terwijl MS2 gelijkmatiger over de groottes verdeeld was. Op basis van hun bevindingen adviseren Raynor et al. (2021) te overwegen om een tweedelig bemonsteringssysteem te gebruiken bij onderzoek met verneveling van virussen: een high-flow-instrument om te bepalen of het doelvirus aanwezig is, gevolgd door een low-flow-sampler voor kwantificatie.

## 4 DISCUSSIE

In dit literatuuroverzicht hebben we bestaande informatie samengebracht over hoe biologische exposure proxies worden toegepast in experimenteel onderzoek. We hebben een overzicht gekregen van benaderingen met uiteenlopende voordelen, uitdagingen en beperkingen, zoals gebruikt in verschillende onderzoekssettings. Het streven naar optimale wetenschappelijke methoden voor het beoordelen van blootstelling aan biologische agentia via de lucht in gesimuleerde reële contexten vraagt om een genuanceerde beoordeling van aerosolisatietechnieken, methoden voor deeltjesmeting en gebruikte proxies, en evaluatie of deze geschikt zijn om reële situaties na te bootsen. Deze literatuurstudie draagt bij aan het verfijnen van onderzoeksopzetten gericht op het evalueren van de effectiviteit van ventilatie- en luchtzuiveringsmaatregelen in binnenruimten, met nadruk op het nabootsen van door mensen gegenereerde bioaerosolen.

De artikelen die in dit overzicht zijn opgenomen, beslaan een breed scala aan methoden, elk met hun eigen toepassingen, positieve eigenschappen en mogelijke nadelen, samengevat in Tabel 2. Hoewel de grootste groep artikelen bacteriën gebruikte als surrogaat voor een ander micro-organisme, probeerden veel van deze studies de eigenschappen van een zeer specifieke pathogeen na te bootsen, zoals *Bacillus anthracis*, waardoor de bruikbaarheid voor algemene studies naar infectierisico via binnenlucht beperkt is. *E. coli* kan daarentegen wel dienstdoen als een meer algemeen toepasbaar organisme, omdat het

gemakkelijk te kweken is en veilig te hanteren. Een andere bacterie, *Staphylococcus epidermidis*, biedt potentie als organisme dat kunstmatig aërosolvormig gemaakt kan worden, maar ook als mogelijke proxy voor menselijke aanwezigheid.

Tabel 2. Positieve aspecten en eventuele nadelen van de beschreven proxies

Biologische proxy	N Papers	Voordelen	Nadelen
<b>Bacteriofagen-generiek</b>	34	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bacteriofagen geven goed inzicht in infectierisico vergeleken met enkel deeltjesaantallen (Beltran et al. 2023; Oksanen et al. 2022)</li> <li>• Informatie over sampling stress door het meetsysteem (Gendron et al., 2010)</li> <li>• Relatief goedkoop en gemakkelijk in grote hoeveelheden te produceren (Turgeon et al., 2016; Humphrey et al., 2023; Verreault et al., 2015; Fisher et al., 2009)</li> <li>• Lage bio-veiligheidsvereisten (Turgeon et al., 2016; Humphrey et al., 2023; Fisher et al., 2009)</li> <li>• Grote diversiteit – inzetbaar als proxy voor diverse pathogenen (Turgeon et al., 2016)</li> <li>• Overeenkomsten met eukaryote virussen (Beltran et al., 2023)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Labfaciliteiten nodig om fagen en gasteren te kweken</li> <li>• Mogelijk niet acceptabel voor deelnemers</li> <li>• Geen 'one size fits all' oplossing</li> </ul>
<b>MS2</b>	19	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Makkelijk te produceren met hoge virustiter (Zuo et al., 2013; Appert et al., 2012)</li> <li>• Matig resistent tegen desinfectantia, net als veel humane virussen (Fisher et al., 2009; Rengasamy et al., 2010)</li> <li>• Bewijs voor blijvende levensvatbaarheid na verneveling (Appert et al., 2012)</li> <li>• Overleeft in lucht en op oppervlakken (Pearce-Walker et al., 2020)</li> <li>• Ultrasonische vernevelaar tast levensvatbaarheid nauwelijks aan (Woo et al., 2010)</li> <li>• Resistent tegen UVC (Verreault et al., 2015)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Andere recovery rate dan coronavirussen en influenza (Zuo et al., 2013; Zuo et al., 2014)</li> <li>• Appert et al., 2012: MS2 reageert significant anders dan HAd-V</li> <li>• Kan risico overschatten door andere reactie dan humane virussen (Fisher et al., 2012)</li> </ul>
<b>Phi6</b>	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biologisch veilig model met lange gebruiksgeschiedenis (Lee et al., 2023)</li> <li>• Gedrag lijkt op influenzavirus (Lin et al., 2017)</li> <li>• Levert reproduceerbare resultaten op (Sanmark et al., 2023)</li> <li>• Vergelijkbaar met coronavirussen qua grootte, lipidenomhulsel, spike-eiwitten en RNA-genoom (Humphrey et al., 2023)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Phi6 is een niet-omhuld virus, anders dan veel nosocomiale pathogenen (Lee et al., 2023)</li> <li>• Phi6 virus daalt snel bij blootstelling aan lucht in druppels (Humphrey et al., 2023)</li> <li>• Slechte overleving bij overdracht op oppervlakken (Bailey et al., 2022)</li> <li>• Gevoelig voor sampling stress – minder geschikt om levensvatbaarheid te bestuderen (Grendron et al., 2010)</li> </ul>
<b>Phi X174</b>	5	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Door de structuur geschikt als proxy voor pathogene ssDNA-virussen (Beltran et al., 2023)</li> <li>• Wordt al langer gebruikt als modelorganisme (Lee et al., 2023)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lange samplingtijd kan fagen beschadigen (Vyskocil et al., 2020)</li> <li>• Niet-omhuld virus, anders dan veel nosocomiale pathogenen (Lee et al., 2023)</li> <li>• Mogelijk slechts conservatieve schatting van gevoeligheid (Verreault et al., 2015)</li> </ul>

<b><i>E. coli</i></b>	8	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Goedkoop en eenvoudig te kweken (Kalaiselvan et al., 2022; Langer et al., 2012; Vanden et al., 2013)</li> <li>• Geschikt om effect van experimentele opstelling op levensvatbaarheid te meten (Kalaiselvan et al., 2022; Langer et al., 2012; Lin et al., 2017)</li> <li>• Verdraagt verneveling goed (Danelli et al., 2021)</li> <li>• Staafvormig – lijkt op <i>M. tuberculosis</i> (Vanden et al., 2013)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Niet bruikbaar als proxy voor alle bacteriën</li> <li>• Komt veelvuldig voor in omgeving (Kruglyakova et al., 2022)</li> <li>• Collision-vernevelaar kan levensvatbaarheid van <i>E. coli</i> aantasten (Thomas et al., 2011)</li> </ul>
-----------------------	---	---	---

