

ORIGINAL ARTICLE

The effect of surface charge, negative and bipolar ionization on the deposition of airborne bacteria

S. Meschke¹, B.D. Smith¹, M. Yost¹, R.R. Miksch², P. Gefter³, S. Gehlke³ and H.A. Halpin⁴

¹ Department of Environmental & Occupational Health Sciences, School of Public Health & Community Medicine, University of Washington, Seattle, WA, USA

² IEH Laboratories & Consulting, Inc., Lake Forest Park, WA, USA

³ MKS Ion Systems, Alameda, CA, USA

⁴ Center for Health and Public Policy Studies, University of California, Berkeley, CA, USA

Keywords

air ionization, bioaerosol, environmental health, surface charge.

Correspondence

Scott Meschke, Department of Environmental & Occupational Health Sciences, School of Public Health & Community Medicine, University of Washington, Seattle, WA 98195, USA. E-mail: jmeschke@u.washington.edu

2008/0915: received 28 May 2008, revised 14 August 2008 and accepted 12 September 2008

doi:10.1111/j.1365-2672.2008.04078.x

Abstract

Aims: A series of experiments were conducted to evaluate the effect of surface charge and air ionization on the deposition of airborne bacteria.

Methods and Results: The interaction between surface electrostatic potential and the deposition of airborne bacteria in an indoor environment was investigated using settle plates charged with electric potentials of 0, ± 2.5 kV and ± 5 kV. Results showed that bacterial deposition on the plates increased proportionally with increased potential to over twice the gravitational sedimentation rate at +5kV. Experiments were repeated under similar conditions in the presence of either negative or bipolar air ionization. Bipolar air ionization resulted in reduction of bacterial deposition onto the charged surfaces to levels nearly equal to gravitational sedimentation. In contrast, diffusion charging appears to have occurred during negative air ionization, resulting in an even greater deposition onto the oppositely charged surface than observed without ionization.

Conclusions: Static charges on fomite surfaces may attract bacteria resulting in deposition in excess of that expected by gravitational sedimentation or simple diffusion. Implementation of bipolar ionization may result in reduction of bacterial deposition.

Significance and Impact of Study: Fomite surfaces are important vehicles for the transmission of infectious organisms. This study has demonstrated a simple strategy for minimizing charge related deposition of bacteria on surfaces.

Introduction

Bioaerosols can be generated by several means in an indoor setting, such as the ventilation or air conditioning systems, dust or shed skin disturbance, coughs and sneezes, among others. Although the contribution of airborne micro-organisms to hospital or clinical-acquired infection has been the source of much debate in recent years, there is evidence suggesting that bioaerosols may play a greater role than previously believed (Schaal 1991; Beggs 2003). It has been estimated that the amount of skin squamae shed from hospital staff, visitors and patients equals approx. 3×10^8 per day, and an average of four viable bacteria per skin scale has been found in

hospital wards (Lidwell *et al.* 1959; Noble 1981). Duguid showed as early as 1945 that a sneeze can release hundreds of thousands of droplets into the air at speeds in excess of 200 miles per hour; and a cough, although producing only about 1% of the amount of airborne droplets as a sneeze, occurs much more often (Duguid 1945). Larger droplets settle out of the air quickly, and relatively close to the generation point, but coughing and/or sneezing can produce a large concentration of droplets less than $2 \mu\text{m}$ in size that resist evaporation, and are capable of transmitting disease-causing micro-organisms over much longer distances (Papineni and Rosenthal 1997). Shiomori *et al.* (2002) demonstrated how hospital activities, such as bedmaking, caused significant aerosolization

of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, which reinforced a similar study conducted by Overton (1988).

Mainelis *et al.* (2001) revealed that the process of aerosolizing and dispersing bacteria can induce an electric charge around the cell wall as high as 13 000 elementary electric charges, greatly overwhelming the microbe's natural charge and causing their drift velocity to increase (Mainelis *et al.* 2001, 2002). In contrast, they found that nonbiological particles accumulated only low levels of electric potential when aerosolized by the same method.

Considering what is known about attraction and repulsion effects of other charged particles, it is a logical hypothesis that bioaerosols charged above the Boltzmann equilibrium will be attracted towards oppositely charged objects or surfaces in excess of normal sedimentation or diffusion. Indeed, Allen *et al.* (2006) showed in a recent pilot study that nurses' polypropylene aprons, along with various other plastic materials often used in healthcare settings every day, generated an electric field from static charge buildup, and collected much higher numbers of micro-organisms than aluminum foil aprons. Some articles worn by healthcare professionals could generate an electric field surrounding the patients, facilitating an attraction of potentially pathogenic microbes and contributing to nosocomial infections.

Similar conclusions were drawn by Becker *et al.* (1996), who observed that when surgeons perform endoscopic surgery, they frequently point to a video monitor for emphasis. They found that bacteria grew from the cultures when a gloved hand passed within 4 cm of the monitor, and did not grow beyond 8 cm distance, suggesting that the electrostatic field generated between the video screen and the gloved finger might be a mechanism contributing to bacterial contamination.

Some electrostatic control measures have been discussed in the literature as well. Cozanitis *et al.* (1988) sprayed an antistatic solution on several materials and surfaces in an intensive care ward and then measured the amount of static charge that accumulated, compared with other materials that were left untreated. The surfaces were then sampled for aerobic bacterial deposition. Although spraying the entire room did not significantly reduce bacterial contamination, results suggested that focusing antistatic solution on insulating objects, where buildup of static charge occurs, would reduce electrical resistance, and subsequent airborne bacterial contamination. Makela *et al.* (1979) reported a smaller bacterial concentration in air after using a negative ion generator in a Burns and Plastic Surgery Unit. Also, Gabbay *et al.* (1990) noted a 40–50% reduction in microbial air pollution after employing a 13.5 kV (polarity unspecified) corona-type ion generator every second week in a dental clinic. Similar types of studies have been conducted for

nonbiological particles in the semiconductor industry. Successful engineering controls that have been developed for clean room environments are based on the theory that the reduction of electrostatic attraction and discharge on surfaces are directly responsible for controlling the deposition of airborne particulate matter (Cooper *et al.* 1990).

In recent years, air ionization has been successfully marketed as a method for removing contaminants from air. Numerous ion generators are available in many sizes and emission capabilities for both commercial and home applications. However, there has been some controversy regarding the performance of commercial ionic air purifiers (Grinshpun *et al.* 2005).

This study investigated the effect of electrostatic attraction (ESA) on deposition of airborne bacteria on surfaces by first exposing them to a test surface with electric potentials of ± 2.5 kV and ± 5 kV in an indoor setting, and then comparing the deposition to gravitational sedimentation (found at a 0 kV grounded surface). Additionally, this study examined the effect of increasing the air ion density (negative and bipolar) in the test environment on the reduction of airborne bacterial deposition.

Materials and methods

Test environment

The study was conducted in a men's restroom of a university research building. The restroom contained one toilet, one urinal, and one handwashing sink, in an overall volume of 29 m³. Preliminary sampling showed that this room could be relied upon to offer sufficient levels of airborne bacteria to yield statistically useful results. Airflow in the room was dominated by the building's HVAC (heating, ventilation and air conditioning) system. The temperature (70–72°C) and humidity (32–34%) for the test environment were centrally controlled.

Test apparatus and agar plates

A rectangular test platform was designed with a laminate-covered thin wood surface approx. 1.27 m in length by 0.6 m width, positioned at a height of 0.6 m. Four strips of 5 cm-wide electrically conductive foil tape were placed on the surface, separated 20 cm apart from a central 10 cm-wide grounded strip (Fig. 1). The centre ground strip had two main purposes. The first was for collection of normal sedimentation rates and the second was to terminate the electric field, preventing one side of the apparatus from adversely affecting the other. One power supply provided positive electric potential up to +5 kV to the left two conductive strips, while a second power

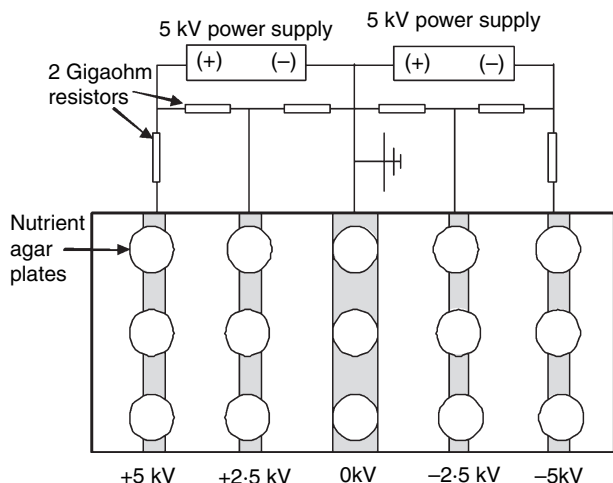


Figure 1 Overhead diagram of the test surface, electrical schematic and placement of nutrient agar plates. The surface measured 1.27 m in length by 0.6 m width, the centre grounded conductive foil strip measured 10 cm wide, the other four strips measured 5 cm wide. The conductive strips were each separated by approx. 20 cm.

supply provided negative potential up to -5 kV to the right two strips. A voltage divider network of 2 G Ω resistors was used to establish the ± 2.5 kV potential on each side, and to provide current limiting of the power supplies to minimize the shock hazard. The power supplies each contained a switch that allowed the polarities on the test apparatus to be reversed as needed. A 1.27 m by 0.6 m section of wire mesh screen was fixed approx. 30.5 cm above the surface of the apparatus to provide a reference ground plane and ensure a steady electric field during testing. The modelling basis for the design of the test apparatus including electric potential selection and strip spacing has been previously described by Miksch *et al.* (2008).

