



EIGENSCHAPPEN VAN UITGEADEMDE AEROSOL DEELTJES MET SARS-COV-2 EN DE EFFECTEN VAN DE OMGEVING DAAROP

Programmalijn VI

Levensvatbaarheid en infectiviteit virusdragende aerosolen

Projectnummer 060.51323

DATUM	13 mei 2024
AUTEURS	A. Paauw en L.M. Hornstra
ORGANISATIE	TNO – TNO 2023 R11579

INHOUD

Samenvatting	3
1 Inleiding	5
2 Achtergrond SARS-CoV-2	9
2.1 SARS-CoV-2	9
3 Uitgeademde aerosolen	10
3.1 Deeltjes grootteverdeling uitgeademde aerosolen	10
3.2 Initieel gedrag van uitgeademde aerosol deeltjes	13
3.3 De biologische en chemische samenstelling van uitgeademde humane aerosol deeltjes	14
4 SARS-CoV-2 in uitgeademde aerosol deeltjes	16
4.1 Aantal virusdeeltjes in de luchtwegen	16
4.2 Aantal (infectieuze) uitgeademde virusdeeltjes	17
4.3 Aantal virusdeeltjes in een aerosol	21
4.4 Overleven van SARS-CoV-2 in een uitgeademde aerosol	22
4.5 Natuurlijke vs laboratorium virus aerosolisatie	22
5 Conclusies	24
6 Discussie	26
7 Referenties	30

SAMENVATTING

De aanzienlijke inspanningen die wereldwijd nodig waren om de SARS-CoV-2 pandemie onder controle te krijgen, maakten duidelijk dat er hiaten zijn in de kennis op het gebied van de transmissie van respiratoire virussen in het algemeen en die van SARS-CoV-2 in het bijzonder. De transmissie van SARS-CoV-2 via aerosol deeltjes is een nog deels onbegrepen en moeilijk te beheersen infectieroute. Door hier een beter begrip van te krijgen, kan in de toekomst beter onderbouwd worden waarom welke maatregelen genomen moeten worden om virusverspreiding adequaat in te perken. Het doel van deze studie is om de verkregen informatie uit de literatuur te verzamelen, te analyseren en te gebruiken om, op wetenschappelijke basis, methoden te ontwikkelen waarmee uiteindelijk door experimenteel onderzoek, belangrijke parameters in de aerogene transmissie route van SARS-CoV-2 kunnen worden bepaald. Uiteindelijk moet dit leiden tot wetenschappelijke onderbouwing van de te nemen maatregelen om aerogene transmissie van SARS-CoV-2 tegen te gaan. Op basis van de aldus uitgevoerde literatuurstudie kunnen we concluderen dat: De aard van de respiratoire activiteit (zoals ademen, praten, hoesten en zingen) van de uitademende besmette persoon bepaalt de grootte verdeling van de vrijkomende aerosol deeltjes. Echter, ondanks de verschillen per type respiratoire activiteit zijn de uitgescheiden deeltjes voor het merendeel kleiner dan $<10\ \mu\text{m}$ en een groot deel zelfs $<1\ \mu\text{m}$ ongeacht de aard van de respiratoire activiteit. De snelheid waarmee een uitgeademd aerosoldeeltje wordt uitgescheiden is, bij een normale ademhaling, initieel ongeveer 6 cm per seconde. Voor SARS-CoV-2 is het nog niet duidelijk hoe de virusdeeltjes verdeeld zijn over de verschillende uitgestoten aerosol deeltjes van verschillende grootte. Wel kan worden aangenomen dat hoe hoger de virus concentratie in de luchtwegen aanwezig is, hoe hoger het aantal virus bevattende aerosol deeltjes. Ook is het duidelijk dat de virus deeltjes verdeling in de aerosol deeltjes niet alleen bepaald wordt door de grootte van de aerosol. Ook de herkomst van de aerosolen is van invloed op het aantal virussen in de aerosol. De samenstelling van uitgeademde aerosolen is beschreven bij de verschillende activiteiten van het ademhalingssysteem, (zoals ademen, praten, hoesten en zingen). De samenstelling is afhankelijk van de herkomst van de aerosol; mogelijke bronnen zijn de bronchiën, larynx of mond. De aerosol zal dan initieel dezelfde samenstelling hebben als de slijm / mucosa laag op deze locaties in het ademhalingssysteem. Informatie over de effecten op de virusdeeltjes bij een verblijf in de lucht van aerosol deeltjes is beperkt beschikbaar. Bekend is dat een aerosol deeltje snel indroogt tot een residu partikel. Over hoe lang een virus deeltje of deeltjes in zo'n residu nog infectieus blijft is nog te weinig informatie voorhanden om daar betrouwbaar conclusies aan te verbinden. Op basis van de bestudeerde wetenschappelijke publicaties en onze interpretatie daarvan, dragen de bevindingen van deze literatuurstudie bij aan opzetten van de volgende experimenten;

1. Het genereren van aerosol deeltjes in een vergelijkbare grootteverdeling zoals deze ook uitgeademd worden door mensen.
2. Het bepalen van het aantal virusdeeltjes in aerosol deeltjes van verschillende grootte.
3. Het bepalen in welke mate omgevingscondities, zoals bijvoorbeeld een hogere relatieve luchtvochtigheid de infectiviteit van virussen in aerosol deeltjes beïnvloeden.

De opgedane kennis uit ons onderzoek zal in de toekomst helpen uitbraak mitigerende maatregelen te optimaliseren en zorgen voor beter begrip bij de keuzes die gemaakt worden om een optimale balans te creëren tussen de ziektelast en leefbaarheid in onze samenleving.

1 INLEIDING

Het onderzoeksprogramma Pandemische Paraatheid en Ventilatie (P3Venti) is ontwikkeld om toepasbare kennis op te bouwen over de rol van verspreiding van virussen en andere pathogenen door de lucht (aerogene route). Het doel is om de effectiviteit van inzet van ventilatie als mitigatiemaatregel te kunnen vergroten. Een belangrijk kennishiaat betreft de relatie tussen de afstand die virus bevattende aerosolen kunnen overbruggen met behoud van het besmettelijke vermogen en het effect van ventilatie daarop.

De doelstelling van programmalijn VI in P3Venti is om de infectiviteit (besmettelijkheid) van virus dragende aerosolen te bepalen in relatie tot tijd, heersende condities en initiële grootteverdeling. Om een basis te leggen voor het praktische onderzoek is deze literatuurstudie uitgevoerd met als doel om uiteindelijk op wetenschappelijke basis methoden te kunnen ontwikkelen waarmee op termijn belangrijke parameters in de aerogene transmissie route van SARS-CoV-2 kunnen worden bepaald.

Een infectie met een virus treedt op wanneer een virus er in slaagt zich te repliceren in een gastheer cel, vervolgens weer andere cellen infecteert en er zo een cyclus ontstaat waarbij steeds meer cellen geïnfecteerd raken. Bij SARS-CoV-2 verloopt de besmetting via inademing van virus bevattende aerosol deeltjes welke via de luchtwegen het long epitheel in de longblaasjes infecteren. Wanneer de geïnfecteerde persoon niet afdoende immuniteit heeft tegen het virus zal de virus concentratie toenemen totdat er een immuun respons opgewekt is waarmee virusverspreiding in het lichaam afneemt. SARS-CoV-2 kan op verschillende manieren worden overgedragen. Dit kan in vorm via aerosol deeltjes van verschillende grootte, druppeltjes en direct of indirect contact met een oppervlak wat besmet is met een infectieus virus ^{1,2,3,4,5,6}. Omdat de transmissie van SARS-CoV-2 via aerosolen een moeilijk te controleren infectieroute is, is het van belang om te bepalen onder welke omstandigheden SARS-CoV-2 via aerosolen overdraagbaar is ⁷, zodat in de toekomst tegenmaatregelen te optimaliseren zijn om de ziektelast van SARS-CoV-2 en andere lucht overdraagbare virussen te minimaliseren met zo min mogelijk consequenties voor de leefbaarheid in onze samenleving.

Aerogene transmissie van SARS-CoV-2 is op te delen in een aantal stappen (Figuur 1), welke achtereenvolgens maar ook gelijktijdig kunnen plaatsvinden. Belangrijke kennisvragen bij de transmissie van SARS-CoV-2 via aerosol deeltjes zijn;

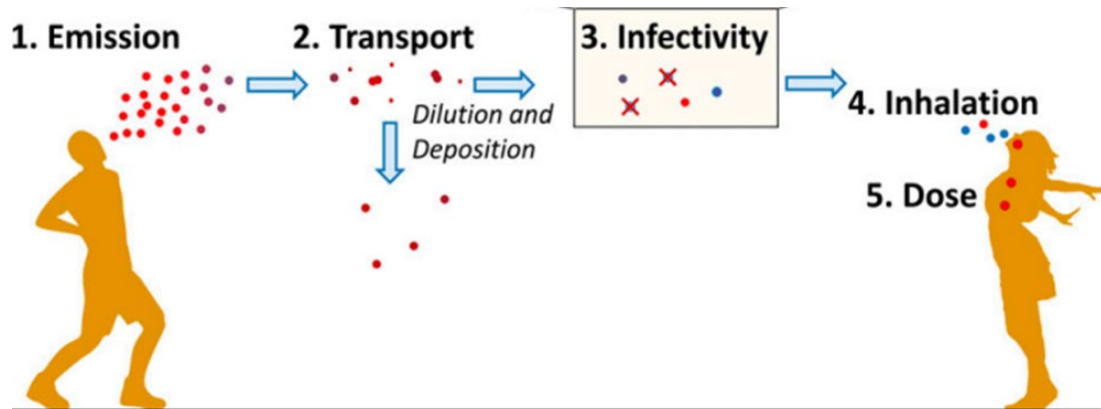
Emissie; hoeveel virusdeeltjes komen er vrij en hoe zijn deze deeltjes verdeeld over de verschillende uitgescheiden partikeltjes (aerosol deeltjes / druppeltjes); welke factoren bepalen de deeltjesgrootte?

Transport; welke factoren spelen een rol bij het verblijf in de lucht voordat deze een vatbaar persoon bereikt.

Infectiviteit / besmettelijkheid; hoe infectieus zijn de verschillende virusdeeltjes onder verschillende omstandigheden?