De opgenomen studies over bacteriofagen geven overtuigend bewijs voor het gebruik van bepaalde faagsoorten als surrogaat voor humane of dierlijke virussen. Daarbij is het echter van belang om de faag zorgvuldig te kiezen op basis van de eigenschappen van de doelpathogeen, omdat ook fagen – net als virussen – elk hun eigen gevoeligheid hebben voor omgevingsfactoren en bemonsteringstechnieken. De methoden in de categorieën met fysieke proxies waren divers, variërend van het gebruik van niet-biologische aërosolen tot modelmatige benaderingen op basis van omgevingsdata. Hoewel deze methoden geen informatie kunnen geven over de overleving van aërosolvormige organismen – en daarmee het infectierisico – bieden ze wel inzicht in parameters als deeltjesgrootte, -aantal en -verspreiding in een ruimte.

Virussen vormden de kleinste groep artikelen in deze studie. De meeste organismen in deze groep betroffen dierlijke virussen of verzwakte humane virussen die nog steeds gespecialiseerde behandeling en faciliteiten vereisen, en zijn daarom minder bruikbaar voor algemene studies. Desondanks werd Murine Hepatitis Virus (MHV) in twee van de geïncorporeerde studies geïdentificeerd als een veelbelovend surrogaat voor SARS-CoV-2, het zou waardevol kunnen zijn voor laboratoriumonderzoek naar dit virus. Het gebruik van biologische proxies kan ons begrip van bioaerosolen vergroten. Het grootste voordeel van het gebruik van levensvatbare proxies, zoals bacteriofagen of bacteriën, is dat ze informatie kunnen leveren over de overleving van het organisme in de onderzoeksomgeving. Deze informatie helpt ons om het infectierisico beter in te schatten, omdat alleen levende, zich replicerende organismen infectieziekten kunnen veroorzaken. Wanneer een infectieus micro-organisme wordt uitgedamd, beïnvloeden talloze factoren – van de grootte en samenstelling van het druppeltje tot de luchtvochtigheid – de overleving. Het kiezen van een geschikte proxy is daarom een uitdaging en moet zorgvuldig worden overwogen. Het ideale organisme moet bestand zijn tegen de stress van aërosolisatie en bemonstering, maar ook gevoelig blijven voor omgevingsfactoren zoals luchtvochtigheid, zoals ook geldt voor het doelorganisme. Een voorbeeld is MS2, een veelgebruikte bacteriofaag die zeer robuust is tegen bemonstering en omgevingsstress. Hierdoor kan het infectierisico worden overschat. Een mogelijke oplossing is het gebruik van meerdere proxies binnen één studie.

Voor alle proxies, bacteriën, phagen en virussen, werden nadelige effecten van verneveling op de levensvatbaarheid na aerosolatie gerapporteerd. Ook de effectiviteit van verschillende aerosol monsternamen methodes om de hoeveelheid levensvatbare organismen te bepalen blijkt afhankelijk van type organisme en virus. Dit bemoeilijkt de vergelijkbaarheid en bemoeilijkt de keuze voor een methode bij onderzoek naar biologische agentia in de lucht in realistische settings.

Sommige artikelen dienen als voorbeeldcases voor toekomstig onderzoek, en introduceren bovendien vernieuwende benaderingen in infectie-aërosolonderzoek. Een goed voorbeeld is de studie van Oksanen et al. (2022), waarin de bacteriofaag Phi6 werd geaërosoliseerd in een gesimuleerde restaurant setting met zes deelnemers. Een vernevelaar gevuld met Phi6 fungeerde als een zevende "infectieuze deelnemer". Verspreid over de ruimte stonden actieve samplers opgesteld, waarna verschillende infectiepreventiestrategieën werden toegepast om het effect op verspreiding te meten (Oksanen et al. 2022). De resultaten van deze praktijkproef werden vergeleken met voorspellingen van een computersimulatie, die vergelijkbare uitkomsten gaf. Dankzij het model konden onderzoekers eenvoudiger verschillende interventiescenario's testen en hun impact op infectierisico kwantificeren (Oksanen et al. 2022). Deze studie is van belang vanwege het gebruik van menselijke deelnemers en een realistische setting, waardoor de resultaten direct toepasbaar zijn in infectiepreventiebeleid.

Een belangrijk nadeel van het gebruik van levende proxies is dat deze veelal niet toepasbaar zijn in studies met menselijke deelnemers of in realistische omgevingen. Deelnemers voelen zich mogelijk ongemakkelijk bij blootstelling aan levende micro-organismen, zelfs als deze veilig geacht worden in combinatie met het gebruik van persoonlijke beschermingsmiddelen (Sanmark et al., 2023). Ook is het niet wenselijk om levende micro-organismen buiten een gecontroleerde laboratorium omgeving toe te passen. Het meten van fysieke omgevingsproxies voor infectieuze aërosolen, zoals kooldioxide en PM<sub>2.5</sub> – zoals gedaan door Lee et al. (2023) – blijft een van de weinige beschikbare methoden in studies met menselijke deelnemer in realistische omgevingen. Een alternatief voor interventiestudies in realistische omgevingen is het volgen van veranderingen in natuurlijk voorkomende micro-organismen. Zo gebruikte Thompson et al. in hun studie *Staphylococcus epidermidis* als biologisch veilige vervanger voor *Staphylococcus aureus*. Deze studie toonde aan dat *S. epidermidis* bestand was tegen bemonsteringsstress en geschikt is als surrogate (Thompson et al. 2011). Naast bruikbaarheid voor kunstmatige aërosolisatie, kan deze bacterie ook gebruikt worden als indicator voor menselijke aanwezigheid. Een andere interessante kandidaat is *Streptococcus salivarius*, een veelvoorkomend lid van de orale en nasofaryngeale microbiota. *S. salivarius* kan mogelijk fungeren als speekselbiomarker en daarmee een indicatie geven van relatief infectierisico via aërosolen, zonder dat zieke deelnemers nodig zijn en zonder dat fysieke/biologische aërosolvormige proxies gemaakt moeten worden. Deze bacteriën zouden bijzonder waardevol kunnen zijn in studies naar binnenluchtkwaliteit, zoals de effectiviteit van luchtzuiveraars of ventilatieaanpassingen, zonder dat er kunstmatige aërosolen hoeven te worden gegenereerd (Piana et al, 2021).

