

# BIOAEROSOLS ATMOSPHERIQUES : NOUVELLES TECHNIQUES DE DETECTION UTILISEES DURANT LES CAMPAGNES BIODTECT DE 2014 A 2017 AU CEA SACLAY

R. Sarda-Estève<sup>1\*</sup>, D. Baisnée<sup>1</sup>, V. Crenn<sup>2</sup>, M. Thibaudon<sup>3</sup> et Benjamin Guinot<sup>4</sup>

<sup>1</sup> CEA, route de l'Orme 91190 Saint Aubin

<sup>2</sup> ADDAIR, 189 Rue Audemars, 78530 Buc

<sup>3</sup> RNSA, 11 Chemin de la Creuzille - Le plat du Pin 69690 Brussieu

<sup>4</sup> LA, CNRS, UPS, Université Toulouse 3, 14 Avenue Edouard Belin, 31400 Toulouse

## **1. INTRODUCTION**

Les particules atmosphériques d'origine biologique ou Bioaérosols, sont constituées de micro-organismes (pollens, moisissures, bactéries, virus), de fragments de matériaux biologiques (débris végétaux et squames animales) et de substances biologiques (toxines, cires végétales). De nombreuses études documentent encore en 2018 l'importance du rôle de ces bioaérosols dans les processus climatiques, leurs effets sur la santé ainsi que leurs interactions avec les polluants atmosphériques. Cela a été rendu possible grâce aux progrès technologiques sur les dispositifs de détection et de quantification en temps réel qui délivrent une information sur la variabilité fine des concentrations. Ces techniques innovantes reposent sur la mesure rapide de la fluorescence de particules dans un flux d'air. L'objectif scientifique du projet BIODTECT a été d'évaluer la capacité de ce type d'instrument et plus particulièrement du Wideband Integrated Bioaerosol Spectrometer (WIBS, DMT USA) à détecter la présence des bioaérosols dans un environnement complexe qui mêle sources naturelles et sources anthropiques. Les campagnes intensives BIODTECT se sont déroulées entre 2013 et 2017 au CEA/LSCCE, un observatoire situé à 30 km au sud-ouest de Paris. Les résultats obtenus par le WIBS ont été comparés aux mesures traditionnelles de collection et d'identification. Le comptage des pollens et des moisissures a été effectué par le Réseau National de Surveillance Aérobiologique (RNSA) au moyen d'un piège à spores (VPPS 2000, Lanzoni, Italy). Les prélèvements atmosphériques, la mise en culture des bactéries et leur dénombrement ont été réalisés au CEA, au moyen d'un préleveur séquentiel (LECKEL 47/50, ADDAIR, France) et de milieux de croissance spécifiques. Un dispositif d'analyse en ligne de traceurs chimiques caractéristiques des bioaérosols a également été déployé sur le site d'observation, grâce au couplage d'un collecteur en phase liquide (Particle Into Liquid Sample, Brechtel, USA) et d'une Chromatographie Ionique (HPAEC-PAD, Thermo, France). Nous présentons ici la stratégie expérimentale utilisée pour contraindre les mesures de fluorescence du WIBS ainsi que les résultats préliminaires obtenus lors des différentes campagnes intensives. Un des résultats majeurs est que le WIBS peut documenter rapidement et de manière raisonnable les événements de bioaérosols comme les pollens et les spores fongiques dans des environnements urbain et suburbain.

## **2. MATERIEL ET METHODES**

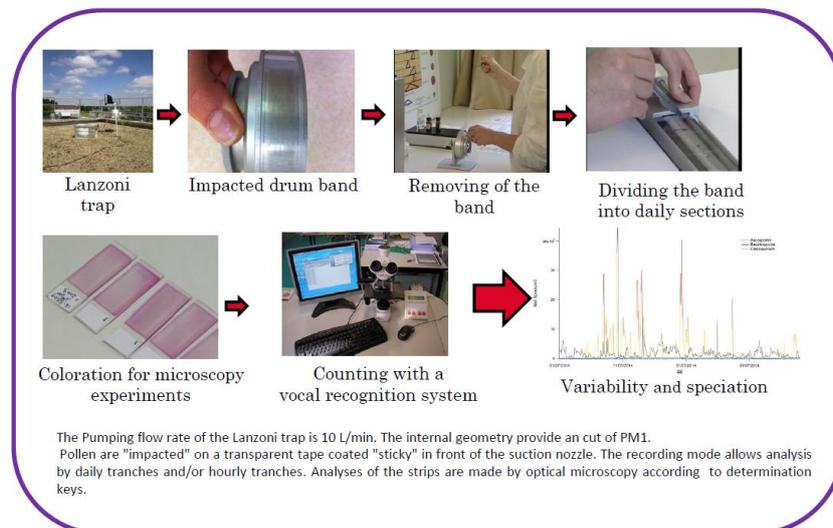
Dans cette section nous présenterons les différentes techniques qui ont été utilisées et inter-comparées à la méthode de référence pour réaliser une détection en temps réel des bioaérosols dans le mode grossier, c'est-à-dire une taille inférieure à 10 µm.