Inhalatie; hoeveel levensvatbare virusdeeltjes bereiken dat gedeelte van de luchtwegen waar ze de humane cellen binnendringen en infecteren?

Dosis; hoeveel infectieuze virusdeeltjes zijn er nodig om een persoon te infecteren?



Figuur 1. Transmissie van respiratoire virussen via aerosol deeltjes. 1) Emission (Emissie), Virus kan worden uitgestoten bij hoesten, niezen, zingen, praten of gewoon ademen. 2) Transport, tijdens het verblijf in de lucht verdunnen de aerosol deeltjes zich, interacteren met de omgeving en zullen aerosol deeltjes zich hechten aan oppervlaktes (bv. grond, tafels, muren). 3) Infectivity (infectiviteit / overdraagbaarheid / besmettelijkheid), gedurende het gehele transmissie traject worden de aerosol deeltjes blootgesteld aan externe factoren die de besmettelijkheid van het virus verminderen. 4) Inhalation (inademen), de virus bevattende aerosol deeltjes worden ingeademd en de persoon die deze inademt raakt “besmet”. 5) Dose (Dosis), het aantal virus bevattende aerosol deeltjes wat nodig is om een infectie te veroorzaken bij de besmette persoon. (Figuur uit PNAS Löndahl and Alsvéd ²).

Ten aanzien van de **emissie** is het belangrijk om te weten: Hoeveel virus wordt er uitgescheiden door de geïnfecteerde persoon onder de verschillende type activiteiten van het ademhalingsstelsel (zoals bij ademen, praten, zingen, hoesten en niezen), en wat zijn de karakteristieken van deze uitgescheiden aerosol deeltjes? Bijvoorbeeld hoeveel virusdeeltjes zitten er in één aerosol deeltje? Wat zijn de chemische en biologische componenten in de aerosol, en is er een relatie tussen de componenten in een aerosol en het overleven van een virus daarin.

Bij **transport**, het verblijf van de aerosol met één of meerdere virusdeeltjes daarin, is het belangrijk om te weten wat de effecten van de omgeving op de aerosol zijn, en of dit van invloed is op de infectiviteit van de virusdeeltjes in de aerosol. Het transport vermindert de **infectiviteit (besmettelijkheid)** van het virus aanzienlijk ^{2,8,9}. Echter, de COVID pandemie heeft laten zien dat SARS-CoV-2 zich nog relatief gemakkelijk verspreidt bij maatregelen die contact besmettingen en besmettingen over korte afstanden moeten voorkomen. De aerogene transmissie van SARS-CoV-2 vindt plaats ondanks dat een deel van de uitgeademde virusdeeltjes snel geïnactiveerd wordt na uitademing ⁸. Indien de besmettelijke persoon aanwezig blijft zal in een niet geventileerde ruimte het aantal infectieuze virusdeeltjes over de tijd toenemen en daardoor de kans op een besmetting van vatbare individuen vergroten ^{2,10,11}. Immers elke inademing van een infectieus virusdeeltje leidt tot een kans dat een gastheer cel geïnfecteerd wordt en zo een infectie start. Mogelijk leidt niet elke infectie van de gastheer cel door een virus tot ziekte maar het penetreren van de gastheer cel is wel de minimale barrière die doorbroken moet worden om tot ziekte te kunnen leiden.

Het doel van deze literatuurstudie is om op wetenschappelijke basis methoden te kunnen ontwikkelen waarmee uiteindelijk belangrijke parameters van de SARS-CoV-2 aerogene transmissie route zijn te bepalen. Hierbij richten we ons voor deze literatuurstudie specifiek op informatie die vooral van belang is bij het genereren van realistische virus bevattende aerosol deeltjes en de effecten van de omgeving daarop. Per paragraaf is gezocht naar geschikte wetenschappelijke artikelen in PubMed. Artikelen werden op inhoud beoordeeld en bij bevindingen werd onderzocht of er additionele wetenschappelijke artikelen zijn gepubliceerd die deze bevindingen ondersteunen.

Belangrijke onderdelen zijn:

Welke grootte en snelheid hebben aerosol deeltjes afkomstig uit het ademhalingsstelsel bij verschillende activiteiten, en welke omgevingsfactoren hebben welke effecten op deze uitgestoten aerosol deeltjes?

Welke aerosol deeltjes bevatten infectieuze virussen en kunnen als zodanig een rol spelen in de aerogene transmissieroute?

Is er informatie over de samenstelling van aerosolen afkomstig uit het ademhalingsstelsel, en wat is het effect daarvan op de infectiviteit van SARS-CoV-2?

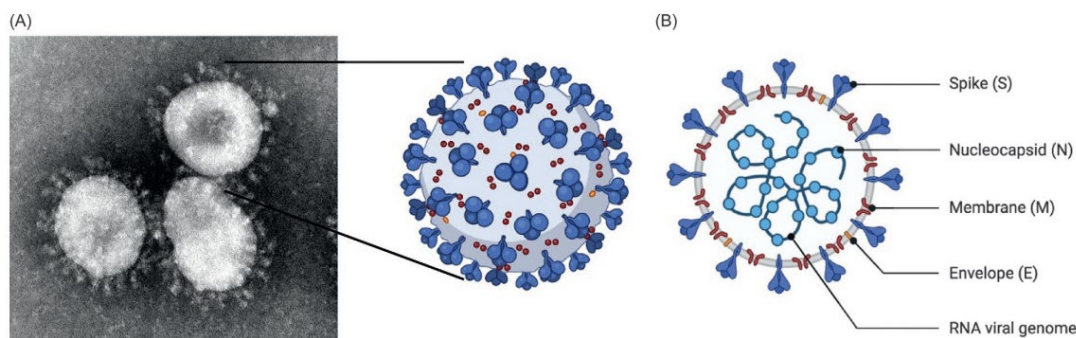
2 ACHTERGROND SARS-COV-2

2.1 SARS-CoV-2

De familie waar *SARS-CoV-2* toe behoort, de *Coronaviridae*, is opgedeeld in vier subfamilies; alfa, beta, gamma en delta. Humaan pathogene Coronavirussen zijn afkomstig uit de alfa of beta-subfamilie. *SARS-CoV-2*, *SARS-CoV*, *MERS-CoV* en minder pathogene *human Coronavirus OC43* en *human Coronavirus HKU1* zijn allemaal beta-Coronaviridae, terwijl *human Coronavirus 229E* en *human Coronavirus NL63* behoren tot de alfa-Coronaviridae ¹².

SARS-CoV-2 evolueert tijdens het verloop van een pandemie. Deze genetische en daarop soms fenotypische veranderingen kunnen ook bepalend zijn voor de aerogene transmissie van *SARS-CoV-2*. De voorouderlijke Wuhan virusstam en varianten waren minder overdraagbaar dan de later dominante *SARS-CoV-2*-varianten zoals Alpha, Delta en Omicron ¹³.

SARS-CoV-2 bestaat net als andere Coronavirussen uit een biomembraan-omhuld virus met spikes. De spikes worden gevormd door 3 glycoproteïnen die een trimeer vormen (S) (Figuur. 1). Het virusgenoom is een enkelvoudig plusstrengs RNA-molecuul dat is gebonden aan nucleoproteïnen (N) wat de kern van het virus vormt (Figuur. 2) ¹².



Figuur 2. Coronavirus morfologie en structuur. (A) 3 SARS-CoV-2-deeltjes (CDC/ Dr. Fred Murphy—elektronen microscopisch beeld is afkomstig van Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library (PHIL), identificatie nummer #4814. (B) Weergave van de structuur van SARS-CoV-2. Het genomische RNA vormt een complex met nucleoproteïnen in de kern van het virusdeeltje. Spike (S), envelop (E) en membraan (M) eiwitten zijn ingebed in de envelop van het virus ¹². Figuren zijn afkomstig uit het publieke domein.

De diameter van één SARS-CoV-2 deeltje is ongeveer 100 nm, waarbij meetresultaten tussen de verschillende wetenschappelijke publicaties variëren tussen 60 nm – 140 nm ^{14,15}.

3 UITGEADEMDE AEROSOLEN

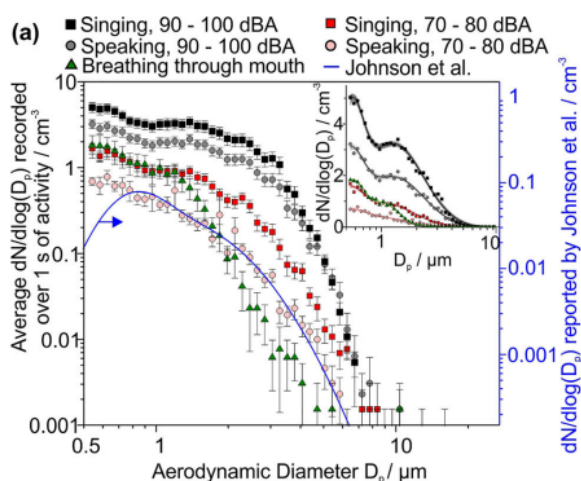
3.1 Deeltjes grootteverdeling uitgedemde aerosolen

Bij ademen, praten, zingen, niezen en/of hoesten komen aerosol deeltjes vrij ("uitgedemde aerosol deeltjes") waarin bij een geïnfecteerd persoon de aerosol deeltjes virusdeeltjes kunnen bevatten. In tabel 1 wordt een overzicht gegeven van de verschillende grootteverdelingen van uitgedemde aerosol deeltjes afhankelijk van het type activiteit van het ademhalingsstelsel. De meerderheid van de uitgescheiden uitgedemde aerosol deeltjes is $<5 \mu\text{m}$ en bij een groot deel van de activiteiten van het ademhalingsstelsel zoals ademen, praten en hoesten is een groot deel van de uitgedemde aerosol deeltjes $<1 \mu\text{m}$ (Figuur 3 en 4) ^{7,16,17,18,19}.

Tabel 1 Emissie eigenschappen bij ademen, hoesten, praten en niezen ¹⁹.