Een mogelijke beperking van onze studie was de brede reikwijdte van de literatuurzoektocht. Hoewel een systematische aanpak is gevolgd bij het zoeken en selecteren van de literatuur, zou het ondoenlijk zijn geweest om alle toepassingen van de beschreven methoden in kaart te brengen. Hierdoor is ervoor gekozen de bevindingen te presenteren in de vorm van een meer narratief overzicht, ondanks de robuuste zoekstrategie. Wij zijn van mening dat dit waardevolle inzichten biedt, ook al omvat het niet elk voorbeeld van het besproken onderwerp. We hadden daarnaast de zoekstrategie aan kunnen passen om meer

studies in realistische omgevingen (zoals klaslokalen of zorginstellingen) te includeren, in plaats van voornamelijk laboratoriumstudies. Hoewel dergelijke laboratoriumexperimenten waardevol zijn, voegen menselijk gedrag en fysiologie een complexiteit toe die niet met instrumenten te repliceren is. Door de zoektermen anders in te richten zouden wellicht meer studies uit "echte" settings zijn gevonden. Er lijkt bovendien een algemeen gebrek aan gepubliceerde studies die de invloed van aanpassingen in het binnenmilieu op ziekteoverdracht onderzoeken.

## **Conclusie**

Hoewel er meerdere methoden beschikbaar zijn om aërosolen te produceren en bioaërosolen in de omgeving te detecteren, kon op basis van deze literatuur niet één methode als de beste worden aangemerkt voor onderzoek naar biologische agentia in de lucht in realistische settings. De onzekerheid over het realistisch nabootsen van menselijke blootstelling via vernevelaars, en de bezorgdheid over het gebruik van levende organismen in levensechte omgevingen, maken toepassing buiten het laboratorium voorlopig nog niet haalbaar. In studies naar het binnenmilieu, zoals naar de effectiviteit van mobiele luchtreinigers of aanpassingen in ventilatiesystemen, kunnen door mensen gegenereerde bacteriële proxies echter mogelijk een waardevol alternatief vormen, zonder dat kunstmatige aërosolen hoeven te worden geproduceerd.

## 5 REFERENTIES

- Appert J, Raynor PC, Abin M, et al. Influence of Suspending Liquid, Impactor Type, and Substrate on Size-Selective Sampling of MS2 and Adenovirus Aerosols. *Aerosol Science and Technology*. 2012;46(3):249-257. doi:[10.1080/02786826.2011.619224](https://doi.org/10.1080/02786826.2011.619224)
- Bagheri G, Schlenczek O, Turco L, et al. Size, concentration, and origin of human exhaled particles and their dependence on human factors with implications on infection transmission. *Journal of Aerosol Science*. 2023;168:106102. doi:10.1016/j.jaerosci.2022.106102
- Beltrán EO, Castellanos JE, Corredor ZL, et al. Tracing ΦX174 bacteriophage spreading during aerosol-generating procedures in a dental clinic. *Clinical Oral Investigations*. 2023;27:3221-3231.
- Coyle JP, Derk RC, Lindsley WG, et al. Efficacy of Ventilation, HEPA Air Cleaners, Universal Masking, and Physical Distancing for Reducing Exposure to Simulated Exhaled Aerosols in a Meeting Room. *Viruses*. 2021;13(12):2536. doi:[10.3390/v13122536](https://doi.org/10.3390/v13122536)
- Danelli SG, Brunoldi M, Massabò D, Parodi F, Vernocchi V, Prati P. Comparative characterization of the performance of bio-aerosol nebulizers in connection with atmospheric simulation chambers. *Atmos Meas Tech*. 2021;14(6):4461-4470. doi:[10.5194/amt-14-4461-2021](https://doi.org/10.5194/amt-14-4461-2021)
- Fennelly KP. Particle sizes of infectious aerosols: implications for infection control. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8(9):914-924. doi:[10.1016/S2213-2600\(20\)30323-4](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30323-4)
- Gendron L, Verreault D, Veillette M, Moineau S, Duchaine C. Evaluation of Filters for the Sampling and Quantification of RNA Phage Aerosols. *Aerosol Science and Technology*. 2010;44(10):893-901. doi:[10.1080/02786826.2010.501351](https://doi.org/10.1080/02786826.2010.501351)
- Fisher EM, Richardson AW, Harpest SD, Hofacre KC, Shaffer RE. Reaerosolization of MS2 Bacteriophage from an N95 Filtering Facepiece Respirator by Simulated Coughing. *The Annals of Occupational Hygiene*. 2012;56(3):315-325. doi:[10.1093/annhyg/mer101](https://doi.org/10.1093/annhyg/mer101)
- Fisher E, Rengasamy S, Viscusi D, Vo E, Shaffer R. Development of a Test System To Apply Virus-Containing Particles to Filtering Facepiece Respirators for the Evaluation of Decontamination Procedures. *Appl Environ Microbiol*. 2009;75(6):1500-1507. doi:[10.1128/AEM.01653-08](https://doi.org/10.1128/AEM.01653-08)
- Gendron L, Verreault D, Veillette M, Moineau S, Duchaine C. Evaluation of Filters for the Sampling and Quantification of RNA Phage Aerosols. *Aerosol Science and Technology*. 2010;44(10):893-901. doi:[10.1080/02786826.2010.501351](https://doi.org/10.1080/02786826.2010.501351)
- Haddaway NR, Page MJ, Pritchard CC, McGuinness LA. *PRISMA2020*: An R package and Shiny app for producing PRISMA 2020-compliant flow diagrams, with interactivity for optimised digital transparency and Open Synthesis. *Campbell Syst Rev*. 2022 Mar 27;18(2):e1230. doi: [10.1002/cl2.1230](https://doi.org/10.1002/cl2.1230)
- Humphrey B, Tezak M, Lobitz M, et al. Viral Preservation with Protein-Supplemented Nebulizing Media in Aerosols. Buan NR, ed. *Appl Environ Microbiol*. 2023;89(3):e01545-22. doi:[10.1128/aem.01545-22](https://doi.org/10.1128/aem.01545-22)
- Humphrey B, Tezak M, Lobitz M, et al. Viral Preservation with Protein-Supplemented Nebulizing Media in Aerosols. Buan NR, ed. *Appl Environ Microbiol*. 2023;89(3):e01545-22. doi:[10.1128/aem.01545-22](https://doi.org/10.1128/aem.01545-22)
- Kalaiselvan P, Yasir M, Kuppusamy R, Willcox M, Vijay AK. Ability of Essential Oil Vapours to Reduce Numbers of Culturable Aerosolised Coronavirus, Bacteria and Fungi. *Antibiotics*. 2022;11(3):393. doi:[10.3390/antibiotics11030393](https://doi.org/10.3390/antibiotics11030393)
- Kruglyakova E, Mirskaya E, Agranovski IE. Bioaerosol Release from Concentrated Microbial Suspensions in Bubbling Processes. *Atmosphere*. 2022;13(12):2029. doi:[10.3390/atmos13122029](https://doi.org/10.3390/atmos13122029)
- Langer V, Hartmann G, Niessner R, Seidel M. Rapid quantification of bioaerosols containing *L. pneumophila* by Coriolis®  $\mu$  air sampler and chemiluminescence antibody microarrays. *Journal of Aerosol Science*. 2012;48:46-55. doi:[10.1016/j.jaerosci.2012.02.001](https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2012.02.001)