Three evenly spaced 100 \times 15 mm nutrient agar Petri plates were placed on top of each conductive electrical strip, for a total of 15 per test. Nutrient agar was selected for this study, as it is widely used general purpose medium for the culture of nonfastidious micro-organisms (Difco Laboratories, 1998). Each plate was prepared with 35–40 ml of agar, to account for evaporation that occurs when exposing the plates to the air for extended periods of time. A 10 cm length of 0.4 mm thickness nickel–chromium wire was wrapped from the underside of each Petri plate, around the side and into the nutrient agar so that the electric potential in the agar matched that of the corresponding electrical conductive strips. The electric potential on the agar plates was measured with a non-contacting electrostatic field meter (model M770, MKS Ion Systems, Alameda, CA), and was identical to the potential on the foil strips.

To detect horizontal movement of airborne bacteria from one side of the test apparatus to the other, a series of tests were conducted replacing the three nutrient agar plates on the central grounded strip with back-to-back plates attached in the vertical ground plane at the centre of the apparatus on a flow-through stand at a height of 15 cm above the test surface. Electric field modelling indicated that at this location, the electric field has a strictly horizontal component oriented from the positive to negative side of the apparatus. The vertical plates were spaced from front to back in the same manner as the surface plates and attached to the central grounded strip to ensure that they remained at ground potential during testing.

Ionization experiments

A Comtech Research Model IG-133A negative ion generator (Cantech Research LLC, South Greenfield, MO) and an MKS Ion Systems Model 6442 bipolar ionizer were used for air ionization experiments. Both were corona-discharge type ionizers, each releasing greater than 10^5 ions/cm³. An ion counter was used to determine a suitable location in the restroom for the ionizers and how long they needed to run before starting each test. The ionizers were placed approx. 1 m away from the apparatus, at a height of 0.9 m and were operated for the duration of each exposure period. Five trials were conducted under similar conditions as the previous ESA experiments with each ionizer.

Sampling strategy and analysis

Ten test runs were conducted comparing bacterial deposition rates at electric potentials of increasing magnitude to normal sedimentation rates. Nutrient agar Petri plates were exposed to the air for 24 h. At the same time, electric potentials of +5 kV, +2.5 kV, 0 kV, -2.5 kV and -5 kV were applied to the conductive strips and agar plates from left to right on the test surface, as shown in Fig. 1. Electric potentials were verified before, during and after each test by a non conducting electrostatic field meter. To provide a balanced sampling scheme, and account for possible airflow anomalies caused by the irregular shape of the restroom, and/or disturbance caused by frequent movement of the restroom door, the polarities on the test apparatus were reversed for half of the tests.

Additionally, five vertical plate tests were conducted to evaluate horizontal movement of bacteria across the test apparatus, followed by two more tests with no electric field. The tests with no electric field were used for comparison with data collected from the 0 kV strip

during regular testing, and to verify there was nothing inherent in the test apparatus design or placement in the restroom causing differential deposition of airborne bacteria to occur. Finally, five tests were conducted each with negative and bipolar ionization. For the ionization experiments, the ion generators were turned on 15 min prior to the start of the test and run continuously until the end of each sample period.

Upon conclusion of each round of tests, the Petri plates were incubated at 37°C for 48 h, followed by enumeration of colony forming units (CFUs). Because of significant variation in bioaerosol concentration in the restroom between trials, the data collected for each trial were standardized relative to the 0 kV potential for that trial. Results are reported as the overall median of the ratios of the average CFU/plate at each electric potential relative to the average CFU/plate at 0 kV, (\pm) median absolute deviation (MAD).

Statistical analysis

Kruskal–Wallis ANOVA by Ranks tests were used to evaluate differences between multiple electric potentials for a group of test runs and Wilcoxon Matched Pairs tests were performed to evaluate specific relationships between charged electric potentials and the 0 kV grounded potential. Kruskal–Wallis tests were also used to evaluate differences between ESA and both ionization schemes for individual potentials. Mann–Whitney *U*-tests were performed to examine specific relationships between the ESA runs and either negative or bipolar ionization runs for each potential. Tests with *P*-values ≤ 0.05 were considered statistically significant. All statistics were performed using the Statistica software package, release 6.1 (Statsoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

Bacterial identification

Selected bacterial colonies of distinct morphotypes isolated during the study were Gram stained, oxidase and catalase tested, and then phenotypically identified using a carbon source metabolic fingerprinting technique (Biolog Inc., Hayward, CA, USA).

Results

Empirical deposition rates from ESA tests

Nearly a 2.5-fold increase in median bacterial deposition at +5 kV surface potential relative to the 0 kV ground was observed for test runs without air ionization. A comparison of the underlying CFU per plate per hour data at these potentials indicated the difference was statistically

Table 1 Median bacterial deposition (CFU per plate) ratios at each surface potential relative to 0 kV for ESA, Negative Air Ionization, and Bipolar Air Ionization

Experiment type	+5 kV	+2.5 kV	0 kV	-2.5 kV	-5 kV
ESA w/No Ionization†	2.48	1.635	1	1.17	1.51
MAD	0.17	0.13	0	0.12	0.23
Negative Air Ionization‡	3.08	2.09	1	0.84	0.86
MAD	0.37	0.19	0	0.14	0.26
Biopolar Air Ionization‡	1.03	1.02	1	1	1.01
MAD	0.04	0.01	0	0.03	0.03

†Median values from ten trials.

‡Median values from five trials.

MAD, Median Absolute Deviation.

significant ($P < 0.05$). A significant increase also was seen at the -5 kV potential, although the bacterial deposition on the negative side of the test apparatus was considerably lower compared with deposition observed on the positive side ($P < 0.05$). Furthermore, a proportional bacterial deposition was observed for the ± 2.5 kV potentials. Table 1 summarizes the bacterial deposition ratios at each surface potential compared with gravitational sedimentation.

An average of 45 CFU per plate was found at the 0 kV conductive strip when electric charge was applied to the test apparatus over the course of all exposure periods. When tests were conducted in the absence of charge being applied, the average CFU count per plate was 46. This confirms both the model discussed in Miksch *et al.* (2008) and fieldmeter measurements, which demonstrated effective separation of the electric fields on both sides of the test apparatus, preventing each side from adversely affecting the other during testing and providing a 'corridor' for bacteria not charged above the Boltzmann equilibrium to deposit solely via gravitational forces.

Vertical plate tests (horizontal movement)

For vertical plate tests, experimental conditions were similar to the ten original ESA experiments conducted without ionization. Bacterial counts collected from vertical agar plates were standardized according to average CFU per plate per hour. The resultant number of bacteria moving from the (-) side of the test apparatus to the (+) side was 0.26 CFU per plate per hour. This was more than 1.6-times higher than the 0.16 CFU per plate per hour found moving from the (+) side to the (-) side. These results are consistent with the ratio of median deposition between the +5 kV and -5 kV potentials found in the first series of ESA tests (1.64), once again illustrating that not only electrostatic interactions are

occurring, but there is also a net higher concentration of negatively charged bacteria in the test environment, further supporting results found in other studies (Wilson et al. 2001; Lee et al. 2004).

Negative ionization experiments

The results of negative air ionization, as shown in Table 1, clearly indicate a significant reduction of bacterial deposition on the negative side of the test apparatus ($P < 0.002$), resulting in deposition nearly equal to that of gravitational sedimentation. This is consistent with the notion that increasing the air ion density reduces the potential on oppositely charged airborne bacteria towards the Boltzmann equilibrium prior to deposition, such that the bacteria in the present experiments were no longer carrying a positive charge and could not be attracted to the negative side of the test apparatus in excess of normal gravitational rates.

Most of the ratios at the negative surface potentials were <1.0 , suggesting a slight electrostatic repulsion effect, but the differences were not statistically significant. Additionally, there was a 24% median increase in deposition on the +5 kV conductive strip compared with the previous nonionization median value of 2.48, and a 28% increase on the +2.5 kV strip. Although these increases were similarly not statistically significant, the data are consistent with the occurrence of diffusion charging. In other words, it appears likely that there were enough negative ions remaining in the room after neutralizing any positive-charged airborne bacteria that diffusional collisions occurred between the remaining negative ions and the airborne bacteria, resulting in a net increase of negatively charged bacteria being repelled away from the negative side of the test apparatus and/or attracted to the positive side.