Emissie tijdens	Grootte verdelingsparameters	Aantal emissies ^a	Referenties
Ademen	CMD = $1,6 \mu\text{m}$; GSD = 1,3	14 s^{-1} (continue)	Johnson <i>et al.</i> ¹⁸
Hoesten	CMD = $14 \mu\text{m}$; GSD = 2,6	28 s^{-1} (10 hoest/h)	Duguid <i>et al.</i> ²⁰
Praten	CMD = $4 \mu\text{m}$; GSD = 1.6	270 s^{-1} (5 min/h)	Johnson <i>et al.</i> en Alsved <i>et al.</i> ^{18,21}
Niezen	GM = $8,1 \mu\text{m}$; GSD = 2,3	2778 s^{-1} (10 niezen/h)	Duguid <i>et al.</i> ²⁰

CMD= Count median diameter, GSD=geometrische standaard deviatie ^aLangdurige gemiddeld aantal aerosol deeltjes die per seconde worden uitgescheiden.

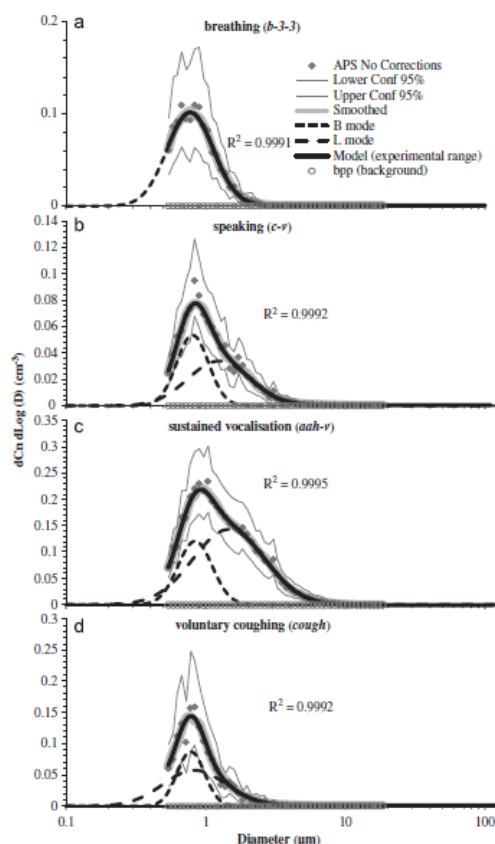


Figuur 3. Vergelijking van de grootte verdeling tussen ademen (driehoekjes), zingen (vierkantjes) en praten (cirkels) bij verschillende geluidsniveaus. De blauwe lijn is de grootteverdeling zoals als gerapporteerd door Johnson *et al.* ¹⁸. De figuur in de figuur is dezelfde data op een lineaire schaal ¹⁷.

Uitgestoten aerosol deeltjes kunnen van drie bronnen afkomstig zijn: 1) de *bronchiale* bron, hier ontstaan kleine aerosol deeltjes vanuit het dunne bronchiale vloeistof laagje wat over de humane cellen ligt door de luchtstroom die over de bronchiale vloeistof gaat bij uitademing. 2) *laryngeale* bron, hier ontstaan aerosol deeltjes voornamelijk door de trillingen die ontstaan bij praten, zingen en hoesten. 3) de *orale* bron, waarbij ook grote aerosol deeltjes vrijkomen, welke kunnen ontstaan bij praten of hoesten ^{18,22}

Bij praten ontstaan aerosol deeltjes afkomstig uit alle drie de mogelijke bronnen waarbij de gemiddelde deeltjes grootte van uit de *bronchiale*, *laryngeale* en *orale* bron respectievelijk 1,6, 2,5 en 145 μm zijn. Bij hoesten is er een soortgelijk beeld in de grootteverdeling ^{18,22}.

De aerosol deeltjes afkomstig uit de orale bron welke groter zijn dan 100 μm spelen mogelijk alleen een rol in aerogene transmissie als de lucht geforceerd gecirculeerd wordt. Deze grote aerosol deeltjes spelen een grotere rol in andere transmissie routes en zijn voor het bestuderen van de aerogene transmissie route minder relevant. Daarom zijn in deze literatuur studie de eigenschappen en het gedrag van dit type deeltjes niet verder beschreven.



Figuur 4. Niet gecorrigeerde grootteverdeling; a) ademen; Inademen van een normaal volume via de mond gedurende 3 sec., onmiddellijk gevolgd door diepe uitademing via de mond gedurende 3 sec. gedurende 2 min. b) praten; Afwisselend 10 sec. hardop tellend en 10 sec. op een natuurlijke manier ademen (2 min. per monster). c) zingen; Afwisselend 10 sec. zingen (geluid "aah") en 10 sec. op een natuurlijke manier ademen (2 min. per monster). d) lichte hoest; gedurende 30 sec. hoesten door een gezonde vrijwilliger. (Johnson et al./Journal of Aerosol Science 42(2011)839–851) ¹⁸.

3.2 Initieel gedrag van uitgeademde aerosol deeltjes

Verschillen per persoon in het respiratoire systeem maken het analyseren van de eigenschappen van uitgeademde aerosol deeltjes complex. De complexiteit wordt veroorzaakt door individuele verschillen in anatomie, gezondheid en inspanning wat invloed heeft op de snelheid, grootte maar ook de samenstelling van uitgeademde aerosol deeltjes ²³. Bij een onderzoek met 10 willekeurige vrijwilligers werd de snelheid van uitgeademde lucht, met hierin de aerosoldeeltjes, bepaald op een korte afstand van de neus (Tabel 2) ²³.

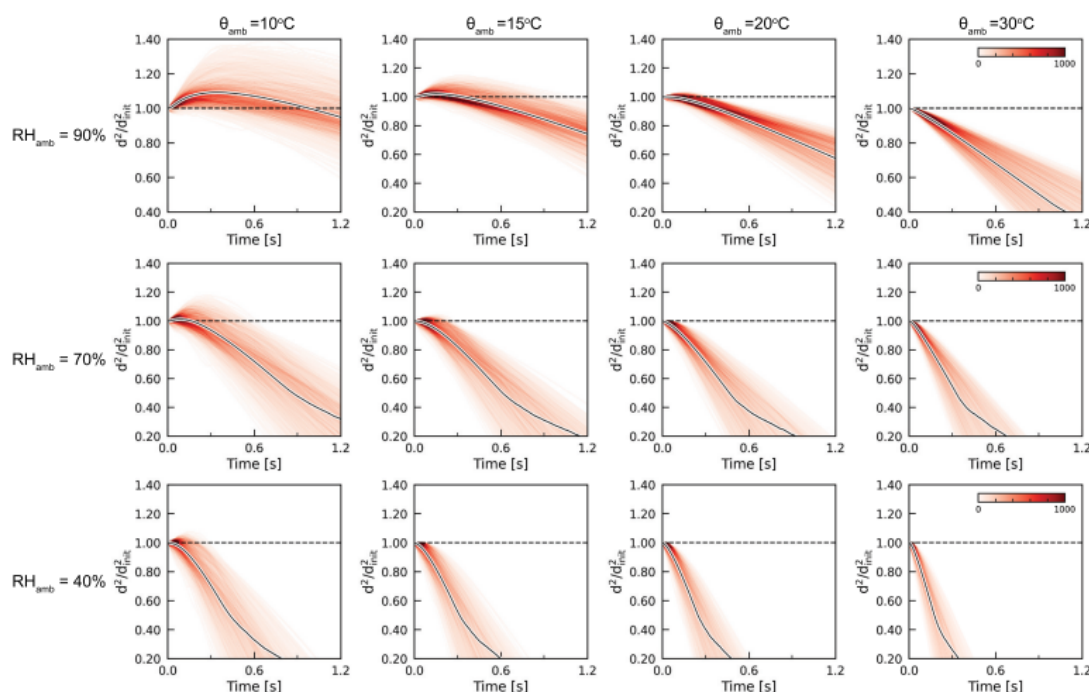
Tabel 2. Gemeten respiratoire luchtstroom snelheden, gemiddelde van tien vrijwilligers.

Afstand tot de neus		5 cm	10 cm	15 cm	20 cm	25 cm
Gemiddelde snelheid (m/s)		0,060	0,063	0,054	0,044	0,037
Maximum snelheid (m/s)		0,150	0,200	0,150	0,100	0,100
Minimum snelheid (m/s)		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Standaard deviatie (m/s)		0,005	0,009	0,005	0,003	0,005

Uit: Ivanov M. Exhaled air speed measurements of respiratory air flow, generated by ten different human subjects, under uncontrolled conditions ²³.

Na 5 cm is de gemiddelde snelheid van de uitgeademde lucht 0,060 m/sec en na 25 cm is de gemiddelde snelheid nog 0,037 m/sec en zal dan langzaam verder afnemen. Op een gegeven moment zal de beweging van de aerosoldeeltjes vooral worden gedomineerd door de Brownse beweging of de lokale convectieve luchtstroming. Afhankelijk van een aantal parameters (o.a. luchtvochtigheid, viscositeit, temperatuur en bevattende stoffen) zal na de uitademing een aerosoldeeltje onder normale omstandigheden (relatieve luchtvochtigheid van minder dan 70% en een temperatuur van 20°C of hoger) indrogen tot een residu-partikel.

In een studie waar het gedrag van waterige aerosol deeltjes na uitscheiding wordt gesimuleerd is te zien dat bij kamertemperatuur en een relatieve luchtvochtigheid van 70% of lager de grootte binnen 1 seconde afneemt naar 0.2x de originele grootte bij 15 µm deeltjes (Figuur 5) ²⁴. Eén seconde na uitademing is een aerosol maximaal 20 cm verwijderd van de neus als er door de neus uitgeademd wordt ²³, wat aangeeft hoe snel een waterige aerosol uitdroogt onder normale omstandigheden. In deze studie is uitgegaan van 15 µm aerosol deeltjes terwijl de aerosol deeltjes van uitgeademde lucht in het algemeen veel kleiner zijn (Figuur 3 en 4). Ook wordt de indroging van een aerosoldeeltje afkomstig van uitgeademde lucht beïnvloed door de samenstelling (bv. virusdeeltjes, bacteriën, humane eiwitten, opgeloste organische of anorganische stoffen). Beide factoren (kleiner volume en materie in de aerosol) beïnvloeden de mate van indroging van een aerosol deeltje.



Figuur 5. Uit; Growth of respiratory droplets in cold and humid air ²⁴. Modelling van het effect van temperatuur en luchtvochtigheid op een waterig aerosol met een diameter van 15 μm . Bij hoge luchtvochtigheid en 10°C neemt de grootte initieel toe. Onder normale indoor omstandigheden zal de grootte snel afnemen.