- Lee JYY, Miao Y, Chau RLT, Hernandez M, Lee PKH. Artificial intelligence-based prediction of indoor bioaerosol concentrations from indoor air quality sensor data. *Environment International*. 2023;174:107900. doi:[10.1016/j.envint.2023.107900](https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.107900)
- Lewis, D. (2023, March 9). Indoor air is full of flu and covid viruses. will countries clean it up? *Nature*, pp. 206– 208. Retrieved 2024, from <https://www.nature.com/articles/d41586-023-00642-9>.  
Morawska L *et al.*, Mandating indoor air quality for public buildings. *Science* 383,14181420 (2024). DOI:[10.1126/science.adl0677](https://doi.org/10.1126/science.adl0677)
- Lin WE, Mubareka S, Guo Q, Steinhoff A, Scott JA, Savory E. Pulsed ultraviolet light decontamination of virus-laden airstreams. *Aerosol Science and Technology*. 2017;51(5):554-563. doi:[10.1080/02786826.2017.1280128](https://doi.org/10.1080/02786826.2017.1280128)
- Lin XT, Hsu NY, Wang JR, Chen NT, Su HJ, Lin MY. Development of an efficient viral aerosol collector for higher sampling flow rate. *Environ Sci Pollut Res*. 2018;25(4):3884-3893. doi:[10.1007/s11356-017-0754-z](https://doi.org/10.1007/s11356-017-0754-z)
- Nieto-Caballero M, Davis RD, Fuques E, et al. Carbohydrate vitrification in aerosolized saliva is associated with the humidity-dependent infectious potential of airborne coronavirus. Zhang J, ed. *PNAS Nexus*. 2023;2(2):pgac301. doi:[10.1093/pnasnexus/pgac301](https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgac301)
- Oksanen L, Auvinen M, Kuula J, et al. Combining Phi6 as a surrogate virus and computational large-eddy simulations to study airborne transmission of SARS-CoV-2 in a restaurant. *Indoor Air*. 2022;32(11). doi:[10.1111/ina.13165](https://doi.org/10.1111/ina.13165)
- Pearce-Walker JI, Troup DJ, Ives R, et al. Investigation of the effects of an ultraviolet germicidal irradiation system on concentrations of aerosolized surrogates for common veterinary pathogens. *ajvr*. 2020;81(6):506-513. doi:[10.2460/ajvr.81.6.506](https://doi.org/10.2460/ajvr.81.6.506)
- Piana A, Colucci ME, Valeriani F, et al. Monitoring COVID-19 Transmission Risks by Quantitative Real-Time PCR Tracing of Droplets in Hospital and Living Environments. *mSphere*. 2021 Jan 6;6(1):e01070-20. doi: [10.1128/mSphere.01070-20](https://doi.org/10.1128/mSphere.01070-20).
- Raynor PC, Adesina A, Aboubakr HA, Yang M, Torremorell M, Goyal SM. Comparison of samplers collecting airborne influenza viruses: 1. Primarily impingers and cyclones. Herfst S, ed. *PLoS ONE*. 2021;16(1):e0244977. doi:[10.1371/journal.pone.0244977](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244977)
- Rengasamy S, Fisher E, Shaffer RE. Evaluation of the survivability of MS2 viral aerosols deposited on filtering face piece respirator samples incorporating antimicrobial technologies. *American Journal of Infection Control*. 2010;38(1):9-17. doi:[10.1016/j.ajic.2009.08.006](https://doi.org/10.1016/j.ajic.2009.08.006)
- Sanmark E, Kuula J, Laitinen S, Oksanen LMAH, Bamford DH, Atanasova NS. Safe use of PHI6 IN the experimental studies. *Heliyon*. 2023;9(2):e13565. doi:[10.1016/j.heliyon.2023.e13565](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13565)
- Thomas RJ, Webber D, Hopkins R, et al. The Cell Membrane as a Major Site of Damage during Aerosolization of *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(3):920-925. doi:[10.1128/AEM.01116-10](https://doi.org/10.1128/AEM.01116-10)
- Thompson KA, Bennett AM, Walker JT. Aerosol survival of Staphylococcus epidermidis. *Journal of Hospital Infection*. 2011;78(3):216-220. doi:[10.1016/j.jhin.2010.12.009](https://doi.org/10.1016/j.jhin.2010.12.009)
- Tung-Thompson G, Libera DA, Koch KL, de los Reyes FL, Jaykus LA. Aerosolization of a Human Norovirus Surrogate, Bacteriophage MS2, during Simulated Vomiting. Bauch CT, ed. *PLoS ONE*. 2015;10(8):e0134277. doi:[10.1371/journal.pone.0134277](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134277)
- Turgeon N, Michel K, Ha TL, Robine E, Moineau S, Duchaine C. Resistance of Aerosolized Bacterial Viruses to Four Germicidal Products. Almeida A, ed. *PLoS ONE*. 2016;11(12):e0168815. doi:[10.1371/journal.pone.0168815](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168815)

Turgeon N, Toulouse MJ, Martel B, Moineau S, Duchaine C. Comparison of Five Bacteriophages as Models for Viral Aerosol Studies. Yates MV, ed. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(14):4242-4250. doi:[10.1128/AEM.00767-14](https://doi.org/10.1128/AEM.00767-14)

Vanden Driessche K, Marais BJ, Wattenberg M, et al. The Cough Cylinder: a tool to study measures against airborne spread of (myco-) bacteria. *int j tuberc lung dis*. 2013;17(1):46-53. doi:[10.5588/ijtld.12.0289](https://doi.org/10.5588/ijtld.12.0289)