Bipolar ionization experiments

Just as the negative ionization experiments demonstrated reduction in bacterial deposition on the negative potential surfaces, the bipolar ionization experiments showed effective reduction of bacterial deposition onto all the test surfaces of either polarity. After adding bipolar ions in excess of 10^5 cm^{-3} for the duration of each exposure period, the resultant median ratios of CFU per plate per hour were almost identical across the entire apparatus, independent of the surface potential, within the MAD on most accounts (Table 1). Bacterial deposition from the first series of runs without ionization was reduced in the bipolar ionization tests, and was statistically significant at all potentials, excluding the reference value at 0 kV ($P < 0.02$). These results support the assumption that a

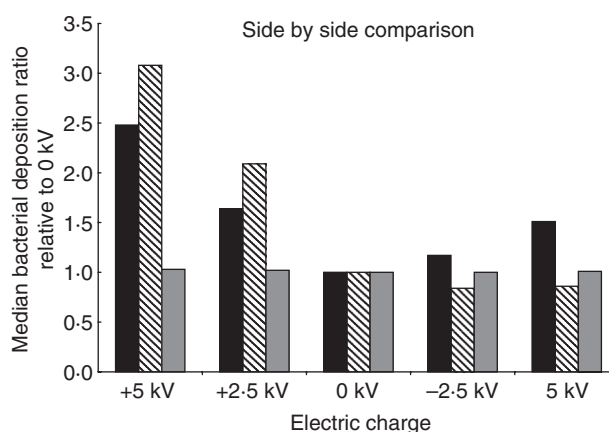


Figure 2 Graphical representation comparing bacterial deposition from ESA, negative and bipolar ionization tests. (■), Original ESA tests; (▨), Neg ionization; (■), Dual pol. ionization.

high concentration of bipolar ions in the test environment significantly reduces the charge decay time on airborne bacteria towards the Boltzmann equilibrium, as well as prevents diffusion charging from occurring.

The results of the electrostatic attraction, negative and bipolar ionization experiments on the deposition of airborne bacteria are also shown side-by-side graphically in Fig. 2. The graph is used to further illustrate that not only electrostatic interactions are occurring between charged bacteria and surfaces, increasing the air ion density in the test environment can be effective in reducing the number of bacteria attracted per unit area to oppositely charged surfaces.

Identification of selected bacteria isolates

Identified bacterial isolates were evenly distributed in both ESA and ionization experiments, and at all surface potentials. Six dominant colony types were observed on the agar plates. Bacteria isolated from these colony types included: *Micrococcus lylae*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus* genus (species not determined), *Staphylococcus delphini*, *Bacillus licheniformis* and *Moraxella osloensis*. *Micrococcus* spp., or bacteria having similar microscopic and colony morphologies, made up over 96% of the colonies enumerated. It is interesting that all bacteria identified were Gram-positive, with the exception of *M. osloensis*, which is a Gram-negative coccoid bacteria, and a known opportunistic pathogen. The occurrence of *M. osloensis* and *B. licheniformis* colony types was rare. An equally interesting observation, considering the test setting, was that *Escherichia coli* and *Staphylococcus* spp. other than *S. delphini* were not identified in this study.

Discussion and conclusion

Allen *et al.* (2006) demonstrated that moving an item carrying a static charge into close proximity of hospital patients could induce an electric field surrounding the patient, causing an excess of potentially harmful airborne micro-organisms to be attracted towards them. The results of this study clearly support the notion that electrostatic attraction can be a significant force affecting the deposition of airborne bacteria charged well above the Boltzmann equilibrium. Bacterial deposition in the present ESA experiments more than doubled when an electric potential of +5 kV was applied to the test surface. Deposition increased at the -5 kV potential as well, but to a lesser degree. Deposition increased substantially on both sides of the test apparatus, indicating that airborne bacteria carrying high charges of either polarity were present in the test environment. However, both nonionization and vertical plate tests showed that the bacteria were negatively charged to a greater degree, consistent with literature suggesting an overall tendency towards a net negative charge (Wilson *et al.* 2001; Lee *et al.* 2004).

As with other types of charged particles, electrostatic interactions likely are maintained as long as airborne bacteria carry a net electrostatic charge and remain in close proximity to an oppositely charged surface. Although the unit charge on the bacteria was not directly determined in the present investigation, deposition was seen to increase proportionally with increased magnitude of surface potential, a result that supports the assumption that airborne bacteria in the test environment were highly charged. As a charged bioaerosol has been reported to take <2 h to decay to the Boltzmann equilibrium under normal conditions (Hinds 1999), there was likely fresh generation of bioaerosols taking place in the test environment for the high charge state to occur on the bacteria. It follows then, that implementing methods that rapidly reduce the charge decay time on airborne bacteria, along with controlling the fresh generation of bioaerosols in the first place, should be integrated into schemes designed to address the threat of increased microbial contamination resulting from electrostatic interactions.

Charged particles will decay exponentially to the Boltzmann equilibrium, depending on how many elementary charges the particles carry, as well as the concentration of air ions in the surrounding environment. Increasing the air ion density above 10^5 ions cm^{-3} significantly reduced the decay time in ionization experiments. Unipolar ionization caused a reduction in deposition of oppositely charged bacteria to nearly equal that of normal sedimentation, but it also likely contributed to diffusion charging and greater deposition onto surfaces having the opposite polarity as the ions emitted. This suggests that employing

a unipolar ionization scheme might not always be a sufficient method of controlling airborne bacterial contamination. On the other hand, increasing the concentration of bipolar ions effectively reduced bacterial contamination across the entire test surface to normal sedimentation rates, independent of electric potential, which is consistent with the elimination of electrostatic attraction and diffusion charging.

One of the unexpected observations was the large preponderance of Gram-positive bacteria that had deposited on the test surface, and the relative absence of Gram-negative bacteria. Based on the location of the study (a high traffic men's restroom), *E. coli* and a greater number of *Staphylococcus* spp. were expected to be isolated from the agar plates. However, *E. coli* was not identified in this study and the only *Staphylococcus* species identified was *S. delphini*. Possible explanations could include sampling bias, differences in surface charge between organism types, interference from walls, distance from generation point, organism viability and level of occurrence. Some *Staphylococcus* spp. might have been missed because of their morphological similarities to *S. delphini*. Additional analysis is needed to further investigate these observations related to specific bacterial species.

It is important to note that the semiconductor industry has employed electrostatic-based engineering methods for many years to control particle deposition in clean room environments (Cooper *et al.* 1990). The results of this study suggest that similar ionization-type engineering controls could be employed to minimize surface charge in hospital settings, which may help reduce the potential for fomite disease transmission because of the deposition of bioaerosols. Our findings suggest that highly charged bioaerosols and materials used in the patient setting (e.g. plastics and electric equipment for monitoring or treating) may represent an important new avenue for exploration and research into reducing hospital acquired infections. Additional research is needed in hospital settings to test the effect of adopting electrostatic controls in the areas of hospitals where the patients most vulnerable to infections are being treated (e.g. intensive care rooms, burn units, oncology wards and surgical suites).

References

- Allen, J., Close, J.J. and Henshaw, D.L. (2006) Static electric fields as a mediator of hospital infection. *Indoor Built Environ* **15**, 49–52.
- Anonymous. (1998) *Electrostatic Compatibility: Guide to Assess and Control Electrostatic Discharge (ESD) and Electrostatic Attraction (ESA) for Equipment*. Mountain View, CA: Semiconductor Equipment and Materials International, Sept. 1998: SEMI E78-0998.