In een indoor situatie zijn de belangrijkste factoren die invloed hebben op de uitgeademde aerosol deeltjes de relatieve luchtvochtigheid, temperatuur en eventueel geïnstalleerde luchthuishoudingsapparatuur ²³. P3Venti richt zich op aerogene transmissie in een binnenomgeving. Daardoor kunnen we aannemen dat de relatieve vochtigheid onder de 70% is en de temperatuur rond de 22°C ^{25,26}. In de buitenlucht zijn er bepalende factoren waardoor een virus in een aerosol snel geïnactiveerd wordt. Ultraviolet licht inactieveert het virus en een uitgeademde aerosolwolk dijt snel uit in de buitenlucht. De snelle inactivatie in de buitenlucht in combinatie met de zeer snelle verdunning verkleint de kans dat infectieuze virusdeeltjes een eventuele gastheer bereiken en kunnen besmetten.

3.3 De biologische en chemische samenstelling van uitgeademde humane aerosol deeltjes

Zoals eerder benoemd, wordt de indroging van een aerosol deeltje ook beïnvloed door de samenstelling. De belangrijkste componenten in aerosol deeltjes van uitgeademde lucht zijn zouten, eiwitten en surfactanten (lipiden). Veel voorkomende eiwitten in het respiratoire systeem zijn mucines, lysozym, lactoferrine en immunoglobulinen IgA, welke waarschijnlijk ook veel in uitgeademde aerosol

deeltjes terecht komen ²². Echter er zijn grote verschillen in soorten en concentraties van de chemische en biologische stoffen per bron (bronchiale, tracheale of orale) van het respiratoire systeem. Ook verandert de samenstelling van de mucus/vloeistof laag als gevolg van reactie op ziekte en infecties. De aanwezigheid van opgeloste stoffen zorgt ervoor dat na indrogen een residu-partikel achterblijft. Indien dit deeltje zouten bevat, dan zal door een hygroscopische werking ook een bepaald vochniveau in het residu-partikel achterblijven. De samenstelling van het aerosol deeltje heeft ook invloed op de eventueel aanwezige infectieuze virusdeeltjes. Zo zouden andere componenten in het aerosol deeltje een viruspartikel kunnen afschermen van de atmosfeer. De kennis ten aanzien van de effecten van de aerosol samenstelling op een virusdeeltje is nog incompleet. Samengevat; de samenstelling van de uitgeademde lucht wordt bepaald door het individu, de conditie van het individu en de bron van de aerosol, waarbij de bron van de aerosol ook afhankelijk is van de respiratoire activiteit van de persoon

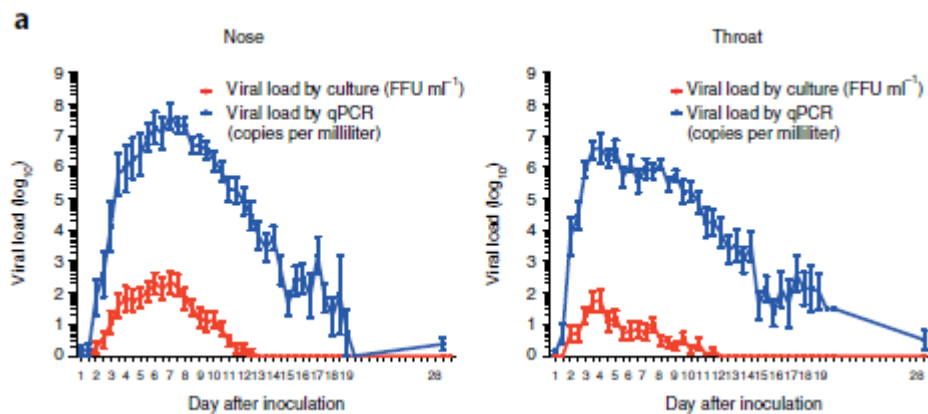
^{22,27}.

4 SARS-COV-2 IN UITGEADEMDE AEROSOL DEELTJES

4.1 Aantal virusdeeltjes in de luchtwegen

Het aantal virusdeeltjes dat kan worden uitgescheiden is afhankelijk van het aantal virusdeeltjes in het respiratoire systeem. Deze hoeveelheid is afhankelijk van een groot aantal factoren waaronder de aard van het virus zelf, de ernst en het stadium van de ziekte en de gevoeligheid van de besmette persoon. Voor de onderhavige studie is met name de fase waarin de ziekte zich bevindt, onder meer bepaald door de tijd na besmetting van belang (Figuur 6). In een studie waarbij vrijwilligers besmet werden met SARS-CoV-2, blijkt dat tussen de 2 en 6,5 dagen na besmetting nog steeds infectieus virus aantoonbaar is in klinische monsters ²⁸. Het hoogste aantal virusdeeltjes in neus en keel waren respectievelijk $7,9 \times 10^3$ en $8,3 \times 10^2$ plaque vormende eenheden/ml (plaque forming units; pfu/ml) en $7,9 \times 10^8$ en $5,0 \times 10^7$ RNA kopieën/ml²⁸. Daarbij moet opgemerkt worden dat tijdens de testprocedure het monster, een afgenomen swab, in 3 ml bewaarmedium wordt geplaatst waardoor het monster 30–100x verdund wordt. Omdat er niet gecorrigeerd wordt voor deze verdunningsfactor zal de werkelijke concentraties van het virus in de mucus/ speeksel een factor 30-100 hoger zijn dan de test resultaten aangeven.

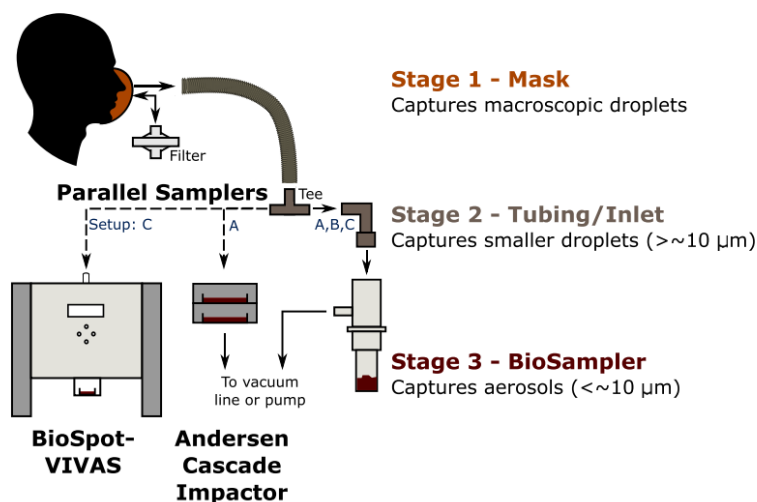
De studie laat ook zien dat de piek van de symptomen, na circa 4,5 dagen, ongeveer gelijk is aan wanneer de meeste virusdeeltjes in klinisch materiaal aanwezig zijn. In deze studie wisselden de symptomen, die tussen de 2 a 3 dagen begonnen, van mild naar gemiddeld en werd er niemand ernstig of langdurig ziek. De studie laat ook zien dat mensen besmettelijk zijn ongeacht de ernst van de klachten ²⁸.



Figuur 6. Aantal virusdeeltjes per milliliter bewaarmedium gedurende de verloop van een infectie met SARS-CoV-2 bij vrijwilligers ²⁸.

4.2 Aantal (infectieuze) uitgedemde virusdeeltjes

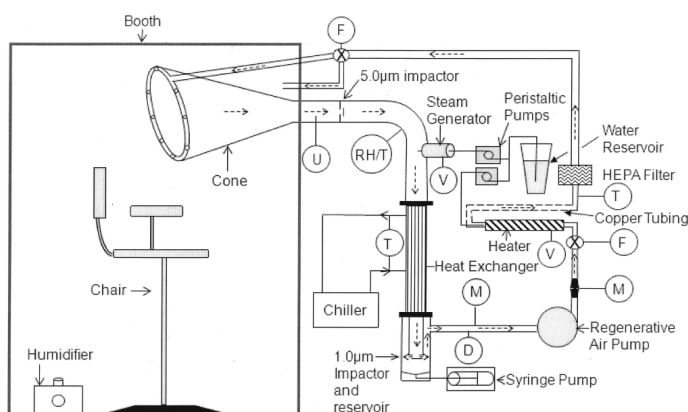
Er zijn een aantal studies uitgevoerd waarbij bepaald werd hoeveel virus er via de luchtwegen uitgescheiden wordt door een SARS-CoV-2 geïnfecteerde patiënt. In een studie van Johnson *et al.* waar geselecteerd werd op personen die veel virusdeeltjes in de luchtwegen hebben (tot 1.8×10^4 PFU/ml aangetoond via nasopharynx-swab-monster), werden tot 4.8×10^5 gen kopieën/mL in aerosols van 0.65 tot 7 μm aangetoond in opgevangen uitgedemde luchtmonsters (ULM) (Figuur 7) ²⁹. Echter infectieus virus kon niet worden aangetoond in de opgevangen monsters met een viruskweek. Het aantonen of virussen in aerosol deeltjes nog infectieus zijn is complex en de gebruikte methoden, zoals beschreven in Figuur 7 en 8 en de studies van Lai *et al.*, Johnson *et al.*, McDevitt *et al.*, Yan *et al.* and Adenaiye *et al.* zijn hierin vaak niet erg succesvol ^{13,29-31,32}.



Figuur 7. Schematische presentatie van de aerosol monsternamen door Johnson et al. om het aantal PFU in uitgeademde lucht te bepalen ²⁹. A,B,C staan voor de verschillende gebruikte configuraties. Tee-stuk wordt gezien als methode om te voorkomen dat $\geq 10 \mu\text{m}$ deeltjes in het monster terecht komen.