Verreault D, Marcoux-Voiselle M, Turgeon N, Moineau S, Duchaine C. Resistance of Aerosolized Bacterial Viruses to Relative Humidity and Temperature. Schaffner DW, ed. *Appl Environ Microbiol*. 2015;81(20):7305-7311. doi:[10.1128/AEM.02484-15](https://doi.org/10.1128/AEM.02484-15)

Vyskocil JM, Turgeon N, Turgeon JG, Duchaine C. Ozone treatment in a wind tunnel for the reduction of airborne viruses in swine buildings. *Aerosol Science and Technology*. 2020;54(12):1471-1478. doi:[10.1080/02786826.2020.1790495](https://doi.org/10.1080/02786826.2020.1790495)

Woo MH, Hsu YM, Wu CY, Heimbuch B, Wander J. Method for contamination of filtering facepiece respirators by deposition of MS2 viral aerosols. *Journal of Aerosol Science*. 2010;41(10):944-952. doi:[10.1016/j.jaerosci.2010.07.003](https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2010.07.003)

Zhao Y, Feng Y, Ma L. Impacts of human movement and ventilation mode on the indoor environment, droplet evaporation, and aerosol transmission risk at airport terminals. *Building and Environment*. 2022;224:109527. doi:[10.1016/j.buildenv.2022.109527](https://doi.org/10.1016/j.buildenv.2022.109527)

Zuo Z, Kuehn TH, Bekele AZ, et al. Survival of Airborne MS2 Bacteriophage Generated from Human Saliva, Artificial Saliva, and Cell Culture Medium. Yates MV, ed. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(9):2796-2803. doi:[10.1128/AEM.00056-14](https://doi.org/10.1128/AEM.00056-14)

Zuo Z, Kuehn TH, Verma H, et al. Association of Airborne Virus Infectivity and Survivability with its Carrier Particle Size. *Aerosol Science and Technology*. 2013;47(4):373-382. doi:[10.1080/02786826.2012.754841](https://doi.org/10.1080/02786826.2012.754841)

# BIJLAGE 1 LIJST VAN ALLE IN HET REVIEW GEÏNCLUDEERDE STUDIES

Anwarul Hasan Md, Lange CF, King ML. Effect of artificial mucus properties on the characteristics of airborne bioaerosol droplets generated during simulated coughing. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*. 2010 Nov;165(21-22):1431-41.

Appert J, Raynor PC, Abin M, Chander Y, Guarino H, Goyal SM, et al. Influence of Suspending Liquid, Impactor Type, and Substrate on Size-Selective Sampling of MS2 and Adenovirus Aerosols. *Aerosol Science and Technology*. 2012 Mar;46(3):249-57.

Bailey C, Johnson P, Moran J, Rosa I, Brookes J, Hall S, et al. Simulating the Environmental Spread of SARS-CoV-2 via Cough and the Effect of Personal Mitigations. *Microorganisms*. 2022 Nov 12;10(11):2241.

Beltrán EO, Castellanos JE, Corredor ZL, Morgado W, Zarta OL, Cortés A, et al. Tracing ΦX174 bacteriophage spreading during aerosol-generating procedures in a dental clinic. *Clin Oral Invest*. 2023 Mar 18;27(6):3221-31.

Bishop AH, Stapleton HL. Aerosol and Surface Deposition Characteristics of Two Surrogates for *Bacillus anthracis* Spores. Schaffner DW, editor. *Appl Environ Microbiol*. 2016 Nov 15;82(22):6682-90.

Buhr TL, Young AA, Bensman M, Minter ZA, Kennihan NL, Johnson CA, et al. Hot, humid air decontamination of a C-130 aircraft contaminated with spores of two acrySTALLIFEROUS *Bacillus thuringiensis* strains, surrogates for *Bacillus anthracis*. *J Appl Microbiol*. 2016 Apr;120(4):1074-84.

Burghardt GV, Eckle M, Huether D, Larbolette OHD, Lo Faso A, Ofenloch-Haehnle BR, et al. Aerosol formation during processing of potentially infectious samples on Roche immunochemistry analyzers (cobas e analyzers) and in an end-to-end laboratory workflow to model SARS-CoV-2 infection risk for laboratory operators. *Frontiers in Public Health*.

Buttner MP, Cruz P, Detrick E, Gunter J, Medley S. Evaluation of two surface sampling methods for the detection of *Bacillus atrophaeus* aerosolized in a test chamber. *Journal of Microbiological Methods*. 2022 Jul;198:106507.

Buttner MP, Cruz P, Stetzenbach LD, Klima-Comba AK, Stevens VL, Cronin TD. Determination of the Efficacy of Two Building Decontamination Strategies by Surface Sampling with Culture and Quantitative PCR Analysis. *Appl Environ Microbiol*. 2004 Aug;70(8):4740-7.

Clark Burton N, Adhikari A, Grinshpun SA, Hornung R, Reponen T. The effect of filter material on bioaerosol collection of *Bacillus subtilis* spores used as a *Bacillus anthracis* simulant. *J Environ Monit*. 2005;7(5):475.

Clifton IJ, Fletcher LA, Beggs CB, Denton M, Peckham DG. A laminar flow model of aerosol survival of epidemic and non-epidemic strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from people with cystic fibrosis. *BMC Microbiol*. 2008;8(1):105.

Coyle JP, Derk RC, Lindsley WG, Blachere FM, Boots T, Lemons AR, et al. Efficacy of Ventilation, HEPA Air Cleaners, Universal Masking, and Physical Distancing for Reducing Exposure to Simulated Exhaled Aerosols in a Meeting Room. *Viruses*. 2021 Dec 17;13(12):2536.

Craven DE, Lichtenberg DA, Goularte TA, Make BJ, McCabe WR. Contaminated Medication Nebulizers in Mechanical Ventilator Circuits. *The American Journal of Medicine*. 1984 Nov;77.

Cyprowski M, Ławniczek-Wałczyk A, Górny R. Airborne peptidoglycans as a supporting indicator of bacterial contamination in a metal processing plant. *Int J Occup Med Environ Health*. 2015 Dec 9;29(3):427-37.

Danelli SG, Brunoldi M, Massabò D, Parodi F, Vernocchi V, Prati P. Comparative characterization of the performance of bio-aerosol nebulizers in connection with atmospheric simulation chambers. *Atmos Meas Tech*. 2021 Jun 17;14(6):4461-70.