- Becker, R., Kristjanson, A. and Waller, J. (1996) Static electricity as a mechanism of bacterial transfer during endoscopic surgery. *Surg Endosc* **10**, 397–399.
- Beggs, C.B. (2003) The airborne transmission of infection in hospital buildings: fact or fiction? *Indoor Built Environ* **12**, 9–18.
- Cooper, D., Miller, R.J., Wu, J.J. and Peters, M.H. (1990) Deposition of submicron aerosol particles during integrated circuit manufacturing: theory. *Particulate Sci Technol* **8**, 209–224.
- Cozantitis, D.A., Ojajarvi, J. and Makela, P. (1988) Antistatic treatment for reducing airborne contamination of insulating materials in intensive care. *Acta Anaesthesiol Scand* **32**, 343–346.
- Difco Laboratories. (1998) *Difco Manual*, 11th edn. Sparks, MD: Difco Laboratories, Division of Becton Dickinson and Company.
- Duguid, J.P. (1945) The size and the duration of air-carriage of respiratory droplets and droplet-nuclei. *J Hyg* **54**, 471–479.
- Gabbay, J., Bergerson, O., Levi, N., Brenner, S. and Eli, I. (1990) Effect of ionization on microbial air pollution in the dental clinic. *Environ Res* **52**, 99–106.
- Grinshpun, S.A., Mainelis, G., Trunov, M., Adhikari, A., Reponen, T. and Willeke, K. (2005) Evaluation of ionic air purifiers for reducing aerosol exposure in confined spaces. *Indoor Air*, **15**, 235–245.
- Hinds, W.C. (1999) *Aerosol Technology*, 2nd edn. New York, NY: Wiley Interscience.
- Lee, S.A., Willeke, K., Mainelis, G., Adhikari, A., Wang, H., Reponen, T. and Grinshpun, S.A. (2004) Assessment of electrical charge on airborne microorganisms by a new bioaerosol sampling method. *J Occup Environ Hyg* **1**, 127–138.
- Lidwell, O.M., Noble, W.C. and Dolphin, G.W. (1959) The use of radiation to estimate the numbers of microorganisms in air-borne particles. *J Hyg* **57**, 299–308.
- Mainelis, G., Willeke, K., Baron, P., Reponen, T., Grinshpun, S.A., Gorny, R.L. and Trakumas, S. (2001) Electrical charges on airborne microorganisms. *J Aerosol Sci* **32**, 1087–1110.
- Mainelis, G., Willeke, K., Baron, P., Grinshpun, S.A. and Reponen, T. (2002) Induction charging and electrostatic classification of micrometer-size particles for investigating the electrobiological properties of airborne microorganisms. *Aerosol Sci Technol* **36**, 479–491.
- Makela, P., Ojajarvi, J., Graeffe, G. and Lehtimaki, M. (1979) Studies on the effects of ionization on bacterial aerosols in a burns and plastic surgery unit. *J Hyg (Lond)* **83**, 199–206.
- Miksch, R., Gefter, P., Gehlke, S., Halpin, H.A., Meschke, J.S., Smith, B. and Yost, M. (2008) *Relationship Between Surface Electrostatic Potential and Deposition of Airborne Bacteria*. (Accepted for publication in *IEEE Transactions on Industry Applications*). New York: IEEE Industry Applications Society.
- Noble, W.C. (1981) Dispersal of microorganisms from skin. In: *Microbiology of Human Skin*, ed. Noble, W.C., 2nd edn. pp. 79–85. London: Lloyd-Luke Ltd.
- Overton, E. (1988) Bedmaking and bacteria. *Nurs Times* **84**, 69–71.
- Papineni, R. and Rosenthal, F. (1997) The size distribution of droplets in the exhaled breath of healthy human subjects. *J Aerosol Med* **10**, 105–116.
- Schaal, K.P. (1991) Medical and microbiological problems arising from airborne infection in hospitals. *J Hosp Infect* **18**(Suppl. A), 451–459.
- Shiomori, T., Miyamoto, H., Makishima, K., Yoshida, M., Fujiyoshi, T., Udaka, T., Inaba, T. and Hiraki, N. (2002) Evaluation of bedmaking-related airborne and surface methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* contamination. *J Hosp Infect* **50**, 30–55.
- Wilson, W.W., Wade, M.M., Holman, S.C. and Champlin, F.R. (2001) Status of methods for assessing bacterial cell surface charge properties based on zeta potential measurements. *J Microbiol Methods* **43**, 153–164.

ARTYKUŁ ORYGINALNY

Wpływ ładunku powierzchniowego oraz jonizacji ujemnej i dwubiegunowej na osadzanie się bakterii przenoszonych drogą powietrzną

S. Meschke¹, B.D. Smith¹, M. Yost¹, R.R. Miksch², P. Geftter³, S. Gehlke³ oraz H.A. Halpin⁴

1 Department of Environmental & Occupational Health Sciences, School of Public Health & Community Medicine, University of Washington, Seattle, WA, USA

2 IEH Laboratories & Consulting, Inc., Lake Forest Park, WA, USA

3 MKS Ion Systems, Alameda, CA, USA

4 Center for Health and Public Policy Studies, University of California, Berkeley, CA, USA

Słowa kluczowe

Jonizacja powietrzna, bioaerazol, zdrowie środowiskowe, ładunek powierzchniowy.

Powiązanie

Scott Meschke, Department of Environmental & Occupational Health Sciences, School of Public Health & Community Medicine, University of Washington, Seattle, WA 98195, USA.
E-mail: jmeschke@u.washington.edu

2008/0915: otrzymano 28.05.2008, zrecenzowano 14.08.2008 i zaakceptowano 12.09.2008

doi:10.1111/j.1365-2672.2008.04078.x

Abstrakt

Cele: Celem przeprowadzonych eksperymentów było zbadanie wpływu ładunku powierzchniowego i jonizacji powietrza na osadzanie się bakterii przenoszonych drogą powietrzną.

Metody i wyniki: Oddziaływanie między ładunkiem elektrostatycznym powierzchni a osadzaniem się na niej bakterii przenoszonych drogą powietrzną było badane przy użyciu płytek sedymentacyjnych naładowanych potencjałami elektrycznymi o wysokości 0, $\pm 2,5$ kV oraz ± 5 kV. Wyniki wykazały, że sedymentacja bakterii na płytkach wzrastała proporcjonalnie wraz ze zwiększającym się potencjałem płytki aż do wartości ponad dwukrotnie przewyższającej wartość otrzymaną dla sedymentacji grawitacyjnej dla płytki naładowanej potencjałem o wysokości ± 5 kV. Eksperyment został powtórzony w podobnych warunkach dla powietrza poddanego jonizacji ujemnej oraz dwubiegunowej. Jonizacja dwubiegunowa skutkowała redukcją sedymentacji bakterii na badaną powierzchnię do wartości zbliżonej do wyniku uzyskanego dla sedymentacji grawitacyjnej. W odróżnieniu od jonizacji dwubiegunowej, jonizacji ujemnej powietrza towarzyszyło wystąpienie zjawiska ładowania dyfuzyjnego, skutkującego zwiększeniem sedymentacji bakterii na powierzchnię o przeciwnym ładunku elektrostatycznym.

Wnioski: Ładunki elektrostatyczne na powierzchniach fometrycznych mogą powodować zwiększone osadzanie się bakterii na tego typu powierzchniach w porównaniu do sedymentacji grawitacyjnej czy dyfuzji prostej (biernej). Zastosowanie jonizacji bipolarnej może zmniejszyć sedymentację bakterii na tego typu powierzchniach.

Znaczenie badań: Powierzchnie fometryczne są ważnymi wektorami w procesie transmisji zakażeń. Niniejsze badanie przedstawia prostą strategię zmniejszenia sedymentacji bakterii spowodowanej ładunkiem elektrostatycznym.

Wprowadzenie

Źródłami aerozoli biologicznych w pomieszczeniach mogą być między innymi wentylacja, klimatyzacja, kurz i martwy naskórek, a także kaszel lub kichnięcia. Pomimo tego, że rola mikroorganizmów przenoszonych drogą powietrzną w transmisji zakażeń szpitalnych była przedmiotem wielu dyskusji, istnieją dowody sugerujące, że bioaerozole mogą odgrywać większą rolę niż

do tej pory sądzono (Schaal 1991; Beggs 2003). Szacuje się, że ilość fragmentów naskórka złuszczonego z pracowników szpitala, gości i pacjentów wynosi około 3×10^8 dziennie, a każdy fragment pobrany z oddziałów szpitalnych zawiera średnio 4 żywotne bakterie (Lidwell *et al.* 1959; Noble 1981). Już w 1945 Duguid wykazał, że kichnięcie uwalnia w powietrze setki tysięcy kropelek, a ich prędkość przekracza 320 km/h ($\text{km} \cdot \text{h}^{-1}$), kaszlnięcie natomiast uwalnia około 1%

aerozolu w porównaniu do kichnięcia, jednak występuje znacznie od kichnięcia częściej (Duguid 1945). Większe krople szybko opadają i osadzają się w pobliżu miejsca powstania, jednak kasznięcie/kichnięcie powoduje powstanie znacznych ilości kropli o średnicy mniejszej niż 2 μm , które nie tylko nie odparowują, ale też są zdolne do transmisji chorobotwórczych mikroorganizmów na znacznie większe odległości (Papineni, Rosenthal 1997). Shiomori *et al.* (2002) wykazali, jak procedury szpitalne, takie jak ścielenie łóżek, mogą powodować wytworzenie aerozolu zawierającego odporne na metycylinę gronkowce złociste *Staphylococcus aureus*, co potwierdziło poprzednie badania wykonane przez Overtona (1988).

W swoich badaniach Mainelis *et al.* (2001) udowodnili, że proces aerolizacji i rozpraszania bakterii może generować ładunek elektryczny otaczający ścianę komórkową bakterii o wysokości nawet 13 000 ładunków elementarnych, który jest znacznie większy od naturalnego ładunku mikroorganizmu, a dodatkowo zwiększa jego prędkość dryfu (Mainelis *et al.* 2001, 2002). Ich badanie wykazało również, że cząsteczki pochodzenia niebiologicznego gromadziły tylko niewielkie ilości ładunku elektrycznego podczas aerolizacji tą samą metodą.

Biorąc pod uwagę wiedzę dotyczącą efektów przyciągania i odpychania innych naładowanych cząsteczek, można wysunąć hipotezę, że bioaerozole posiadające ładunek przewyższający równowagę Boltzmana będą przyciągane do przedmiotów lub powierzchni posiadających ładunek przeciwny w stopniu przewyższającym sedymentację lub dyfuzję prostą. Rzeczywiście, Allen *et al.* (2006) dowiedli w badaniach pilotażowych, że polipropylenowe fartuchy używane przez pielęgniarki, a także inne plastikowe produkty używane często w branży medycznej, na skutek zbierania ładunków statycznych generują pole elektryczne znacznie większe niż fartuchy aluminiowe, a ponadto osadzają się na ich znacznie większe ilości mikroorganizmów. Niektóre wyroby medyczne noszone przez pracowników służby zdrowia mogą generować ładunek elektryczny otaczający ich i pacjenta, co może skutkować przyciąganiem potencjalnie chorobotwórczych

mikroorganizmów, przyczyniających się do wywoływania zakażeń szpitalnych.