In een andere studie waar ook de uitgeademde lucht werd opgevangen kon het virus worden opgekweekt uit 4 van de 31 uitgeademde lucht monsters ¹³. Drie keer werd het virus (2 Delta en 1 Omicron) opgekweekt uit de *fine* fractie ($\leq 5 \mu\text{m}$) met aerosol deeltjes en 1 keer werd het virus (Omicron) opgekweekt uit fractie met grotere ($> 5 \mu\text{m}$) aerosol deeltjes. In 66% (21/32) van de deelnemers aan het onderzoek kon in ULM SARS-CoV-2 RNA worden aangetoond. In de $> 5 \mu\text{m}$ aerosol fractie varieerden de concentraties van niet-detecteerbaar tot 1.8×10^5 RNA kopieën per ml monster en in de $\leq 5 \mu\text{m}$ aerosol fractie varieerden de concentraties van niet-detecteerbaar tot 1.8×10^7 RNA kopieën per ml monster. Gemiddeld was de RNA concentratie in de $\leq 5 \mu\text{m}$ aerosol fractie vijf keer hoger dan in de $> 5 \mu\text{m}$ aerosol fractie per ml monster ¹³. De bemonstering en monsterverwerking van $> 5 \mu\text{m}$ en $\leq 5 \mu\text{m}$ fracties waren erg verschillend ³¹. Zo werden de opgevangen fracties van $\leq 5 \mu\text{m}$ geconcentreerd naar 1 ml met ultracentrifugatie, terwijl de $> 5 \mu\text{m}$ fracties met een watje van de impactor werden opgenomen en vervolgens geresuspendeerd in 1 ml medium ¹³. Hierdoor is het moeilijk om de verschillen tussen deze twee fracties met elkaar te vergelijken. Echter, de waarnemingen van hogere concentraties RNA in de kleinere fracties past bij het belangrijkste mechanisme van het ontstaan van respiratoire aerosolen uit de bronchiale en laryngeale bron. Deze zogenaamde "bubble film burst", het uitbreken van aerosol deeltjes uit het vloeistoflaagje in de bronchiën en/of het larynx gedeelte, concentreert de virussen orders van grootte ¹³. In een review van Wang *et al.* wordt aangegeven dat andere virussen (Influenza A of B, parainfluenza virus, coronavirussen, hRSV of RSC) ook verrijkt voorkomen in de kleinere aerosol deeltjes ($\leq 5 \mu\text{m}$) ^{16,33}.

Het gebruikte systeem om uitgeademde lucht te bemonsteren, het G-II exhaled breath bioaerosol collection system (G-II) was eerder voor soortgelijke studies met Influenza gebruikt ^{31,32}. Voor het opvangen van de fractie $\leq 5 \mu\text{m}$ wordt gebruik gemaakt van condensatie van waterdamp om de aerosol deeltjes op te vangen (Schematische presentatie G-II Figuur 8.).



Figuur 8. Uit: Development and performance evaluation of an exhaled-breath bioaerosol collector for Influenza virus ³². Diagram van de G-II exhaled breath bioaerosol collection system (U-upstream sampling location; D-downstream sampling collection; T-Temperature sensor; M-Magnehelic® pressure gauge; RH/T-relative humidity and temperature sensor; V-voltage controller; F-Flow controller).

Een studie van Adenaiye *et al.*, waarbij de efficiency van mondklappen om te beschermen tegen SARS-CoV-2 werd geëvalueerd, liet zien dat uit $\leq 5 \mu\text{m}$ aerosol fractie in 2 van de 137 uitgeademde lucht monsters SARS-CoV-2 kon worden gekweekt. Deze 2 uitgeademde luchtmonsters waren afkomstig van patiënten die tijdens het bemonsteren een mondklap droegen. Bij alle $>5 \mu\text{m}$ aerosol fracties bleef de virus kweek negatief.

In monsters vanuit de neus en speeksel kon in 68% en 32% van de genomen monsters SARS-CoV-2 worden gekweekt. In de $>5 \mu\text{m}$ aerosol fractie was het maximaal aantal RNA kopieën 5.1×10^4 en in de $\leq 5 \mu\text{m}$ aerosol fractie maximaal 5.4×10^4 RNA kopieën in één ml monster ³⁰. Monsters zijn verkregen door 30 minuten te bemonsteren waarbij de test persoon moest praten en soms zingen.

Ter vergelijking in een soortgelijke studie konden uit hetzelfde type uitgeademde luchtmonsters uit de $\leq 5 \mu\text{m}$ aerosol deeltjes fractie in 39% van de monsters Influenza worden opgekweekt. Bij de positieve monsters van de $\leq 5 \mu\text{m}$ aerosol fractie werd gemiddeld 3.8×10^4 RNA kopieën gemeten (maximaal 3.7×10^5) en bij de $>5 \mu\text{m}$ aerosol fractie gemiddeld 1.2×10^4 RNA kopieën ³¹.

In een aantal studies waarbij bemonsterd werd in de nabijheid van patiënten kon infectieus SARS-CoV-2 worden aangetoond met VIVAS-Biospot ^{6,21,34}. De VIVAS-Biospot gebruikt, net als de G-II, condensatie van waterdamp om de aerosol deeltjes met infectieus virus af te vangen. In een patiëntenkamer met 2

patiënten werd lucht bemonsterd met de VIVAS-Biospot of een prototype daarvan gedurende 3 uur. Daarmee werd SARS-CoV-2 RNA aangetoond en vanuit het opgevangen materiaal kon ook het virus opgekweekt worden. In deze studie was het aantal RNA genoom kopieën per liter lucht tussen de 1,3 - 2,7 keer het aantal infectieuze virusdeeltjes per liter lucht ⁶. Er konden tussen de 6 tot 74 levende virusdeeltjes per liter lucht worden aangetoond.

Bij een soortgelijke studie van Vass *et al.* waar de lucht bemonsterd werd in een ruimte van een student in zelfisolatie werd ook infectieus virus aangetoond. Bij twee achter elkaar genomen luchtmonsters bemonsterd op 3 meter afstand van de student werden 292 en 132 PFU en 1.58×10^3 / 7.23×10^2 RNA genoom kopieën per liter lucht aangetoond ³⁴.

In deze studie was het totaal aantal virus deeltjes (op basis van het aantal RNA genoom kopieën) per liter lucht ongeveer 5,4 keer het aantal infectieuze virusdeeltjes (PFU) per liter lucht ³⁴.

De verschillen tussen de resultaten van de Lednicky *et al.* en Vass *et al.*, laat zien dat elke situatie (patiënt in het ziekenhuis en een student in een studentenkamer) een eigen effect heeft op het aantal virusdeeltjes en de verhouding van infectieuze (PFU) en niet infectieuze (RNA genoom kopieën) virus in de lucht. Mogelijk wordt dit veroorzaakt door de verschillen in luchthuishouding, de geïnfecteerde persoon en hoever deze is in het ziekteproces.

Met een VIVAS Biospot wordt 8 L/m bemonsterd. De totale bemonstertijd was 3 uur

^{6,21,34}. Er werd dus in totaal 1440 L bemonsterd. Bij de G-II uitgeademde lucht bemonstering werd gedurende 30 minuten de uitgeademde lucht opgevangen. In rust ademt een persoon ongeveer 6 liter lucht/minuut in. Bij de G-II testen word dan ongeveer 180 L bemonsterd.

De resultaten uit bovenstaande studies laten zien dat SARS-CoV-2 vanuit aerosol deeltjes opgekweekt kan worden. Omdat de afstand van de geïnfecteerde tot de sampler 3 meter was is het zeer aannemelijk dat er in de uitgeademde aerosol deeltjes infectieuze virusdeeltjes aanwezig zijn bij SARS-CoV-2 positieve patiënten. In een review van Wang *et al.*

wordt aangegeven dat virussen (Influenza A of B, parainfluenza virus, coronavirussen, hRV of RSC) verrijkt voorkomen in de kleinere aerosol deeltjes ($\leq 5 \mu\text{m}$) ¹⁶.

Een andere studie waar in patiëntenkamers monsters werden genomen met een NIOSH BC251 persoonlijke bioaerosol cycloon sampler ondersteunt de resultaten ³⁵. De BC251 bemonstert 3,5 L/min lucht en scheidt deze in 3 grootteverdelingen uit. Deeltjes $> 4,1 \mu\text{m}$ deeltjes werden verzameld op een conische buis van 15 ml; deeltjes tussen 1 en $4 \mu\text{m}$ werden verzameld op een conische buis van 1,5 ml en deeltjes $< 1 \mu\text{m}$ werden verzameld op een filter van 37 mm diameter. De meeste SARS-CoV-2 genoom kopieën werden aangetoond op het filter waarop de $< 1 \mu\text{m}$ deeltjes werden verzameld. Ook kon in deze fractie middels viruskweek het vaakst levend virus worden aangetoond. Omdat per grootte de manier van opvangen van het virus nogal verschilde kan op basis hiervan niet worden aangetoond

dat kleine aerosol deeltjes het vaakst infectieuze virussen bevatten. Echter, resultaten suggereren dat in de kleine aerosol deeltjes infectieus virus aanwezig is.

4.3 Aantal virusdeeltjes in een aerosol

Een factor die mogelijk een rol kan spelen bij het veroorzaken van een infectie is het aantal infectieuze SARS-CoV-2 virusdeeltjes in een aerosol. Door de ophoping (door bijvoorbeeld trillingen) van virusdeeltjes in de vloeistoflaag over de longcellen voordat de aerosol deeltjes worden gevormd is de virus concentratie in het ontstane aerosol deeltje erg tijd en locatie gevoelig. Ook het aantal dagen na het begin van de infectie, en de algemene gezondheidsstatus van de persoon is mede bepalend voor het aantal virusdeeltjes in de uitgeademde aerosol deeltjes. Om de infectieuze virusdeeltjes in uitgeademde aerosolen van een bepaalde grootte goed te kunnen kwantificeren, zouden de aerosolen van uitgeademde lucht van een SARS-CoV-2 geïnfecteerd persoon zodanig verzameld moeten worden dat de aerosol deeltjes afgezonderd blijven en het aantal virusdeeltjes in de opgevangen aerosol deeltjes geteld kan worden.