**Figure1 : Campagne internationale d’Intercomparaison des méthodes de détection sur le site du CEA Saclay en 2013**

### 2.1. CAPTEUR VOLUMETRIQUE PAR IMPACTION

Le capteur volumétrique par impaction est un préleveur de pollens et de moisissures qui est utilisée par le RNSA depuis 33 ans afin de quantifier et caractériser les différents types et genres présents dans l’air. Brièvement le principe est le suivant : les particules sont collectées par impaction sur une bande adhésive fixée sur une pièce cylindrique appelée tambour, grâce à un débit d’aspiration fourni par une pompe (10l/mn). Le tambour défile devant la buse d’aspiration et effectue ainsi une rotation sur une semaine, au terme de laquelle la bande adhésive est retirée, puis découpée en sept parties égales qui correspondent chacune à une journée de prélèvement. Ces fractions sont colorées puis analysées par microscopie optique. Cette procédure permet de connaître les concentrations atmosphériques journalières de pollens et de moisissures comme cela est illustré par la Figure 2. Cette méthode est aujourd’hui la seule qui permette de différencier pleinement la nature des Bioaérosols présents dans l’air.



**Figure 2 – Principe de la collection et de l’analyse des pollens et de moisissures atmosphériques**

## 2.1. LECKEL 47/50

Le LECKEL 47/50 est un préleveur de particules atmosphériques à grand débit (2,3 m<sup>3</sup>/h). Les particules présentes dans la fraction grossières (PM<sub>10</sub>) sont collectées sur des membranes en quartz ou sur des membranes en polycarbonate en fonction des analyses souhaitées. Les échantillons une fois collectés sont extraits dans un solvant aqueux qui est de l'eau ultra pure. La sonication est utilisée pour l'analyse des sucres et des ions et l'agitation pour la mise en culture sur milieux gélosés spécifiques. De cette manière on peut établir une corrélation entre la présence de bioaérosols et d'autres paramètres avec une bonne résolution temporelle.