Podobne wnioski wyciągnęli Becker *et al.* (1996), którzy obserwując chirurgów w trakcie operacji endoskopowych zauważyli, że ci w trakcie operacji często wskazują palcem monitor. Naukowcy odkryli, że bakterie wyrosły z próbki pobranej z rękawiczki, gdy dłoń w rękawiczce została przesunięta w odległości 4 cm od monitora, i nie rosły, gdy dłoń w rękawiczce została przesunięta w odległości 8 cm, co sugeruje że pole elektrostatyczne wytworzone między monitorem i palcem w rękawiczce może przyczyniać się przenoszenia zakażeń bakteryjnych.

W literaturze opisane są też przypadki badania ograniczania gromadzenia ładunków elektrostatycznych. Cozantis *et al.* (1988) badali gromadzenie ładunków elektrostatycznych na różnych przedmiotach i powierzchniach pokrytych środkiem antystatycznym na oddziale intensywnej terapii w porównaniu do materiałów niepokrytych danym preparatem. Badane powierzchnie zostały następnie poddane badaniu na obecność mikroorganizmów przenoszonych drogą powietrzną. Wyniki wykazały, że pokrycie całego pokoju testowanym preparatem nie wpłynęło pozytywnie na zmniejszenie ilości bakterii, jednak pokrycie środkiem antystatycznym, na których występuje gromadzenie ładunku elektrostatycznego, wpłynęło na zmniejszenie ilości występujących na danym materiale bakterii przenoszonych drogą powietrzną. Makela *et al.* (1979) udowodnili zmniejszoną ilość bakterii w powietrzu po zastosowaniu generatora jonów ujemnych na oddziale poparzeń i chirurgii plastycznej. Gabbay *et al.* (1990) zauważyli 40-50% redukcję ilości mikroorganizmów w powietrzu w klinice dentystycznej po zastosowaniu 13,5 kV (biegunowość nieznaną) generatora jonów typu koronowego raz na dwa tygodnie. Podobne badania dotyczące cząsteczek niebiologicznych prowadzone były na potrzeby przemysłu zajmującego się produkcją wodników. Sposoby kontroli zaprojektowane na potrzeby czystych pomieszczeń oparte są na założeniu, że redukcja przyciągania elektrostatycznego i rozładowywanie ładunków zgromadzonych na powierzchniach ma bezpośrednie przełożenie na kontrolę sedymentacji cząsteczek znajdujących się w powietrzu (Cooper *et al.*

1990).

W ubiegłych latach jonizacja była skutecznie reklamowana jako metoda usuwania zanieczyszczeń z powietrza. Można znaleźć przeróżne generatory, w różnych rozmiarach i o różnych potencjałach emisji, zarówno do zastosowań komercyjnych, jak i domowych. Pojawiły się jednak pewne kontrowersje dotyczące wydajności komercyjnych jonowych oczyszczaczy powietrza (Grinshpun *et al.* 2005).

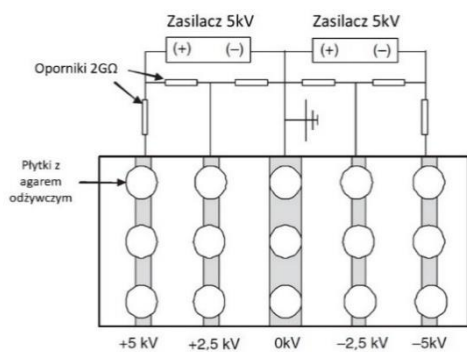
To badanie dotyczyło zbadania wpływu przyciągania elektrostatycznego (ESA - ang. electrostatic attraction) na sedymentację bakterii przenoszonych drogą powietrzną na powierzchnie uprzednio naładowane ładunkiem elektrycznym $\pm 2,5$ kV oraz ± 5 kV w porównaniu do sedymentacji grawitacyjnej (powierzchnia uziemiona o ładunku 0 kV). Ponadto w badaniu sprawdzano wpływ stężenia jonów (ujemnych i obojętnych) w powietrzu na sedymentację bakterii przenoszonych drogą powietrzną.

Materiały i metody

Środowisko testowe

Badanie zostało przeprowadzone w męskiej toalecie w jednym z budynków uniwersytetu. W pomieszczeniu znajdowała się jedna toaleta, jeden pisuar, oraz umywalka, a kubatura pomieszczenia wynosiła 29 m³. Wstępne pobranie próbek (ang. sampling) wykazało, że pomieszczenie zawierało wystarczającą ilość bakterii przenoszoną drogą powietrzną, aby

Grafika 1 Powyższy schemat prezentuje powierzchnię testową, schemat elektryczny oraz rozmieszczenie płytek z agarem odżywcym. Powierzchnia badawcza mierzy 1,27 m długości oraz 0,6 m szerokości, środkowy uziemiony pas taśmy elektroprowadzącej mierzy 10 cm szerokości, a pozostałe 4 paski mierzą 5 cm szerokości. Paski folii elektroprowadzącej są oddalone od siebie o około 20 cm.



wyniki mogły być wykorzystane do analizy statystycznej. Przepływ powietrza w pomieszczeniu był regulowany przez jednakowy system w całym budynku – system HVAC (ogrzewanie, wentylacja, klimatyzacja – ang. heating, ventilation and air conditioning). Temperatura (21-22°C) i wilgotność (32-34%) były stałe i kontrolowane dla całego budynku.

Aparatura badawcza i płytki agarowe

Prostokątna platforma badawcza została zbudowana z pokrytej laminatem płyty drewnianej o długości 1,27 m i szerokości 0,6 m, umieszczonej na wysokości 0,6 m. Cztery paski taśmy elektroprowadzącej o szerokości 5 cm zostały umieszczone na powierzchni w odległości 20 cm od środkowego, uziemionego pasa taśmy elektroprowadzącej o szerokości 10 cm (Grafika 1). Środkowy pasek podłączony do uziemienia służył dwóm celom. Pierwszym było zbadanie normalnej sedymentacji bakterii, a drugim izolacja jednej strony platformy badawczej od drugiej poprzez niwelację pola elektrycznego. Jeden zasilacz zasiliał dwa paski folii elektroprowadzącej po lewej stronie napięciem o wysokości +5 kV, a drugi zasilacz zapewniał ujemny potencjał o wysokości -5 kV dla dwóch pasów po prawej stronie. Aby osiągnąć potencjał o wysokości $\pm 2,5$ kV zastosowano dzielnik napięcia oparty na dwóch rezystorach o oporności 2 GΩ, który dodatkowo zabezpieczał układ przez skokiem natężenia zmniejszając ryzyko porażenia prądem. Dodatkowo każdy zasilacz posiadał możliwość zmiany biegunowości aparatury badawczej. Aby zapewnić stałe pole elektryczne podczas eksperymentu około 30,5 cm nad aparaturą testową został umieszczony fragment siatki metalowej o wymiarach 1,27 m na 0,6 m. Projekt tego typu aparatu wraz z doбором potencjałów elektrycznych oraz rozmieszczeniem pasów folii elektroprowadzącej został wcześniej opisany przez Mikscha *et al.* (2008).

Trzy płytki Petriego (100 x 15 mm) z agarem odżywcym zostały równo rozmieszczone na każdym pasku folii elektroprowadzącej, co dało 15 płytek na każde powtórzenie. Jako podłoże użyte w eksperymencie został użyty agar odżywczy ze względu na to, że jest popularnym podłożem stosowanym przy hodowli niewymagających mikroorganizmów (Difco Laboratories, 1998). Do przygotowania

każdej płytki użyto około 35-40 ml podłoża, aby zrekompensować straty powstające w wyniku parowania, kiedy podłoże ma kontakt z powietrzem przez długi czas. Fragment drutu chromowo-niklowego o długości 10 cm i średnicy 0,4 mm został zawinięty spod spodu każdej płytki Petriego, a drugi jego koniec umieszczony w agarze odżywczym, aby zapewnić taki sam potencjał elektryczny podłoża, jak folii elektroprzewodzącej pod spodem. Potencjał elektrostatyczny płytek z podłożem mierzono przy użyciu bezkontaktowego miernika pola elektrostatycznego (model M770, MKS Ion Systems, Alameda, CA); nie różnił się od potencjału folii elektroprzewodzącej.

Aby zbadać horyzontalne przemieszczanie się bakterii, przeprowadzono serię testów, zastępując trzy płytki znajdujące się na środkowym, uziemionym pasie folii elektroprzewodzącej, dwiema płytkami umieszczonymi pionowo i zwróconymi dnem do siebie. Płytki zostały umieszczone na podłączonej do uziemienia pionowej ścianie, która nie wpływała negatywnie na przepływ powietrza; płytki zostały umieszczone na wysokości 15 cm. Modelowanie pola elektrostatycznego wykazało, że dokładnie w tym miejscu pole elektrostatyczne cechuje się prostopadłą do płytek składową, ułożoną od dodatniej do ujemnej strony aparatury badawczej. Pionowo umieszczone płytki zostały rozmieszczone od przodu do tyłu aparatu, tak samo jak płytki umieszczone poziomo, a następnie połączone z uziemionym pasem folii elektroprzewodzącej, aby ich potencjał elektrostatyczny pozostał zerowy.