In 1960 is er een praktisch onderzoek uitgevoerd waarbij Adenotype 4 virusdeeltjes na vernevelen per aerosol werden bepaald. Echter deze aerosol deeltjes waren afkomstig van een kunstmatige verneveling van een vloeistof. Bij het blootstellen van een aantal vrijwilligers aan aerosol deeltjes met Adenovirus type 4 werd opgemerkt dat deze route vaker en al bij een lagere dosis tot een infectie leidde bij vrijwilligers dan wanneer de besmetting via het neusslijmvlies werd geïnduceerd ³⁶. De gemiddelde diameter van de aerosol deeltjes was 1,5 μm van een suspensie met 1 ml $1,1 \times 10^8$ 50% Tissue Culture Infectious Dose (TCID₅₀) ($1,5 \times 10^9$ virusdeeltjes/ml). Omdat gemiddeld maar 6,6 virus deeltjes via de aerosol route bij 50% van de vrijwilligers tot een infectie leidde werd het aantal virusdeeltjes per aerosol deeltje bepaald. 1, 2, 3, 4, 5 en 6 of meer virus deeltjes werden gedetecteerd in respectievelijk 67, 11, 8, 4, 3 en 7% van de aerosol deeltjes middels elektronen microscopie ³⁶. In een andere studie werd aangetoond dat inhalatie van Influenza A bevattende aerosol deeltjes vaker tot een infectie leidt dan een blootstelling via intranasale inoculatie ^{7,37}. Bij een blootstelling aan 0.7 – 3,5 pfu via aerosol deeltjes ontwikkelde 50% van de blootgestelden een immuun respons. Voor SARS-CoV-2 zijn soortgelijke experimentele data niet bekend. Bij Cynomolgus makaken (*Macaca fascicularis*) die blootgesteld waren aan kleine aerosol deeltjes (soortgelijke grootte als mensen uitademen) met SARS-CoV-2, waarbij volgens de berekeningen ongeveer 5 tot 906 TCID₅₀ in het respiratoire systeem terechtkwam werd de infectie dosis bepaald op 52 TCID₅₀ ^{38,39}. Omdat de vatbaarheid voor een virus infectie species afhankelijk is, is dit echter niet te vertalen naar een infectie dosis voor de mens.

4.4 Overleven van SARS-CoV-2 in een uitgeademde aerosol

Vanwege de complexiteit waaruit virus bevattende aerosol deeltjes bestaat is er een kennishiaat ten aanzien van het infectieus blijven van een virus in een uitgeademd aerosol. Omdat de samenstelling van uitgeademde aerosol deeltjes afhankelijk is van de ontstaanslocatie in het lichaam en daardoor variabel is, is het effect op indroging en het infectieus blijven van een virusdeeltje in de ontstane residu-partikels onduidelijk ^{22,27}. Ten aanzien van Influenza A H1N1 is het bekend dat deze minder afhankelijk is van de heersende luchtvochtigheid om te overleven als deze aanwezig is in een aerosol met mucines ⁴⁰.

In een binnenruimte zal door de heersende luchtvochtigheid en temperatuur de grootte van aerosol deeltjes afnemen op het moment dat de aerosol wordt uitgeademd. De uitgeademde lucht met daarin de aerosol deeltjes bestaat voor meer dan 99% uit water; na uitademing komen deze deeltjes in een andere omgeving ⁴¹. Feitelijk zal door de, in vergelijking met de longomgeving, sterke afname van de luchtvochtigheid de uitgeademde aerosol snel uitdrogen tot zijn minimale grootte onder de heersende omstandigheden (zie ook paragraaf 3.2). Als de luchtvochtigheid rond deze residu-partikels onder de 50% is kristalliseren de zouten in de aerosol deeltjes en heeft de CO₂ concentratie, die van 4 a 5% afneemt naar 0,04%, door het alkalischer worden van het aerosol deeltje, mogelijk ook een effect op de infectiviteit van het virus in de aerosol ^{2,8}.

Een groot deel van de uitgeademde virussen in aerosol deeltjes zal het vermogen om andere individuen te infecteren snel (binnen seconden/minuten afhankelijk van de relatieve luchtvochtigheid) verliezen. Echter omdat in de indoor omgeving de luchtvochtigheid en temperatuur relatief stabiel zijn kunnen virussen die de eerste overgang overleven in vergelijking met een verblijf in de buitenlucht lang infectieus blijven ^{2,8}. Als de virussen vervolgens worden ingeademd worden ze opnieuw blootgesteld aan abrupt veranderende omstandigheden welke ze moeten overleven om de gastheer te kunnen infecteren ^{2,8}.

4.5 Natuurlijke vs laboratorium virus aerosolisatie

In experimenten met een Goldberg drum, waar aerosol deeltjes met virus in een gecontroleerde experimenteel vat worden verneveld, is het mogelijk om infectieuze virusdeeltjes na verloop van tijd aan te tonen. De Goldberg drum is ontwikkeld opdat aerosol deeltjes van een bepaalde grootte (2-3 µm) niet neerslaan cq. vallen. In een Goldberg drum van verschillende groottes (10,7, 16 en 30 Liter) is infectieus SARS-CoV-2 na 16 uur nog aantoonbaar ^{42,43,44}.

SARS-CoV-2 overleeft goed in een Goldberg Drum testopzet, maar het is moeilijk dit virus in de vorm van infectieuze virusdeeltjes aan te tonen in luchtmonsters van uitgeademde lucht van SARS-CoV-2 geïnfecteerde individuen. Het is nog niet gelukt om SARS-CoV-2 te vernevelen en na aerogeen transport op te vangen en daarin levensvatbare virusdeeltjes aan te tonen. Evalueren van verschillende factoren zoals sprayfactor (hoeveel virus inactieveert direct door of bij de verneveling), relatieve luchtvochtigheid, aerosol grootteverdeling, initiële concentratie van de virusdeeltjes in de bron of het ergens op sedimenteren (neerslaan) van de aerosol deeltjes, leidde niet tot een eenduidige conclusie. Fears *et al.* onderzocht de sprayfactor van drie verschillende vernevelaars (Collison 3-jet, Collison 6-jet en Aerogen Solo). De sprayfactor van de Collison 3-jet is voor SARS-CoV-2 $-5,5^{\log_{10}}$ (voor SARS-1 en MERS is de sprayfactor $\pm -6^{\log_{10}}$). De sprayfactor van 6-jet Collison en Aerogen Solo zijn vergelijkbaar (beide $\pm -10-5,3^{\log_{10}}$) ⁴². SARS-CoV-2 in artificieel speeksel bij een hoge luchtvochtigheid ($\pm 80\%$) overleefde beter in een Goldberg Drum test opzet dan bij een lagere ($\pm 50\%$) luchtvochtigheid ⁴⁴. Een mogelijke verklaring zou kunnen zijn dat de vaak zeer hoge relatieve luchtvochtigheid in de Goldberg drums de reden is waarom SARS-CoV-2 onder deze omstandigheden lang kan overleven. Oswin *et al.* geeft ook aan dat de vermindering van water in de aerosol in een Golbergdrum niet representatief is voor de snelle verlaging van de water concentratie in een aerosol na uitademen ⁸.

5 CONCLUSIES

Het doel van deze literatuurstudie is om een wetenschappelijke basis te vormen voor de ontwikkeling van methoden waarmee uiteindelijk belangrijke parameters van SARS-CoV-2 aerogene transmissie experimenteel kunnen worden bepaald. Hierbij richten we ons voor deze literatuurstudie specifiek op informatie die vooral van belang is bij het genereren van realistische virus bevattende aerosol deeltjes en de effecten van de omgeving daarop. Belangrijke bevindingen en onderzoeksvragen met huidige kennis uit literatuur zijn:

- › Afhankelijk van het type activiteit van het ademhalingsstelsel komen aerosol deeltjes vrij in een verschillende grootte verdeling. Zoals in de figuren 3 en 4 is te zien zijn deze deeltjes grotendeels kleiner dan $< 10 \mu\text{m}$ en een groot deel zelfs $< 1 \mu\text{m}$ ongeacht de activiteit van het ademhalingsstelsel (zoals bij ademen, praten, zingen, hoesten en niezen). De snelheid waarmee een uitgeademd aerosoldeeltje wordt uitgescheiden is initieel 6 cm per seconde.
Voor SARS-CoV-2 is het nog niet duidelijk hoe de virusdeeltjes verdeeld zijn over de verschillende uitgestoten aerosol deeltjes van verschillende grootte. Alle aerosol deeltjes van een besmettelijk persoon bevatten waarschijnlijk infectieuze virussen. Afhankelijk van de initiële virus concentratie in het ademhalingsstelsel zal een persoon meer of minder infectieuze aerosol deeltjes uitscheiden. Hoe hoger de virus concentratie in de mucus van de patiënt hoe hoger het aantal virus bevattende aerosol deeltjes. De virus deeltjes verdeling in de aerosole deeltjes wordt mede bepaald door de grootte van de aerosol. Op basis van de literatuur is het aannemelijk dat door de ophoping van virusdeeltjes voor het vrijkomen van het aerosoldeeltje de concentratie virussen in kleinere aerosolen hoger is dan te verwachten is op basis van de inhoud van het aerosoldeeltje.
- › De samenstelling van uitgeademde aerosolen is beschreven bij de verschillende activiteiten van het ademhalingsstelsel. De samenstelling is afhankelijk van de bron van de aerosol. De mogelijke bronnen zijn dat de aerosol gevormd is in de bronchiën, larynx of mond. De aerosol zal dan initieel dezelfde samenstelling hebben als de slijm/ mucosa laag op die locaties in het ademhalingsstelsel. Er zijn indicaties dat SARS-CoV-2 en andere virussen langer overleven door de aanwezige stoffen in de aerosol bij uitstoten vanuit het ademhalingsstelsel.