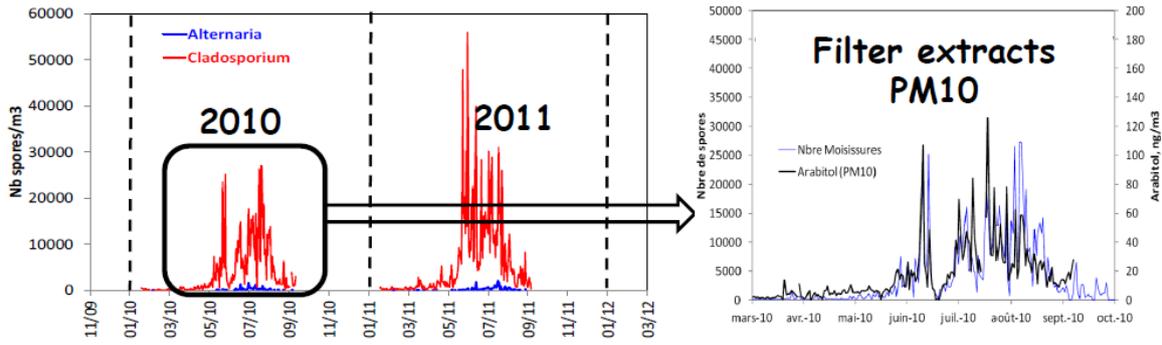


Figure 3 – Principe de fonctionnement du LECKEL 47/50

## 2.2. WIBS

Ce capteur de bioaérosols détecte la présence de particules biologiques en temps réel. Il est utilisé dans de nombreuses campagnes de terrain et de laboratoire. Le principe de fonctionnement est le suivant : l'air est pompé dans une chambre optique centrale à un débit de 2,4 L / min, où un laser à diode, à onde continue de 635 nm, est utilisé pour le comptage et la détection de particules une à une, de leur taille aérodynamique ainsi que du facteur d'asymétrie (AF) qui donne une indication de la sphéricité des particules individuelles. Deux sources UV au xénon sont filtrées et pulsées (280 nm et 370 nm). Elles sont déclenchées de manière séquentielle. Toute l'émission de fluorescence résultant de l'excitation d'une particule est collectée dans deux bandes de longueur d'onde: 310 à 400 nm et 420 à 650 nm. On a donc trois canaux de fluorescence: (i) excitation à 280 nm, émission de 310 à 400 nm (canal FL1); (ii) excitation à 280 nm, émission de 420 à 650 nm (canal FL2); (iii) excitation à 370 nm, émission de 420 à 650 nm (canal FL3) comme cela est illustré par la figure 3. La gamme de taille pouvant être détectée avec le WIBS est comprise entre 0,5 et 22 µm.

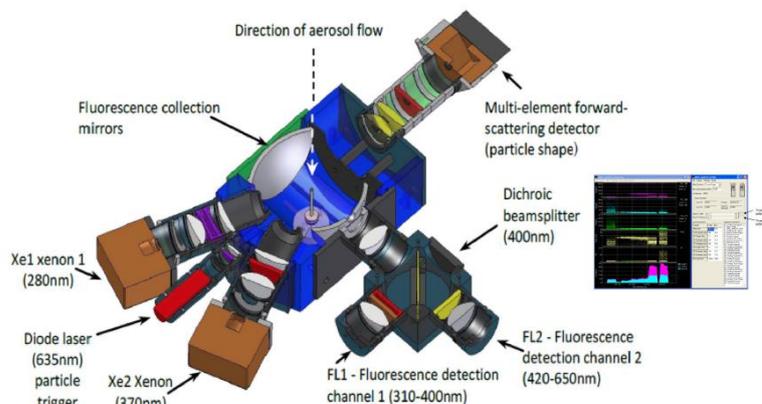


Figure 4 – Principe de fonctionnement du WIBS

### 2.3. PILS LC-MSMS

Le PILS permet la mise en solution directe des particules présentes dans l'air à un débit de 15 litres par minutes. La chromatographie liquide (LC) permet la séparation des molécules chimiques présentes dans l'échantillon et la spectrométrie de masse (MS) permet de caractériser ces molécules. Le principe de cette chaîne analytique est le suivant : les particules présentes dans l'air sont mises en solution en temps réel puis acheminées vers un dispositif de séparation afin d'être détectées en continu, comme cela est illustré par la figure 5. Cette méthode qui est très sensible, permet d'identifier des cibles chimiques caractéristiques de certains bioaérosols.

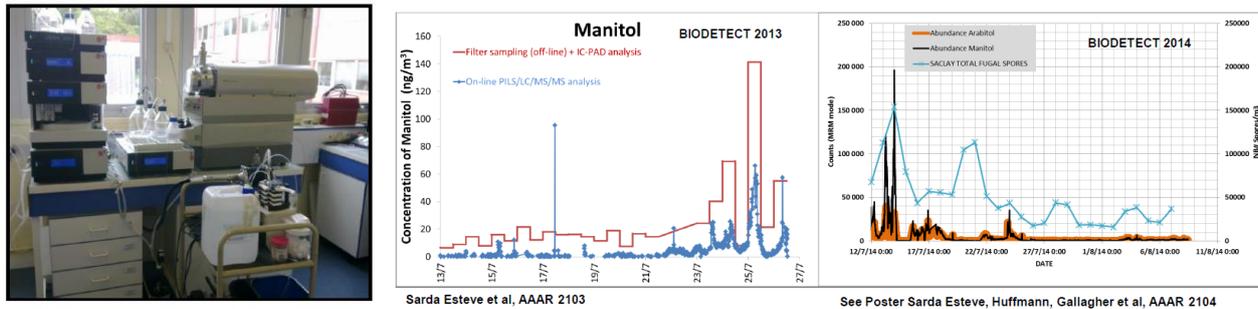


Figure 5 – Couplage du PILS avec une chromatographie liquide haute performance et d'un spectromètre de masse triple quadripôle pour détection en temps réel.

### 2.4. SPECTROMETRIE DE MASSE A TRES HAUTE RESOLUTION

La spectrométrie de masse à très haute résolution permet d'analyser des grosses molécules comme les protéines avec une très bonne résolution en masse associée à une très forte spécificité. Une fois collectés, les échantillons suivent une procédure assez complexe pour extraire des marqueurs chimiques spécifiques qui tracent la présence des bioaérosols comme cela est présenté en Figure 6.