Eksperyment z wykorzystaniem jonizacji

Do eksperymentu użyto generatora jonów ujemnych Comtech Research Model IG-133A (Cantech Research LLC, South Greenfield, MO) oraz jonizatora bipolarnego MKS Ion Systems Model 6442. Oba urządzenia były jonizatorami typu koronowego, każdy miał zdolność do generowania ponad 10^5 jonów/cm³. Aby określić najlepsze miejsce do umieszczenia jonizatorów oraz niezbędnego czasu ich działania przed rozpoczęciem eksperymentu został użyty licznik jonów. Jonizatory zostały ustawione w odległości około 1 m od aparatury badawczej oraz na wysokości 0,9 m i działały w czasie

przewodzenia ekspozycji płytek z podłożem. Dla każdego jonizatora wykonano eksperyment w 5 powtórzeniach.

Strategia przygotowania próbek i analiza

Eksperyment przeprowadzono w 10 powtórzeniach porównując tempo sedimentacji bakterii wraz z wzrastającym potencjałem elektrycznym. Płytki Petriego z agarem odżywczym pozostawiano odkryte na 24h. Równocześnie do folii i do płytek podłączano napięcie +5 kV, +2,5 kV, 0 kV, -2,5kV i 5 kV, na powierzchni testowej od lewej do prawej, tak jak pokazano na Grafice 1. Potencjały elektryczne były sprawdzane przed, w trakcie, oraz po każdym powtórzeniu z wykorzystaniem bezkontaktowego miernika pola elektrostatycznego. Aby zapewnić powtarzalność wyników i zrównoważony sampling, zminimalizować wpływ częstego otwierania drzwi toalety i/lub możliwe anomalie w przepływie powietrza spowodowane nieregularnym kształtem pomieszczenia, polarność aparatury badawczej została zmieniona dla połowy prób.

Przeprowadzono również 5 testów z płytkami umieszczonymi pionowo, aby zbadać horyzontalne przemieszczanie się bakterii w aparaturze badawczej; dodatkowo przeprowadzono dwa testy bez aktywnego pola elektrostatycznego. Testy przeprowadzone bez aktywne pola elektrycznego zostały użyte do porównania wyników z taśmy 0 kV. używanej podczas pozostałych testów. Miało to sprawdzić powtarzalność aparatury badawczej oraz prawidłowe jej umiejscowienie w pomieszczeniu. Następnie zostało przeprowadzone testów z użyciem jonizacji ujemnej i bipolarnej. Generatory jonów były uruchamiane na 15 minut przed rozpoczęciem danego eksperymentu i pracowały przez cały czas jego trwania.

Po zakończeniu każdego testu płytki Petriego były inkubowane w temperaturze 37°C przez 48 h, a następnie zliczano jednostki tworzące kolonie (pl. JTK; ang. CFU, colony forming units). Ze względu na dużą zmienność stężenia bioaerozolu w pomieszczeniu pomiędzy kolejnymi testami, wyniki uzyskane dla każdego powtórzenia były standaryzowane względem wyniku uzyskanego dla płytek traktowanych potencjałem 0 kV w danym powtórzeniu. Wyniki podano jako medianę stosunku średnich wartości JTK/płytkach dla każdego potencjału elektrycznego i średnich wartości JTK/płytkach traktowanych potencjałem 0 kV, (\pm) średnie odchylenie bezwzględne (ang. MAD – median

absolute deviation).

Analiza statystyczna

Aby porównać różnice pomiędzy potencjałami elektrycznymi dla grupy testów użyto testu Kruskala-Wallisa ANOVA, natomiast test Wilcozona dla par obserwacji został wykorzystany do oceny relacji pomiędzy potencjałami ± 5 kV i $\pm 2,5$ kV, a potencjałem uziemienia – 0 kV. Testy Kruskala-Wallisa zostały też wykorzystane do określenia różnic w przyciąganiu elektrostatycznym dla poszczególnych potencjałów elektrostatycznych w jonizacji obu typów. Test Manna-Whitneya-Wilcozona (ang. Mann-Whitney U-test) został wykonany w celu zbadania ESA w obecności jonów ujemnych lub bipolarnych. Testy dla których P -value wyniosło $\leq 0,05$ były uznane za statystycznie istotne. Wszystkie analizy statystyczne zostały wykonane z wykorzystaniem oprogramowania Statistica 6.1 (Statsoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

Identyfikacja bakterii

Wybrane kolonie bakterii o wyraźnych morfotypach wyizolowane w trakcie trwania badań zostały wybarwione metodą Grama, a następnie zbadane pod kątem produkcji oksydazy oraz katalazy. Ponadto bakterie zostały zidentyfikowane dzięki zastosowaniu macierzy fenotypowej przy użyciu systemu do identyfikacji fenotypowej na podstawie ich zdolności do utylizacji źródeł węgla (system Biolog, Biolog Inc., Hayward, CA, USA).

Wyniki

Empiryczne tempo sedimentacji podczas testów ESA

Zaobserwowano 2,5 krotnie zwiększenie mediany sedimentacji bakterii dla próbek traktowanych potencjałem +5 kV w odniesieniu do próbki traktowanej potencjałem 0 kV. Porównanie ilości JTK/płytkę/godzinę wskazało, że różnica jest statystycznie istotna ($P < 0,05$). Znaczący wzrost tempa sedimentacji był również zaobserwowany dla próbek traktowanych potencjałem -5 kV, lecz

osadzanie się bakterii po ujemnej stronie aparatu było znacząco niższe niż to zaobserwowane po stronie dodatniej ($P < 0,05$). Ponadto została zaobserwowana proporcjonalna sedimentacja bakterii dla próbek traktowanych potencjałem $\pm 2,5$ kV. Tabela 1 przedstawia tempo sedimentacji bakterii dla próbek traktowanych kolejnymi potencjałami elektrycznymi w porównaniu do sedimentacji grawitacyjnej.

Średnia wartość JTK/płytkę dla płytek traktowanych potencjałem 0 kV w trakcie trwania wariantu eksperymentu z włączoną

Tabela 1 Stosunek mediany sedimentacji bakterii (JTK/płytkę) dla kolejnych potencjałów elektrycznych w porównaniu do płytki traktowanej potencjałem 0 kV, dla ESA bez jonizacji, z jonizacją ujemną i z jonizacją bipolarną.

Wariant eksperymentu	+5 kV	+2,5 kV	0 kV	-2,5 kV	-5 kV
ESA bez jonizacji †	2,48	1,635	1	1,17	1,51
MAD	0,17	0,13	0	0,12	0,23
ESA z jonizacją ujemną ‡	3,08	2,09	1	0,84	0,86
MAD	0,37	0,19	0	0,14	0,26
ESA z jonizacją bipolarną ‡	1,03	1,02	1	1	1,01
MAD	0,04	0,01	0	0,03	0,03

† Wartość mediany dla 10 prób

‡ Wartość mediany dla 5 prób

MAD, eng. Median absolute deviation (średnie odchylenie bezwzględne)

aparaturą badawczą wynosiła 45. Dla wariantu z wyłączoną aparaturą badawczą wartość ta była równa 46. Wynik ten potwierdza skuteczność działania aparatu proponowanego przez Miksch *et al.* (2008) oraz pomiary wykonane miernikiem pola elektrostatycznego.

Aparat zapewnia właściwą izolację strony dodatniej od strony ujemnej, zapewniając „korytarz” dla bakterii, które nie będąc naładowane do stanu powyżej równowagi Boltzmana, mogą swobodnie sedimentować wyłącznie dzięki sile grawitacji.

Testy z płytkami umieszczonymi pionowo (horyzontalne przemieszczenie się bakterii)

Dla testów z płytkami umieszczonymi pionowo warunki prowadzenia eksperymentu były podobne do dziesięciu oryginalnych eksperymentów ESA przeprowadzonych bez jonizacji. Liczba bakterii które osadziły się na płytkach została poddana standaryzacji do

średniej wartości ilości JTK/płytkę na godzinę. Liczba bakterii przemieszczających się ze strony ujemnej aparatu na stronę dodatnią wyniosła 0,26 JTK/płytkę na godzinę. Było to o 1,6 razy więcej niż 0,16 JTK/płytkę na godzinę w przypadku bakterii przemieszczających się w stronę przeciwną (ze strony dodatniej na stronę ujemną). Wynik ten pokrywa się z wynikiem dla stosunku median dla płytek traktowanych potencjałem +5 kV i -5 kV z pierwszej części eksperymentu (1,64). Potwierdza to spostrzeżenia, że występuje tu nie tylko przyciąganie elektrostatyczne, ale też, że w przestrzeni badawczej można zaobserwować większą ilość bakterii naładowanych ujemnie, co potwierdza wyniki uzyskane przez innych badaczy (Wilson *et al.* 2001; Lee *et al.* 2004).