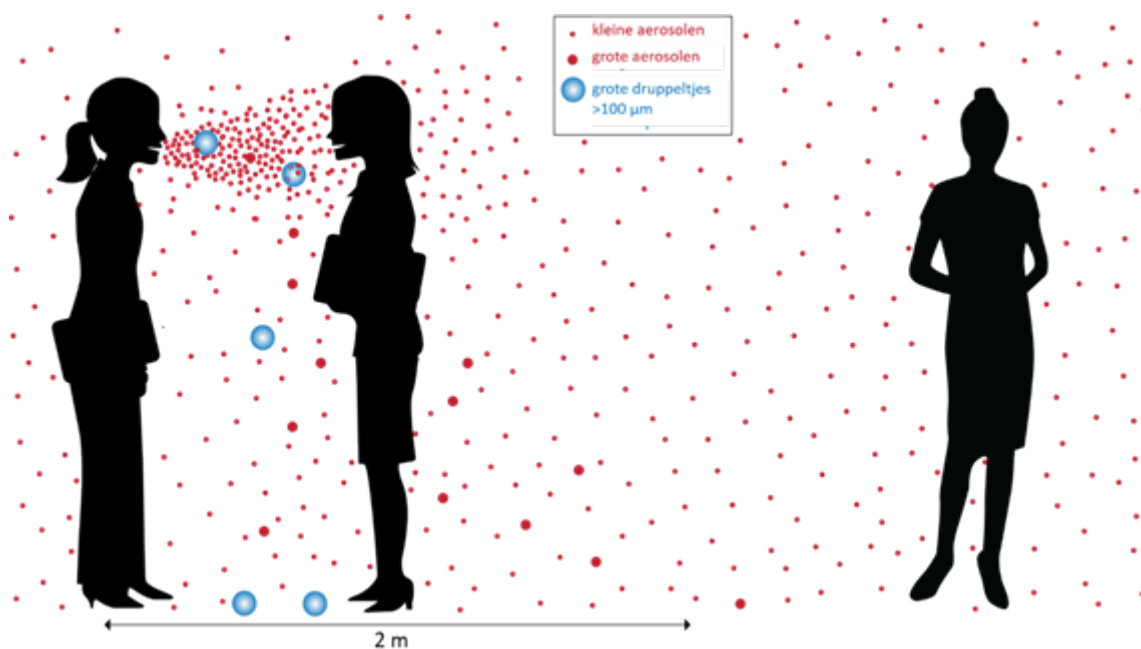
Er is beperkt informatie beschikbaar over de effecten op de virussen in aerosol deeltjes bij een verblijf in de lucht. Bekend is dat een aerosol deeltje snel indroogt tot een residu partikel. Over hoe lang een

virus deeltje of deeltjes in zo'n residu nog infectieus blijft is nog te weinig informatie voorhanden om daar betrouwbaar conclusies aan te verbinden.

6 DISCUSSIE

Tijdens de SARS-CoV-2 pandemie werd aanvankelijk de overdraagbaarheid van SARS-CoV-2 via de aerogene transmissie route onderschat ⁷. Mogelijke oorzaken zijn onvoldoende begrip over de uitscheiding van aerosol deeltjes met virusdeeltjes door de mens en het verblijf van de aerosol deeltjes met virusdeeltjes in de lucht.

Lonsdhal *et al.* vindt de veronderstelling dat SARS-CoV-2 transmissie over een kleine afstand vrijwel uitsluitend door grotere aerosol deeltjes ($>5\ \mu\text{m}$) zou worden veroorzaakt niet juist. ². Kleine aerosol deeltjes zijn net als grotere aerosol deeltjes het meest besmettelijk net na de uitademing (Figuur 9) ^{2,7}. Klassieke tegenmaatregelen om zogenaamde “druppelbesmettingen” tegen te gaan voorkomen daarom ook veel maar niet alle aerogene transmissies.



Figuur 9, De kans op transmissie virussen is het grootst op korte afstand zowel met kleine ($<5\ \mu\text{m}$) als met grote ($>5\ \mu\text{m}$) virus bevattende aerosolen. Op grotere afstand zijn kleine aerosolen het besmettelijkst. Jiminez et al, 2022 ⁴⁹.

Door een beter begrip te krijgen ten aanzien van de aerogene transmissie van SARS-CoV-2 kan in de toekomst beter onderbouwd worden waarom bepaalde maatregelen genomen moeten worden om virusverspreiding adequaat in te perken. Om de verspreiding van infectieuze (respiratoire) virussen beter te begrijpen ontwikkelen we een infrastructuur waar virussen in aerosol deeltjes bestudeerd kunnen worden. De uitgevoerde literatuurstudie levert hiervoor informatie zoals de tot nu toe bekende parameters van de uitgedemde / uitgescheiden aerosol deeltjes door mensen. Deze informatie wordt gebruikt in experimenten waarin we de grootteverdeling van aerosol deeltjes met een vergelijkbaar aantal virusdeeltjes als in de literatuur beschreven gaan produceren met onze testopstellingen. Ook kan via de referenties de gebruikte methoden van virus vernevelingen worden achterhaald die de werkelijkheid zo goed mogelijk benaderen ^{38,39}.

Op basis van de veronderstelling dat veel respiratoire virussen zich verspreiden via druppelbesmettingen is er initieel veel onderzoek uitgevoerd naar hoesten of niezen terwijl zingen, praten en ademen ook leiden tot de vorming van aerosol deeltjes. De grootte verdeling verschilt per "actie". Echter bij vrijwel alle "acties" is het merendeel van de uitgedemde/ uitgescheiden aerosol deeltjes met een virusdeeltje klein ($<10\ \mu\text{m}$). Deze kleine aerosol deeltjes met virusdeeltjes spelen waarschijnlijk een rol bij de overdracht van SARS-CoV-2. Eerdere studies met andere virussen laten zien dat kleine aerosol deeltjes met virusdeeltjes infectieus kunnen zijn ^{36,45}. Een aanbeveling is dan ook om bij experimenteel onderzoek te focussen op het gedrag van initieel al kleine aerosol deeltjes. Door de continuïteit van uitstoten van aerosol deeltjes door de activiteiten van het respiratoire systeem (bv. ademen, praten, hoesten, niezen), zal er in een niet goed geventileerde ruimte accumulatie van relatief kleine aerosol deeltjes plaatsvinden. Hierdoor zouden relatief kleine aerosol deeltjes een groot effect kunnen hebben op het aantal besmettelijke deeltjes in een indoor ruimte ⁴⁶.

Zoals gezegd is er een kennishiaat ten aanzien van het infectieus blijven van een virus in een uitgedemd aerosol. Nadat een aerosol wordt uitgedemd verliest deze snel een groot deel van zijn volume door indroging. Afhankelijk van de omgevingslucht waar de aerosol in terecht komt zal de aerosol, die initieel $>99\%$ uit water bestaat, in meerdere of mindere mate uitdrogen tot een partikel-residu. De initiële grootte van de aerosol bepaalt daarmee in belangrijke mate de uiteindelijke concentraties van de opgeloste stoffen zoals zouten, eiwitten, surfactanten, biopolymeren (mucins) in het partikel-residu. Zo zal een virus bevattend partikel-residu afkomstig van een groter aerosol meer zouten, eiwitten en biopolymeren (mucins) bevatten dan een partikel-residu van een kleinere aerosol die afkomstig is van dezelfde bron (orale, larynx, long). Aannemende dat de geïnfecteerde cellen het ideale milieu voor het virus zijn om te overleven zou de hypothese kunnen zijn dat virusdeeltjes in aanvankelijk kleine aerosol deeltjes beter overleven, dan virusdeeltjes afkomstig van grote aerosol

deeltjes, die relatief meer indrogen, omdat in de partikel-residu afkomstig van initieel kleine aerosol de relatieve verandering veel kleiner is dan in partikel-residu van een grote aerosol.

In een studie met Influenza A virus werd aangetoond dat het extracellulaire materiaal van epitheel cellen concentratie afhankelijk virus partikeltjes kan beschermen in een aerosol ^{40,47}. Echter, in deze studie werd niet de initiële grootte van de aerosolen bepaald, maar alleen een initieel concentratie verschil van het extracellulaire materiaal van epitheel cellen onderzocht. De gebruikte Collison nebulizer produceert aerosolen die gemiddeld klein ($<1\ \mu\text{m}$) zijn, waardoor er geen snelle en grote variaties waren in de opgeloste stoffen ⁴⁸. Een beter beeld van de relatie tussen virus overleving, initiële aerosol grootte en initiële concentraties opgeloste stoffen kan mogelijk helpen duiden waarom aerogene transmissie experimenteel moeilijk is na te bootsen.

Uit de gepubliceerde literatuur blijkt dat SARS-CoV-2 lang (tot 16 uur) kan overleven in Goldberg drum experimenten ⁴⁵. De enige onderscheidende factor met andere laboratorium experimenten die wij kunnen identificeren is de zeer hoge relatieve luchtvochtigheid in de Goldberg drums. Hierdoor vermoeden we dat een hoge relatieve luchtvochtigheid een belangrijke factor kan zijn bij de overdracht van SARS-CoV-2. Een zeer hoge luchtvochtigheid ontstaat vaak waar veel mensen in een relatief kleine ruimte voor langer tijd verblijven met geen of weinig ventilatie (bv. in drukke treinen en bussen bij regenachtig en koud weer). Mogelijk speelt een relatieve hoge luchtvochtigheid ook een rol bij de verspreiding van andere respiratoire virussen die seizoensgebonden zijn.

Virus variabiliteit (verschillen tussen verschillende virusstammen) zijn mogelijk ook van invloed op de overdraagbaarheid van SARS-CoV-2, maar valt buiten deze studie.

Op basis van de gelezen wetenschappelijk publicaties en onze interpretatie daarvan dragen de bevindingen van deze literatuurstudie bij aan het opzetten van de volgende experimenten;

- 1 Het genereren van virus bevattende aerosol deeltjes in een vergelijkbare grootteverdeling zoals deze ook uitgeademd worden door mensen.
- 2 Het bepalen van het aantal virusdeeltjes in aerosol deeltjes van verschillende grootte.
- 3 Bepalen in welke mate omgevingscondities, zoals bijvoorbeeld een hogere relatieve luchtvochtigheid de overleving van virussen in aerosol deeltjes beïnvloeden.

In een volgende fase van het onderzoek worden experimentele opstellingen ontwikkeld en wordt hiermee onderzocht welke factoren bepalend zijn voor besmettelijkheid van SARS-CoV-2.

Uiteindelijk zal de opgedane kennis uit ons onderzoek helpen uitbraak mitigerende maatregelen te optimaliseren en zorgen voor beter begrip bij de keuzes die gemaakt worden om een optimale balans te creëren tussen de ziektelast en leefbaarheid in onze samenleving.