Davidson C, Green CF, Panlilio AL, Jensen PA, Stover BH, Roselle G, et al. Method for Evaluating the Relative Efficiency of Selected N95 Respirators and Surgical Masks to Prevent the Inhalation of Airborne Vegetative Cells by Healthcare Personnel. *Indoor and Built Environment*. 2011 Apr;20(2):265-77.

- Davidson CS, Green CF, Gibbs SG, Schmid KK, Panlilio AL, Jensen PA, et al. Performance Evaluation of Selected N95 Respirators and Surgical Masks When Challenged with Aerosolized Endospores and Inert Particles. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*. 2013 Sep;10(9):461–7.
- Feldman O, Meir M, Shavit D, Idelman R, Shavit I. Exposure to a Surrogate Measure of Contamination From Simulated Patients by Emergency Department Personnel Wearing Personal Protective Equipment. *JAMA*. 2020 May 26;323(20):2091.
- Fisher EM, Richardson AW, Harpest SD, Hofacre KC, Shaffer RE. Reaerosolization of MS2 Bacteriophage from an N95 Filtering Facepiece Respirator by Simulated Coughing. *The Annals of Occupational Hygiene*. 2012 Apr 1;56(3):315–25.
- Fisher E, Rengasamy S, Viscusi D, Vo E, Shaffer R. Development of a Test System To Apply Virus-Containing Particles to Filtering Facepiece Respirators for the Evaluation of Decontamination Procedures. *Appl Environ Microbiol*. 2009 Mar 15;75(6):1500–7.
- Gendron L, Verreault D, Veillette M, Moineau S, Duchaine C. Evaluation of Filters for the Sampling and Quantification of RNA Phage Aerosols. *Aerosol Science and Technology*. 2010 Aug 9;44(10):893–901.
- Gibb-Snyder E, Gullett B, Ryan S, Oudejans L, Touati A. Development of Size-Selective Sampling of *Bacillus Anthracis* Surrogate Spores from Simulated Building Air Intake Mixtures for Analysis via Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. *Appl Spectrosc*. 2006 Aug;60(8):860–70.
- Gilmour IJ, Boyle MJ, Streifel A, McComb CR. The effects of circuit and humidifier type on contamination potential during mechanical ventilation: A laboratory study. *American Journal of Infection Control*. 1995 Apr;23(2):65–72.
- He X, Reponen T, McKay R, Grinshpun SA. How Does Breathing Frequency Affect the Performance of an N95 Filtering Facepiece Respirator and a Surgical Mask Against Surrogates of Viral Particles? *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*. 2014 Mar;11(3):178–85.
- Humphrey B, Tezak M, Lobitz M, Hendricks A, Sanchez A, Zenker J, et al. Viral Preservation with Protein-Supplemented Nebulizing Media in Aerosols. Buan NR, editor. *Appl Environ Microbiol*. 2023 Mar 29;89(3):e01545-22.
- Ionescu AC, Brambilla E, Manzoli L, Orsini G, Gentili V, Rizzo R. Aerosols modification with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reduces airborne contamination by dental handpieces. *Journal of Oral Microbiology*. 2021 Jan 1;13(1):1881361.
- Jeong SB, Shin JH, Kim SW, Seo SC, Jung JH. Performance evaluation of an electrostatic precipitator with a copper plate using an aerosolized SARS-CoV-2 surrogate (bacteriophage phi 6). *Environmental Technology & Innovation*. 2023 May;30:103124.
- Kalaiselvan P, Yasir M, Kuppusamy R, Willcox M, Vijay AK. Ability of Essential Oil Vapours to Reduce Numbers of Culturable Aerosolised Coronavirus, Bacteria and Fungi. *Antibiotics*. 2022 Mar 15;11(3):393.
- Kim SW, Raynor PC, Kuehn TH, Goyal SM, Ramakrishnan MA, Anantharaman S, et al. Optimizing the Recovery of Surrogates for Bacterial Bioterrorism Agents from Ventilation Filters. *CLEAN Soil Air Water*. 2008 Jul;36(7):601–8.
- King B, Kesavan J, Sagripanti JL. Germicidal UV Sensitivity of Bacteria in Aerosols and on Contaminated Surfaces. *Aerosol Science and Technology*. 2011 Mar 31;45(5):645–53.
- Krauter P, Biermann A. Reaerosolization of Fluidized Spores in Ventilation Systems. *Appl Environ Microbiol*. 2007 Apr;73(7):2165–72.
- Kruglyakova E, Mirskaya E, Agranovski IE. Bioaerosol Release from Concentrated Microbial Suspensions in Bubbling Processes. *Atmosphere*. 2022 Dec 2;13(12):2029.
- Laflamme C, Verreault D, Ho J, Duchaine C. Flow Cytometry Sorting Protocol of Bacillus Spore Using Ultraviolet Laser and Autofluorescence as Main Sorting Criterion. *J Fluoresc*. 2006 Nov 22;16(6):733–7.
- Langer V, Hartmann G, Niessner R, Seidel M. Rapid quantification of bioaerosols containing *L. pneumophila* by Coriolis® µ air sampler and chemiluminescence antibody microarrays. *Journal of Aerosol Science*. 2012 Jun;48:46–55.
- Le Guellec S, Pardessus J, Bodier-Montagutelli E, L'Hostis G, Dalloneau E, Piel D, et al. Administration of Bacteriophages via Nebulization during Mechanical Ventilation: In Vitro Study and Lung Deposition in Macaques. *Viruses*. 2023 Feb 22;15(3):602.