Testy z wykorzystaniem jonizacji ujemnej

Wyniki uzyskane w trakcie prowadzenia eksperymentu z użyciem jonizacji ujemnej są przedstawione w Tabeli 1 i wskazują na znaczącą redukcję sedymentacji bakterii na ujemnej stronie aparatury badawczej ($P < 0,002$), aż do ilości JTK uzyskanej dla sedymentacji grawitacyjnej. Jest to zgodne z założeniem, że zwiększanie gęstości jonów w powietrzu zmniejsza potencjał elektrostatyczny przeciwnie naładowanych bakterii unoszących się w powietrzu w kierunku równowagi Boltzmanna. Skutkuje to tym, że bakterie nie przenoszą ładunku dodatniego i w konsekwencji nie są przyciągane do ujemnie naładowanych płytek używanych w eksperymencie w tempie przewyższającym sedymentację grawitacyjną.

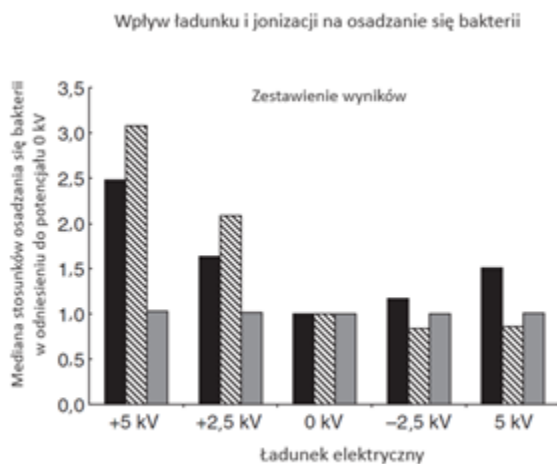
Większość stosunków uzyskanych dla ujemnych potencjałów powierzchni płytek wynosiły $< 1,0$, co sugeruje obecność słabego odpychającego oddziaływania elektrostatycznego, lecz uzyskane różnice nie były statystycznie istotne. Ponadto wykazano 24% zwiększanie mediany sedymentacji na płytkach traktowanych potencjałem +5 kV (wartość bez jonizacji 2,48) oraz 28%

wzrost na płytkach traktowanych potencjałem +2,5 kV. Pomimo tego, że wyniki te również nie były statystycznie istotne sugerują one występowanie zjawiska ładowania dyfuzyjnego. Ujmując inaczej, wydaje się prawdopodobnym, że w pomieszczeniu po zneutralizowaniu dodatnich ładunków wszystkich bakterii pozostało na tyle dużo jonów ujemnych, że na skutek kolizji podczas dyfuzji pomiędzy pozostałymi jonami ujemnymi a bakteriami unoszącymi się w powietrzu doszło do przekazania im ładunku ujemnego i zwiększenia ilości bakterii o ładunku ujemnym, które były odpychane od ujemnej strony aparatu i przyciągane do strony dodatniej.

Testy z wykorzystaniem jonizacji bipolarnej (dwubiegunowej)

Tak jak eksperymenty z zastosowaniem jonizacji ujemnej wykazały zmniejszenie tempa sedymentacji bakterii na ujemnie naładowane powierzchnie, tak zastosowanie jonizacji dwubiegunowej spowodowało zmniejszenie tempa sedymentacji na wszystkie powierzchnie badawcze bez względu na ich ładunek. Po zastosowaniu generatora jonów bipolarnych do uzyskania stężenia jonów 10^5 cm^{-3} w czasie trwania eksperymentu uzyskana mediana stosunków JTK/płytkę/godzinę były identyczne dla płytek umieszczonych na całej powierzchni aparatury badawczej, niezależnie od potencjału powierzchni płytki, dla większości prób wartość zawierała się w średnim odchyleniu bezwzględny (MAD) (Tabela 1). Porównując uzyskane w tej części eksperymentu wyniki tempa sedymentacji bakterii do wyników testów bez zastosowania jonizacji można zauważyć, że wyniki przy zastosowaniu jonizacji dwubiegunowej są niższe, niż te bez stosowania jonizacji, a różnica ta była statystycznie istotna dla wszystkich ładunków elektrycznych z wyłączeniem potencjału odniesienia 0 kV ($P < 0,02$). Wyniki te wspierają założenie mówiące, że wysokie stężenie jonów dwubiegunowych w środowisku testowym znacząco skraca czas zaniku ładunku bakterii unoszących się w powietrzu w kierunku równowagi Boltzmanna, a także zapobiega występowaniu zjawiska ładowania dyfuzyjnego.

Wyniki uzyskane w testach bez użycia jonizacji, z zastosowaniem jonizacji ujemnej oraz jonizacji bipolarnej przedstawione są również na Grafice 2.



Grafika 2 Wykres przedstawiający porównanie sedimentacji bakterii bez jonizacji, z zastosowaniem jonizacji ujemnej oraz jonizacji bipolarnej. (■) ESA bez jonizacji; (▨) Jonizacja ujemna; (▩) Jonizacja bipolarna

Grafika 2 pozwala również zauważyć, że nie tylko oddziaływania elektrostatyczne występujące pomiędzy bakteriami przenoszącymi ładunek, ale że również zwiększenie gęstości jonowej powietrza w środowisku testowym może być skuteczną metodą ograniczania sedimentacji bakteryjnej na przeciwnie naładowane powierzchnie.

Identyfikacja wybranych izolatów bakteryjnych

Zidentyfikowane izolaty bakteryjne były równomiernie rozmieszczone zarówno w testach ESA jak i w testach z wykorzystaniem jonizacji, na płytkach traktowanych wszystkimi potencjałami elektrycznymi. Na płytkach agarowych zaobserwowano 6 głównych rodzajów kolonii. Wyizolowano następujące bakterie: *Micrococcus lylae*, *Micrococcus luteus*, bakterie należące do rodzaju *Micrococcus* *Staphylococcus delphini*, *Bacillus licheniformis* oraz *Moraxella osloensis*. *Micrococcus spp.* lub podobne do nich w obrazie mikroskopowym i o podobnym wyglądzie kolonii bakterie stanowiły ponad 96% wszystkich zaobserwowanych kolonii. Co ciekawe wszystkie wyizolowane bakterie były bakteriami Gram-dodatnimi, a jedynie *M. osloensis* będący jednocześnie patogenem oportunistycznym był bakterią Gram-ujemną. Obecność kolonii *M. osloensis* i *B.*

licheniformis była niespodziewana. Równie interesującą kwestią (biorąc pod uwagę usytuowanie środowiska testowego w toalecie) był brak występowania bakterii *Escherichia coli* oraz *Staphylococcus spp* innych niż *S. delphini*.

Dyskusja i wnioski

Allen *et al.* (2006) wykazali, że przemieszczenie obiektu posiadającego ładunek statyczny w pobliżu pacjenta szpitalnego indukuje powstanie pola elektrostatycznego otaczającego tego pacjenta, powodując jednocześnie przyciąganie potencjalnie szkodliwych bakterii przenoszonych drogą powietrzną. Wyniki tego eksperymentu jasno wskazują na to, że przyciąganie elektrostatyczne (ESA) może być znaczącą siłą wpływającą na sedimentację bakterii unoszących się w powietrzu, posiadających ładunek elektryczny wyższy niż równowaga Boltzmann. Tempo sedimentacji bakteryjnej było ponad dwukrotnie wyższe w testach gdzie do powierzchni badanej przyłożone było napięcie +5 kV. Tempo sedimentacji na powierzchni do której przyłożone było napięcie -5 kV również było większe, lecz nie aż tak, jak w przypadku potencjału dodatniego. Tempo sedimentacji wzrastało po obu stronach aparatury badawczej wskazując, że w przestrzeni badawczej były obecne bakterie przenoszące ładunki zarówno dodatnie jak i ujemne. Testy bez zastosowania jonizacji, jak i te z zastosowaniem płytek umieszczonych pionowo wykazały, że więcej w przestrzeni badawczej było bakterii naładowanych ujemnie, co pokrywa się z obecnym stanowiskiem literatury (Wilson *et al.* 2001; Lee *et al.* 2004).

Tak jak i dla innych naładowanych cząsteczek, oddziaływania elektrostatyczne będą występować, jeżeli bakterie unoszące się w powietrzu będą przenosiły ładunek elektrostatyczny oraz będą się znajdować w pobliżu powierzchni o ładunku przeciwnym. Pomimo, że określenie ładunku poszczególnych bakterii nie było celem eksperymentu, tempo sedimentacji rosło proporcjonalnie wraz ze wzrastającym napięciem powierzchni, co sugeruje, że bakterie unoszące się w powietrzu przenosiły wysokie ładunki elektrostatyczne. Biorąc pod uwagę fakt, że zmniejszanie się ładunku elektrostatycznego bioaerozolu do poziomu poniżej poziomu równowagi Boltzmann w warunkach normalnych trwa nawet do dwóch godzin (Hinds 1999), prawdopodobnie należy

doszukiwać się nowego źródła bioaerozolu w środowisku testowym (ze względu na wysoki stan naładowania bakterii). Co za tym idzie, metody pozwalające na zmniejszenie czasu potrzebnego na obniżenie ładunku elektrostatycznego na bakteriach unoszących się w powietrzu, wraz z monitorowaniem generowania bioaerozoli, powinny być włączone do schematów profilaktyki zmniejszania ryzyka zakażeń mikrobiologicznych wywołanych oddziaływaniami elektrostatycznymi.