7 REFERENTIES

1. Hamner L, Dubbel P, Capron I, et al. High SARS-CoV-2 attack rate following exposure at a choir practice - skagit county, washington, march 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020;69(19):606-610. doi: 10.15585/mmwr.mm6919e6.
2. Löndahl J, Alsved M. Abrupt decreases in infectivity of SARS-CoV-2 in aerosols. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022;119(29):e2208742119.
3. Lin Y, Malott RJ, Ward L, et al. Detection and quantification of infectious severe acute respiratory coronavirus-2 in diverse clinical and environmental samples. *Sci Rep.* 2022;12(1):5418-5.
4. Morawska L, Cao J. Airborne transmission of SARS-CoV-2: The world should face the reality. *Environ Int.* 2020;139:105730.
5. Jayaweera M, Perera H, Gunawardana B, Manatunge J. Transmission of COVID-19 virus by droplets and aerosols: A critical review on the unresolved dichotomy. *Environ Res.* 2020;188:109819.
6. Lednicky JA, Lauzard M, Fan ZH, et al. Viable SARS-CoV-2 in the air of a hospital room with COVID-19 patients. *Int J Infect Dis.* 2020;100:476-482.
7. Wang CC, Prather KA, Sznitman J, et al. Airborne transmission of respiratory viruses. *Science.* 2021;373(6558):eabd9149. doi: 10.1126/science.abd9149. doi: 10.1126/science.abd9149.
8. Oswin HP, Haddrell AE, Otero-Fernandez M, et al. The dynamics of SARS-CoV-2 infectivity with changes in aerosol microenvironment. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022;119(27):e2200109119. doi: 10.1073/pnas.2200109119.
9. unknown. Literatuurstudie naar de afstand die deeltjes (>5 µm) afleggen bij verschillende respiratoire activiteiten. *TNO.* 2020:1-41.
10. de Man P, Ortiz MA, Bluysen PM, et al. Airborne SARS-CoV-2 in home and hospital environments investigated with a high-powered air sampler. *J Hosp Infect.* 2022;119:126-131. doi: 10.1016/j.jhin.2021.10.018.
11. de Man P, Paltansing S, Ong DSY, Vaessen N, van Nielen G, Koeleman JGM. Outbreak of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a nursing home associated with aerosol transmission as a result of inadequate ventilation. *Clin Infect Dis.* 2021;73(1):170-171. doi: 10.1093/cid/ciaa1270.
12. Schoeman D, Gordon B, Fielding BC. Coronaviruses. *Encyclopedia of Infection and Immunity.* 2022:241-258. doi: 10.1016/B978-0-12-818731-9.00052-5.
13. Lai J, Coleman KK, Tai SS, et al. Exhaled breath aerosol shedding by highly transmissible versus prior SARS-CoV-2 variants. *Clin Infect Dis.* 2022. doi: 10.1093/cid/ciac846.
14. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in china, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382(8):727-733.
15. Laue M, Kauter A, Hoffmann T, Möller L, Michel J, Nitsche A. Morphometry of SARS-CoV and SARS-CoV-2 particles in ultrathin plastic sections of infected vero cell cultures. *Sci Rep.* 2021;11(1):3515-7. doi: 10.1038/s41598-021-82852-7.
16. Fennelly KP. Particle sizes of infectious aerosols: Implications for infection control. *Lancet Respir Med.* 2020;8(9):914-924. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30323-4.
17. Gregson FKA, Watson NA, Orton CM, et al. Comparing aerosol concentrations and particle size distributions generated by singing, speaking and breathing. *Aerosol Science and Technology.* 2021;55(6):681-691. <https://doi.org/10.1080/02786826.2021.1883544>. doi: 10.1080/02786826.2021.1883544.

18. Johnson GR, Morawska L, Ristovski ZD, et al. Modality of human expired aerosol size distributions. *J Aerosol Sci.* 2011;42(12):839-851.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021850211001200>. doi: 10.1016/j.jaerosci.2011.07.009.
19. Anand S, Krishan J, Sreekanth B, Mayya YS. A comprehensive modelling approach to estimate the transmissibility of coronavirus and its variants from infected subjects in indoor environments. *Sci Rep.* 2022;12(1):14164-z. doi: 10.1038/s41598-022-17693-z.
20. Duguid JP. The size and the duration of air-carriage of respiratory droplets and droplet-nuclei. *J Hyg (Lond).* 1946;44(6):471-479. doi: 10.1017/s0022172400019288.
21. Alsved M, Nygren D, Thuresson S, Medstrand P, Fraenkel CJ, Löndahl J. SARS-CoV-2 in exhaled aerosol particles from COVID-19 cases and its association to household transmission. *Clin Infect Dis.* 2022;75(1):e50-e56.
22. Niazi S, Groth R, Spann K, Johnson GR. The role of respiratory droplet physicochemistry in limiting and promoting the airborne transmission of human coronaviruses: A critical review. *Environ Pollut.* 2021;276:115767. doi: 10.1016/j.envpol.2020.115767.
23. Ivanov M. Exhaled air speed measurements of respiratory air flow, generated by ten different human subjects, under uncontrolled conditions. *E3S Web Conf.* 2019;111:02074.
<https://doi.org/10.1051/e3sconf/201911102074>. doi: 10.1051/e3sconf/201911102074.
24. Ng CS, Chong KL, Yang R, Li M, Verzicco R, Lohse D. Growth of respiratory droplets in cold and humid air. *Phys.Rev.Fluids.* 2021;6(5):054303.
<https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevFluids.6.054303>. doi: 10.1103/PhysRevFluids.6.054303.
25. Horne J, Dunne N, Singh N, et al. Building parameters linked with indoor transmission of SARS-CoV-2. *Environ Res.* 2023;117:156. doi: 10.1016/j.envres.2023.117156.
26. Dusseldorp A., van Bruggen M. Gezondheidkundige advieswaarden binnenmilieu, een update. *RIVM, RIVM rapport 609021043/2007.* 2007.
27. Fabian P, Brain J, Houseman EA, Gern J, Milton DK. Origin of exhaled breath particles from healthy and human rhinovirus-infected subjects. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2011;24(3):137-147. doi: 10.1089/jamp.2010.0815.
28. Killingley B, Mann AJ, Kalinova M, et al. Safety, tolerability and viral kinetics during SARS-CoV-2 human challenge in young adults. *Nat Med.* 2022;28(5):1031-1041.
<https://doi.org/10.1038/s41591-022-01780-9>. doi: 10.1038/s41591-022-01780-9.
29. Johnson TJ, Nishida RT, Sonpar AP, et al. Viral load of SARS-CoV-2 in droplets and bioaerosols directly captured during breathing, speaking and coughing. *Scientific Reports.* 2022;12(1):3484.
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-07301-5>. doi: 10.1038/s41598-022-07301-5.
30. Adenaiye OO, Lai J, Bueno de Mesquita, P Jacob, et al. Infectious severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in exhaled aerosols and efficacy of masks during early mild infection. *Clin Infect Dis.* 2022;75(1):e241-e248.
31. Yan J, Grantham M, Pantelic J, et al. Infectious virus in exhaled breath of symptomatic seasonal influenza cases from a college community. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(5):1081-1086.
32. McDevitt JJ, Koutrakis P, Ferguson ST, et al. Development and performance evaluation of an exhaled-breath bioaerosol collector for influenza virus. *Aerosol Sci Technol.* 2013;47(4):444-451. doi: 10.1080/02786826.2012.762973.
33. Wang C, Horby PW, Hayden FG, Gao GF. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet.* 2020;395(10223):470-473. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30185-9.

34. Vass WB, Lednický JA, Shankar SN, Fan ZH, Eiguren-Fernandez A, Wu C. Viable SARS-CoV-2 delta variant detected in aerosols in a residential setting with a self-isolating college student with COVID-19. *J Aerosol Sci.* 2022;165:106038. doi: 10.1016/j.jaerosci.2022.106038.
35. Santarpia JL, Herrera VL, Rivera DN, et al. The size and culturability of patient-generated SARS-CoV-2 aerosol. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2022;32(5):706-711. doi: 10.1038/s41370-021-00376-8.
36. Couch RB, Knight V, Douglas RGJ, Black SH, Hamory BH. The minimal infectious dose of adenovirus type 4; the case for natural transmission by viral aerosol. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 1969;80:205-211.
37. Lindsley WG, Noti JD, Blachere FM, et al. Viable influenza A virus in airborne particles from human coughs. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene.* 2015;12(2):107-113. <https://doi.org/10.1080/15459624.2014.973113>. doi: 10.1080/15459624.2014.973113.
38. Dabisch PA, Sanjak JS, Boydston JA, et al. Comparison of dose-response relationships for two isolates of SARS-CoV-2 in a nonhuman primate model of inhalational COVID-19. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2022;35(6):296-306. doi: 10.1089/jamp.2022.0043.
39. Dabisch PA, Biryukov J, Beck K, et al. Seroconversion and fever are dose-dependent in a nonhuman primate model of inhalational COVID-19. *PLoS Pathog.* 2021;17(8):e1009865. doi: 10.1371/journal.ppat.1009865.
40. Poon WCK, Brown AT, Direito SOL, et al. Soft matter science and the COVID-19 pandemic. *Soft Matter.* 2020;16(36):8310-8324.
41. Kubáň P, Foret F. Exhaled breath condensate: Determination of non-volatile compounds and their potential for clinical diagnosis and monitoring. A review. *Anal Chim Acta.* 2013;805:1-18. doi: 10.1016/j.aca.2013.07.049.
42. Fears AC, Klimstra WB, Duprex P, et al. Persistence of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in aerosol suspensions. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(9):2168-2171. doi: 10.3201/eid2609.201806.
43. Schuit M, Ratnesar-Shumate S, Yolitz J, et al. Airborne SARS-CoV-2 is rapidly inactivated by simulated sunlight. *J Infect Dis.* 2020;222(4):564-571. doi: 10.1093/infdis/jiaa334.
44. Smither SJ, Eastaugh LS, Findlay JS, Lever MS. Experimental aerosol survival of SARS-CoV-2 in artificial saliva and tissue culture media at medium and high humidity. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):1415-1417. doi: 10.1080/22221751.2020.1777906.
45. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med.* 2020;382(16):1564-1567. doi: 10.1056/NEJMc2004973.
46. Samet JM, Prather K, Benjamin G, et al. Airborne transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): What we know. *Clin Infect Dis.* 2021;73(10):1924-1926. doi: 10.1093/cid/ciab039.
47. Kormuth KA, Lin K, Prussin AJ2, et al. Influenza virus infectivity is retained in aerosols and droplets independent of relative humidity. *J Infect Dis.* 2018;218(5):739-747. doi: 10.1093/infdis/jiy221.
48. Ibrahim E, Harnish D, Kinney K, Heimbuch B, Wander J. An experimental investigation of the performance of a collision nebulizer generating H1N1 influenza aerosols. *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* 2015;29(6):1142-1148. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1059736>. doi: 10.1080/13102818.2015.1059736.
49. Jose L. Jimenez, Linsey C. Marr, Katherine Randall, et al. What were the historical reasons for the resistance to recognizing airborne transmission during the COVID-19 pandemic? *Indoor Air* <https://doi.org/10.1111/ina.13070>