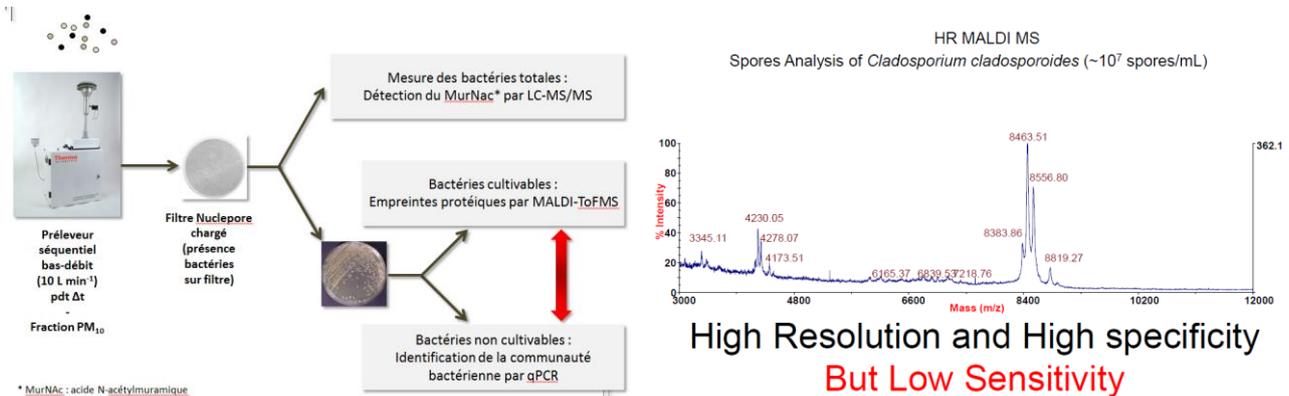


Figure 6 – Principe de la stratégie expérimentale et spectre à très haute résolution caractéristique de *Cladosporium* atmosphérique

### 2.1. PILS HPAEC PAD

La spectrométrie de masse étant une technique onéreuse le couplage du PILS a été réalisé pour la première fois directement avec un dispositif plus simple d'utilisation et tout aussi sensible en 2015 présenté en Figure 7. Le dispositif utilisé est une chromatographie

liquide (LC) Haute Pression (HP) muni d'une détection ampérométrique pulsée. Certaines optimisations concernant les débits d'air et des échantillons liquides ont permis de réaliser la détection de cibles chimiques avec une très bonne sensibilité, toutes les heures.