Naładowane cząsteczki zmniejszają swój ładunek aż do poziomu równowagi Boltzmanna w zależności od tego, ile ładunków elementarnych przenoszą, ale też od stężenia jonów w otoczeniu. Zwiększenie gęstości jonów w powietrzu do poziomu wyższego niż 10^5 jonów cm^{-3} znacząco zmniejsza czas potrzebny na odprowadzenie ładunku w eksperymentach z wykorzystaniem jonizacji. Zastosowanie jonizacji jednobiegunowej skutkowało zmniejszeniem sedymentacji bakterii przenoszących przeciwny ładunek elektrostatyczny do poziomu porównywalnego z sedymentacją grawitacyjną. Jonizacja jednobiegunowa przyczyniła się jednocześnie do powstania zjawiska ładowania dyfuzyjnego i zwiększenia sedymentacji na powierzchni o polarności przeciwnej do emitowanych jonów. Sugeruje to, że zastosowanie jonizacji jednobiegunowej może nie być dostateczną metodą kontroli zakażeń bakteriami przenoszonymi przez powietrze. Z drugiej strony zwiększenie gęstości jonów dwubiegunowych obniżyło ilość bakterii na całej powierzchni aparatury testowej do poziomu grawitacyjnego tempa sedymentacji bez względu na potencjał powierzchni, a także spowodowało eliminację przyciągania elektrostatycznego i zjawiska ładowania dyfuzyjnego.

Jedną z niespodziewanych obserwacji dokonanych w trakcie trwania eksperymentu była znaczna przewaga bakterii Gram-dodatnich wśród bakterii osadzających się na powierzchni badawczej i względna nieobecność bakterii Gram-ujemnych. Biorąc pod uwagę lokalizację

przestrzeni badawczej (często użytkowana męska toaleta), spodziewane było wyizolowanie przy pomocy płytek agarowych bakterii *E. coli* a także większej ilości bakterii należących do rodzaju *Staphylococcus* spp. Jednakże w trakcie trwania eksperymentu nie stwierdzono obecności bakterii *E. coli* a jedyną bakterią należącą do rodzaju *Staphylococcus* była *S. delphini*. Możliwe wyjaśnienia mogą obejmować źle dobrane miejsce poboru próbek, różnice w ładunku powierzchniowym mikroorganizmów, zakłócenia wynikające z kształtu ścian, odległość od źródła generowanych bioaerozoli, żywotność mikroorganizmów, a także poziom ich występowanie w danym miejscu. Niektóre bakterie należące do rodzaju *Staphylococcus* spp mogły zostać pominięte ze względu na ich podobieństwo morfologiczne do *S. delphini*. Należy przeprowadzić dodatkowe analizy w celu określenia występowania tych mikroorganizmów.

Należy wspomnieć, że przemysł zajmujący się produkcją półprzewodników zaimplementował metody oparte na przyciąganiu elektrostatycznym do kontroli sedymentacji cząsteczek w pomieszczeniach o wysokim standardzie czystości (Cooper *et al.* 1990). Wyniki przeprowadzonych badań sugerują, że podobne metody oparte o jonizatory mogłyby być zastosowane w celu zmniejszenia ładunków elektrostatycznych powierzchni szpitalnych, co może zmniejszyć ryzyko wystąpienia potencjalnych zakażeń powstałych przez kontakt z powierzchniami fomitycznymi, na których mogą osadzać się bioaerozole. Wyniki naszych badań sugerują, że bioaerozole przenoszące ładunki elektrostatyczne oraz materiały, które można znaleźć w otoczeniu pacjenta (plastikowe przedmioty, urządzenia elektryczne służące do monitorowania i leczenia pacjentów), mogą stanowić nową i ważną ścieżkę do badań na temat zmniejszania ryzyka wystąpienia zakażenia szpitalnego. Konieczne są dodatkowe badania przeprowadzone w warunkach szpitalnych w celu przetestowania efektu zastosowania metod kontroli elektrostatycznej w obszarach szpitali, w których są leczeni pacjenci najbardziej narażeni na zainfekowanie, np. oddziały intensywnej opieki medycznej, oddziały leczenia oparzeń, oddziały onkologiczne oraz sale operacyjne.

Bibliografia

- Allen, J., Close, J.J. and Henshaw, D.L. (2006) Static electric fields as a mediator of hospital infection. *Indoor Built*

- Environ* 15, 49–52.
- Anonymous. (1998) *Electrostatic Compatibility: Guide to Assess and Control Electrostatic Discharge (ESD) and Electrostatic Attraction (ESA) for Equipment*. Mountain View, CA: Semiconductor Equipment and Materials International, Sept. 1998: SEMI E78-0998.
- Becker, R., Kristjanson, A. and Waller, J. (1996) Static electricity as a mechanism of bacterial transfer during endoscopic surgery. *Surg Endosc* 10, 397–399.
- Beggs, C.B. (2003) The airborne transmission of infection in hospital buildings: fact or fiction? *Indoor Built Environ* 12, 9–18.
- Cooper, D., Miller, R.J., Wu, J.J. and Peters, M.H. (1990) Deposition of submicron aerosol particles during integrated circuit manufacturing: theory. *Particulate Sci Tech* 8, 209–224.
- Cozanitis, D.A., Ojajarvi, J. and Makela, P. (1988) Antistatic treatment for reducing airborne contamination of insulating materials in intensive care. *Acta Anaesthesiol Scand* 32, 343–346.
- Difco Laboratories. (1998) *Difco Manual*, 11th edn. Sparks, MD: Difco Laboratories, Division of Becton Dickinson and Company.
- Duguid, J.P. (1945) The size and the duration of air-carriage of respiratory droplets and droplet-nuclei. *J Hyg* 54, 471–479.
- Gabbay, J., Bergerson, O., Levi, N., Brenner, S. and Eli, I. (1990) Effect of ionization on microbial air pollution in the dental clinic. *Environ Res* 52, 99–106.
- Grinshpun, S.A., Mainelis, G., Trunov, M., Adhikari, A., Reponen, T. and Willeke, K. (2005) Evaluation of ionic air purifiers for reducing aerosol exposure in confined spaces. *Indoor Air*, 15, 235–245.
- Hinds, W.C.. (1999) *Aerosol Technology*, 2nd edn. New York, NY: Wiley Interscience.
- Lee, S.A., Willeke, K., Mainelis, G., Adhikari, A., Wang, H., Reponen, T. and Grinshpun, S.A. (2004) Assessment of electrical charge on airborne microorganisms by a new bioaerosol sampling method. *J Occup Environ Hyg* 1, 127–138.
- Lidwell, O.M., Noble, W.C. and Dolphin, G.W. (1959) The use of radiation to estimate the numbers of microorganisms in air-borne particles. *J Hyg* 57, 299–308.
- Mainelis, G., Willeke, K., Baron, P., Reponen, T., Grinshpun, S.A., Gorny, R.L. and Trakumas, S. (2001) Electrical charges on airborne microorganisms. *J Aerosol Sci* 32, 1087–1110.
- Mainelis, G., Willeke, K., Baron, P., Grinshpun, S.A. and Reponen, T. (2002) Induction charging and electrostatic classification of micrometer-size particles for investigating the electrobiological properties of airborne microorganisms. *Aerosol Sci Technol* 36, 479–491.
- Makela, P., Ojajarvi, J., Graeffe, G. and Lehtimaki, M. (1979) Studies on the effects of ionization on bacterial aerosols in a burns and plastic surgery unit. *J Hyg (Lond)* 83, 199–206.
- Miksch, R., Gefter, P., Gehlke, S., Halpin, H.A., Meschke, J.S., Smith, B. and Yost, M. (2008) *Relationship Between Surface Electrostatic Potential and Deposition of Airborne Bacteria*. (Accepted for publication in *IEEE Transactions on Industry Applications*). New York: IEEE Industry Applications Society.
- Noble, W.C.. (1981) Dispersal of microorganisms from skin. In: *Microbiology of Human Skin*, ed. Noble, W.C., 2nd edn. pp. 79–85. London: Lloyd-Luke Ltd.
- Overton, E. (1988) Bedmaking and bacteria. *Nurs Times* 84, 69–71.
- Papineni, R. and Rosenthal, F. (1997) The size distribution of droplets in the exhaled breath of healthy human subjects. *J Aerosol Med* 10, 105–116.
- Schaal, K.P. (1991) Medical and microbiological problems arising from airborne infection in hospitals. *J Hosp Infect* 18(Suppl. A), 451–459.
- Shiomori, T., Miyamoto, H., Makishima, K., Yoshida, M., Fujiyoshi, T., Udaka, T., Inaba, T. and Hiraki, N. (2002) Evaluation of bedmaking-related airborne and surface methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* contamination. *J Hosp Infect* 50, 30–55.
- Wilson, W.W., Wade, M.M., Holman, S.C. and Champlin, F.R. (2001) Status of methods for assessing bacterial cell surface charge properties based on zeta potential measurements. *J Microbiol Methods* 43, 153–164.