- Lee JYY, Miao Y, Chau RLT, Hernandez M, Lee PKH. Artificial intelligence-based prediction of indoor bioaerosol concentrations from indoor air quality sensor data. *Environment International*. 2023 Apr;174:107900.
- Lee LYY, Landry SA, Jamriska M, Subedi D, Joosten SA, Barr JJ, et al. Quantifying the reduction of airborne infectious viral load using a ventilated patient hood. *Journal of Hospital Infection*. 2023 Jun;136:110–7.
- Lin TH, Tang FC, Chiang CH, Chang CP, Lai CY. Recovery of Bacteria in Filtering Facepiece Respirators and Effects of Artificial Saliva/Perspiration on Bacterial Survival and Performance of Respirators. *Aerosol Air Qual Res*. 2017;17(1):187–97.
- Lin WE, Mubareka S, Guo Q, Steinhoff A, Scott JA, Savory E. Pulsed ultraviolet light decontamination of virus-laden airstreams. *Aerosol Science and Technology*. 2017 May 4;51(5):554–63.
- Lindsay WG, Reynolds JS, Szalajda JV, Noti JD, Beezhold DH. A Cough Aerosol Simulator for the Study of Disease Transmission by Human Cough-Generated Aerosols. *Aerosol Science and Technology*. 2013 Aug;47(8):937–44.
- Madelin TM. Design, construction, testing and use of an artificial lung for sampling biological aerosols. *Journal of Aerosol Science*. 1992;23:S675–8.
- McDevitt JJ, Milton DK, Rudnick SN, First MW. Inactivation of Poxviruses by Upper-Room UVC Light in a Simulated Hospital Room Environment. Baylis M, editor. *PLoS ONE*. 2008 Sep 10;3(9):e3186.
- Morici LA, Heang J, Tate T, Didier PJ, Roy CJ. Differential susceptibility of inbred mouse strains to *Burkholderia thailandensis* aerosol infection. *Microbial Pathogenesis*. 2010 Jan;48(1):9–17.
- Moura IB, Bentley K, Wilcox MH. Assessment of potential for viral contamination of user and environment via aerosols generated during hand drying: A pilot study. *Front Public Health*. 2022 Oct 25;10:1010802.
- Mousavi ES, Godri Pollitt KJ, Sherman J, Martinello RA. Performance analysis of portable HEPA filters and temporary plastic anterooms on the spread of surrogate coronavirus. *Building and Environment*. 2020 Oct;183:107186.
- Myers NT, Han TT, Li ML, Brewer G, Harper M, Mainelis G. Impact of sampling and storage stress on the recovery of airborne SARS-CoV-2 virus surrogate captured by filtration. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*. 2021 Sep 2;18(9):461–75.
- Nakpan W, Yermakov M, Indugula R, Jandarov R, Reponen T, Grinshpun SA. Inactivation of aerosolized *Bacillus anthracis* surrogate spores in close proximity to the flame: Simulation study. *Journal of Aerosol Science*. 2019 Feb;128:72–8.
- Nieto-Caballero M, Davis RD, Fuques E, Gomez OM, Huynh E, Handorean A, et al. Carbohydrate vitrification in aerosolized saliva is associated with the humidity-dependent infectious potential of airborne coronavirus. Zhang J, editor. *PNAS Nexus*. 2023 Feb 3;2(2):pgac301.
- Oksanen L, Auvinen M, Kuula J, Malmgren R, Romantschuk M, Hyvärinen A, et al. Combining Phi6 as a surrogate virus and computational large-eddy simulations to study airborne transmission of SARS-CoV-2 in a restaurant. *Indoor Air* [Internet]. 2022 Nov [cited 2023 Oct 30];32(11). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ina.13165>
- Pascoe MJ, Robertson A, Crayford A, Durand E, Steer J, Castelli A, et al. Dry heat and microwave-generated steam protocols for the rapid decontamination of respiratory personal protective equipment in response to COVID-19-related shortages. *Journal of Hospital Infection*. 2020 Sep;106(1):10–9.
- Patel SH, Yim W, Garg AK, Shah SH, Jakerst JV, Chao DL. Assessing the Physiological Relevance of Cough Simulators for Respiratory Droplet Dispersion. *JCM*. 2020 Sep 17;9(9):3002.
- Pearce-Walker JI, Troup DJ, Ives R, Ikner LA, Rose JB, Kennedy MA, et al. Investigation of the effects of an ultraviolet germicidal irradiation system on concentrations of aerosolized surrogates for common veterinary pathogens. *ajvr*. 2020 Jun;81(6):506–13.
- Peng L, Wang H, Li G, Liang Z, Zhang W, Zhao W, et al. Bioinspired artificial spider silk photocatalyst for the high-efficiency capture and inactivation of bacteria aerosols. *Nat Commun*. 2023 Apr 27;14(1):2412.
- Pourchez J, Peyron A, Sarry G, Leclerc L, Verhoeven PO, Choi P, et al. Antimicrobial Performance of an Innovative Technology of Atmospheric Plasma Reactors against Bioaerosols: Effectiveness in Removing Airborne Viable Viruses. *Buildings*. 2022 Oct 1;12(10):1587.

Pyrgiotakis G, McDevitt J, Gao Y, Branco A, Eleftheriadou M, Lemos B, et al. Mycobacteria inactivation using Engineered Water Nanostructures (EWNS). *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2014 Aug;10(6):1175–83.

Raynor PC, Adesina A, Aboubakr HA, Yang M, Torremorell M, Goyal SM. Comparison of samplers collecting airborne influenza viruses: 1. Primarily impingers and cyclones. Herfst S, editor. *PLoS ONE*. 2021 Jan 28;16(1):e0244977.

Rengasamy S, Eimer BC, Szalajda J. A Quantitative Assessment of the Total Inward Leakage of NaCl Aerosol Representing Submicron-Size Bioaerosol Through N95 Filtering Facepiece Respirators and Surgical Masks. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*. 2014 Jun 3;11(6):388–96.

Rengasamy S, Fisher E, Shaffer RE. Evaluation of the survivability of MS2 viral aerosols deposited on filtering face piece respirator samples incorporating antimicrobial technologies. *American Journal of Infection Control*. 2010 Feb;38(1):9–17.

Rüggeberg T, Milosevic A, Specht P, Mayer A, Frey J, Petri-Fink A, et al. A Versatile Filter Test System to Assess Removal Efficiency for Viruses in Aerosols. *Aerosol Air Qual Res*. 2021;21(12):210224.

Ryan SP, Lee SD, Calfee MW, Wood JP, McDonald S, Clayton M, et al. Effect of inoculation method on the determination of decontamination efficacy against *Bacillus* spores. *World J Microbiol Biotechnol*. 2014 Oct;30(10):2609–23.

Sanmark E, Kuula J, Laitinen S, Oksanen LMAH, Bamford DH, Atanasova NS. Safe use of PHI6 IN the experimental studies. *Heliyon*. 2023 Feb;9(2):e13565.

Schinköthe J, Scheinemann HA, Diederich S, Freese H, Eschbaumer M, Teifke JP, et al. Airborne Disinfection by Dry Fogging Efficiently Inactivates Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), Mycobacteria, and Bacterial Spores and Shows Limitations of Commercial Spore Carriers. Drake HL, editor. *Appl Environ Microbiol*. 2021 Jan 15;87(3):e02019-20.

Sharma S, Pinto R, Saha A, Chaudhuri S, Basu S. On secondary atomization and blockage of surrogate cough droplets in single- and multilayer face masks. *Sci Adv*. 2021 Mar 5;7(10):eabf0452.