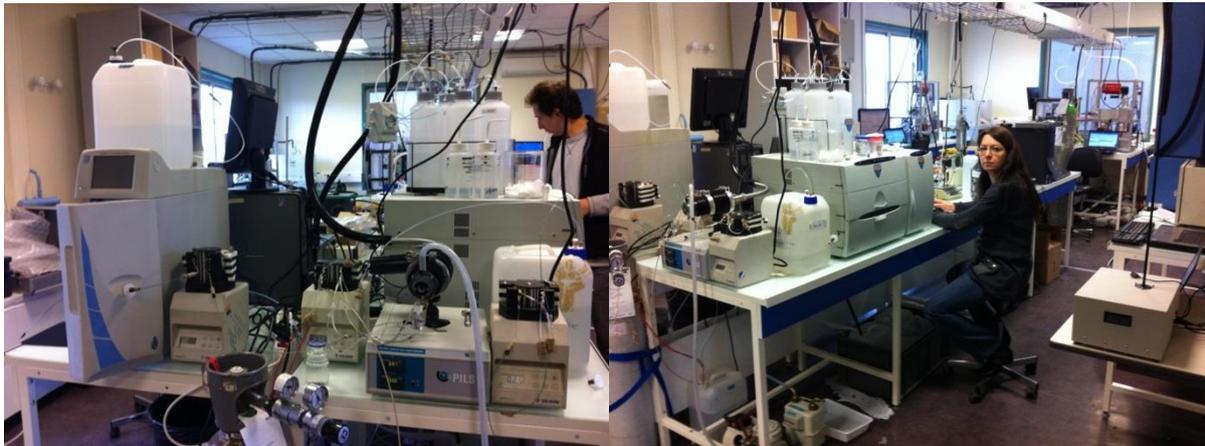


Figure 7 – Couplage PILS HPAECPAD - CEA Saclay, hiver et été 2015

## 2.1. RESULTATS ET CONCLUSIONS

Aujourd'hui, la détection en temps réel des bioaérosols reste un défi expérimental. La voie technologique privilégiée pour leur détection et quantification est la fluorescence induite de particules comptées une à une. Cette technique a fortement évolué ces dernières années et montre de bonnes performances en ce qui concerne la détection et la caractérisation des grosses particules comme les pollens. Cependant pour la détection rapide de la présence de moisissures, de spores de champignons ou de bactéries, des travaux de recherche sont encore nécessaires. Cela est lié en partie à la complexité de la matrice étudiée : celle des aérosols atmosphériques naturels. Pour répondre à ce challenge, il est nécessaire de comparer différentes techniques analytiques grâce à des campagnes d'intercomparaison. Ces campagnes d'intercomparaison permettent de comprendre quels sont les signaux de fluorescence à prendre en compte mais également de développer des algorithmes de déconvolution des sources. Comme le montre la figure 8, le WIBS peut détecter la présence de moisissures, de spores de champignons et de bactéries dans l'air ambiant avec une très bonne sensibilité. Cependant, le signal de fluorescence doit être mieux exploité.

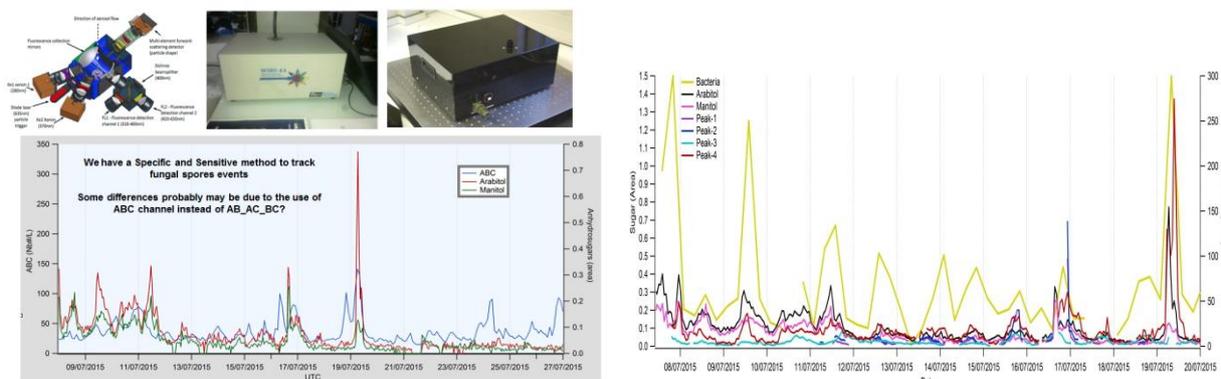


Figure 8 – Variabilité atmosphérique de la fluorescence des particules, des moisissures et des bactéries

### **3. REFERENCES**

Sarda-Estève, R., Gallagher, M., Huffman, J. A., Poeschl, U., Su, H., Kiselev, D., ... & Kok, G. (2014, October). International Inter-comparison of Laser/Light-induced Fluorescence (L/LIF) Methods for the Real-time Detection of Bioaerosols: BIODTECT 2014 Campaign at CEA/LSCE ACTRIS SUPERSITE (Saclay, France). In *33. Annual conference of the American Association for Aerosol Research (AAAR)*.

Sarda-Estève, R., Huffman, J. A., Gallagher, M., Thibaudon, M., Baisnee, D., Baumier, R., ... & Crawford, I. (2014, October). BIODTECT 2014 campaign in Paris area: overview of the experimental strategy and preliminary results. In *33. Annual conference of the American Association for Aerosol Research (AAAR)*.

Toprak, E., & Schnaiter, M. (2013). Fluorescent biological aerosol particles measured with the Waveband Integrated Bioaerosol Sensor WIBS-4: laboratory tests combined with a one year field study. *Atmospheric Chemistry & Physics*, *13*(1).

Robinson, N. H., Allan, J. D., Huffman, J. A., Kaye, P. H., Foot, V. E., & Gallagher, M. W. (2013). Cluster analysis of WIBS single-particle bioaerosol data. *Atmospheric Measurement Techniques*.

Forde, E., Gallagher, M., Foot, V., Sarda-Estève, R., Crawford, I., Kaye, P., ... & Topping, D. (2019). Characterisation and source identification of biofluorescent aerosol emissions over winter and summer periods in the United Kingdom. *Atmospheric Chemistry and Physics*, *19*(3), 1665-1684.