Shen F, Niu M, Zhou F, Wu Y, Zhu T. Culturability, metabolic activity and composition of ambient bacterial aerosols in a surrogate lung fluid. *Science of The Total Environment*. 2019 Nov;690:76–84.

Smith BL, King MD. Aerosolization triggers immediate antibiotic resistance in bacteria. *Journal of Aerosol Science*. 2022 Aug;164:106017.

Smith CR, Gravenstein N, LeMaster TE, Borde CM, Fahy BG. A Flexible Enclosure to Protect Respiratory Therapists During Aerosol-Generating Procedures. *Respir Care*. 2020 Dec;65(12):1923–32.

Stratis-Cullum DN, Griffin GD, Mobley J, Vass AA, Vo-Dinh T. A Miniature Biochip System for Detection of Aerosolized *Bacillus globigii* Spores. *Anal Chem*. 2003 Jan 1;75(2):275–80.

Sze To GN, Wan MP, Chao CYH, Wei F, Yu SCT, Kwan JKC. A methodology for estimating airborne virus exposures in indoor environments using the spatial distribution of expiratory aerosols and virus viability characteristics. *Indoor Air*. 2008 Oct;18(5):425–38.

Thompson KA, Bennett AM, Walker JT. Aerosol survival of *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Hospital Infection*. 2011 Jul;78(3):216–20.

Tung-Thompson G, Libera DA, Koch KL, de los Reyes FL, Jaykus LA. Aerosolization of a Human Norovirus Surrogate, Bacteriophage MS2, during Simulated Vomiting. Bauch CT, editor. *PLoS ONE*. 2015 Aug 19;10(8):e0134277.

Turgeon N, Michel K, Ha TL, Robine E, Moineau S, Duchaine C. Resistance of Aerosolized Bacterial Viruses to Four Germicidal Products. Almeida A, editor. *PLoS ONE*. 2016 Dec 28;11(12):e0168815.

Usachev EV, Usacheva OV, Agranovski IE. Surface plasmon resonance-based real-time bioaerosol detection. *J Appl Microbiol*. 2013 Sep;115(3):766–73.

Usachev EV, Tam AM, Usacheva OV, Agranovski IE. The sensitivity of surface plasmon resonance based viral aerosol detection. *Journal of Aerosol Science*. 2014 Oct;76:39–47.

Utrup LJ, Werner K. Minimizing Pathogenic Bacteria, Including Spores, in indoor air. *J Environ Health*. 2003 Dec;66(5):19-26, 29.

- Utrup LJ, Frey AH. Fate of Bioterrorism-Relevant Viruses and Bacteria, Including Spores, Aerosolized into an Indoor Air Environment. *Exp Biol Med* (Maywood). 2004 Apr;229(4):345–50.
- Vanden Driessche K, Marais BJ, Wattenberg M, Magis-Escurra C, Reijers M, Tuinman IL, et al. The Cough Cylinder: a tool to study measures against airborne spread of (myco-) bacteria. *int j tuberc lung dis*. 2013 Jan 1;17(1):46–53.
- Vernon JJ, Black EVI, Dennis T, Devine DA, Fletcher L, Wood DJ, et al. Dental Mitigation Strategies to Reduce Aerosolization of SARS-CoV-2. *J Dent Res*. 1933 Aug;13(4):297–300.
- Verreault D, Marcoux-Voiselle M, Turgeon N, Moineau S, Duchaine C. Resistance of Aerosolized Bacterial Viruses to Relative Humidity and Temperature. Schaffner DW, editor. *Appl Environ Microbiol*. 2015 Oct 15;81(20):7305–11.
- Vlachokostas A, Burns CA, Salsbury TI, Daniel RC, James DP, Flaherty JE, et al. Experimental evaluation of respiratory droplet spread to rooms connected by a central ventilation system. *Indoor Air* [Internet]. 2022 Jan [cited 2024 Feb 16];32(1). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ina.12940>
- Vyskocil JM, Létourneau V, St-Germain MW, Turgeon JG, Duchaine C. Challenge of mechanical and antimicrobial filters against infectious phages artificially agglomerated with inorganic dust with a known particle-size distribution. *Aerosol Science and Technology*. 2021 Feb 1;55(2):194–204.
- Vyskocil JM, Turgeon N, Turgeon JG, Duchaine C. Ozone treatment in a wind tunnel for the reduction of airborne viruses in swine buildings. *Aerosol Science and Technology*. 2020 Dec 1;54(12):1471–8.
- Wang IJ, Chen YC, Su C, Tsai MH, Shen WT, Bai CH, et al. Effectiveness of the Nanosilver/TiO<sub>2</sub>-Chitosan Antiviral Filter on the Removal of Viral Aerosols. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*. 2021 Sep 1;34(5):293–302.
- Wang S, Schoenitz M, Grinshpun SA, Yermakov M, Dreizin EL. Biocidal effectiveness of combustion products of iodine-bearing reactive materials against aerosolized bacterial spores. *Journal of Aerosol Science*. 2018 Feb;116:106–15.
- Wen Z, Lu J, Li J, Li N, Zhao J, Wang J, et al. Determining the filtration efficiency of half-face medical protection mask (N99) against viral aerosol. *Aerobiologia*. 2010 Sep;26(3):245–51.
- Wen Z, Yu L, Yang W, Hu L, Li N, Wang J, et al. Assessment the protection performance of different level personal respiratory protection masks against viral aerosol. *Aerobiologia*. 2013 Sep;29(3):365–72.
- West TE, Frevert CW, Liggitt HD, Skerrett SJ. Inhalation of *Burkholderia thailandensis* results in lethal necrotizing pneumonia in mice: a surrogate model for pneumonic melioidosis.
- Woo MH, Hsu YM, Wu CY, Heimbuch B, Wander J. Method for contamination of filtering facepiece respirators by deposition of MS2 viral aerosols. *Journal of Aerosol Science*. 2010 Oct;41(10):944–52.
- Wood JP, Calfee MW, Clayton M, Griffin-Gatchalian N, Touati A, Egler K. Evaluation of peracetic acid fog for the inactivation of *Bacillus anthracis* spore surrogates in a large decontamination chamber. *Journal of Hazardous Materials*. 2013 Apr;250–251:61–7.
- Zuo Z, Kuehn TH, Verma H, Kumar S, Goyal SM, Appert J, et al. Association of Airborne Virus Infectivity and survivability with its Carrier Particle Size. *Aerosol Science and Technology*. 2013 Apr;47(4):373–82.

