

Les particules biologiques dans l'air

Michel THIBAUDON⁽¹⁾

L'air, bien que trait d'union entre une source de particules et un récepteur, est chargé d'une multitude de particules d'origine biologique, qui sont transportées par les courants d'air. Leur concentration peut atteindre, localement, et à certaines périodes, plusieurs dizaines de milliers d'unités par mètre cube d'air.

En France, jusqu'à juillet 2010, aucune réglementation n'imposait la surveillance de ces particules dans l'air. Mais la loi n° 2010-788 du 12 juillet 2010 portant engagement national pour l'environnement et modifiant le code de l'environnement a, par l'intermédiaire de son article 179 modifiant l'article L. 220-2 dudit code, inclus les agents biologiques dans les éléments constitutifs de la pollution atmosphérique ; l'article L. 220-2 précise en effet que « *Constitue une pollution atmosphérique au sens du présent titre l'introduction par l'homme, directement ou indirectement ou la présence dans l'atmosphère et les espaces clos d'agents chimiques, biologiques ou physiques ayant des conséquences préjudiciables de nature à mettre en danger la santé humaine, à nuire aux ressources biologiques et aux écosystèmes, à provoquer des nuisances olfactives excessives* ». Cette reconnaissance du caractère polluant rend nécessaire une surveillance des agents biologiques au même titre que la surveillance des agents chimiques et physiques (cf. Titre II du Livre II du code de l'environnement).

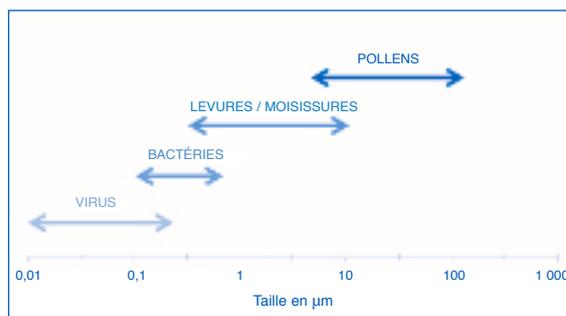
Les particules biologiques retenues dans cet article sont :

- les virus,
- les bactéries,
- les levures et moisissures,
- les pollens,

pour leur rôle potentiel sur la santé humaine.

La taille générale de ces particules varie de 0,01 µm à plus de 100 µm (Cf. tableau I).

Tableau I.
Taille générale des particules biologiques.



Virus : 0,01 à 0,4 µm ; Bactéries : 0,1 à 0,7 µm
Levures/Moisissures : 0,5 à 10 µm ; Pollens : 7 à 150 µm

Descriptions

Les virus

Le virus est un micro-organisme infectieux possédant un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN). Il ne peut se répliquer qu'en pénétrant dans une cellule et en utilisant sa machinerie cellulaire.

Les virus peuvent exister sous forme extracellulaire, ils sont alors des objets particuliers, infectieux, constitués d'au moins un acide nucléique englobé dans une capsid de protéine, ou sous forme intracellulaire nécessitant la présence de la cellule hôte pour leur réplication.

La présence de virus infectieux dans l'air à proximité de personnes malades a été largement étudiée, la toux et les éternuements étant à l'origine de l'aérosolisation de ces virus. Par exemple, dans les services d'urgence [1], des virus actifs ont été mesurés à plusieurs mètres de leur réservoir humain et après plus d'une heure [2].

D'autres travaux ont montré la transmission aérienne de virus dans les transports aériens commerciaux [1] [3] [4].

(1) RNSA, Brussieu.

Très peu d'études concernent la présence de virus dans l'air. La revue faite par Dale W. Griffin [5] en 2005 démontre qu'un certain nombre de virus présents dans le sol (poliovirus, bactériophage MS2) peuvent se trouver aérosolisés et peuvent suivre de longs transports atmosphériques.

Les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes ubiquistes, unicellulaires et sans noyau (procaryotes) dont le génome est constitué d'ADN. Celui-ci consiste en un seul chromosome, et on note éventuellement la présence de plasmides.

Les bactéries sont omniprésentes dans les basses couches de la troposphère où elles constituent une partie des bioaérosols [6]. Elles jouent un rôle important dans les phénomènes météorologiques comme par exemple le rôle de noyau de glace au sein des nuages [7]. Les concentrations de bactéries dans l'air restent faibles par rapport à d'autres particules biologiques comme les moisissures, de l'ordre de 10^3 à 10^5 unités/m³ [8].

Sur des approches plus urbaines, dans des cas particuliers liés, par exemple, aux tours aérorefrigérantes des systèmes de climatisation, on peut trouver un certain nombre de micro-organismes dont, en particulier, des légionnelles [9].

Les moisissures

Les moisissures sont des champignons appartenant aux eucaryotes avec des noyaux typiques entourés d'une membrane et contenant des chromosomes.

Toutes les moisissures sont saprophytes, se développant sur des matériaux inertes très variés (papiers, bois, aliments, etc.).

Les champignons sont formés d'un appareil végétatif qui se présente soit sous forme de cellules isolées dans le cas des levures, soit sous forme de filaments tubulaires, les hyphes. La multiplication des champignons peut se faire par fragmentation, fusion ou production de spores ; ils se reproduisent de façon sexuée et/ou asexuée.

Le développement normal d'une moisissure comprend une phase végétative de croissance et de nutrition, et presque simultanément une phase reproductive au cours de laquelle se forment des spores qui assurent la dispersion.

Les spores et fragments mycéliens sont retrouvés naturellement en suspension dans l'air extérieur, et en quantités faramineuses (jusqu'à plusieurs centaines de milliers de particules/m³ d'air).

Après une étape de dispersion, les moisissures peuvent sédimenter sur des supports divers et être transférées à l'intérieur des locaux. De nombreuses variétés de moisissures sont recensées, mais deux principaux genres méritent d'être présentés, *Cladosporium* et *Alternaria*, en raison de leur forte présence dans l'air atmosphérique ainsi que de leur potentiel allergisant [10]. L'air lui-même n'est pas un

habitat pour les moisissures, mais la plupart des moisissures ont un mode de dispersion anémophile (transport aérien). Les périodes chaudes et humides permettent une croissance optimale des moisissures.

L'amplification des moisissures à l'intérieur des locaux est assez courante et se produit lorsqu'une humidité excessive est présente [11], c'est le cas par exemple pour *Cladosporium*, *Penicillium* et *Aspergillus spp.*

La concentration en spores de moisissures dépend des conditions atmosphériques. Elle atteint son maximum en fin d'été et au début de l'automne, surtout par temps chaud et humide. De ce fait, à l'intérieur des maisons, on les trouvera dans les endroits les plus humides et les moins bien ventilés. Mais la plupart des concentrations trouvées à l'intérieur des locaux proviennent de sources primaires externes.

Les pollens

Le pollen (du grec *πάλη* (*palè*) : farine ou poussière), constitue, chez les végétaux supérieurs, l'élément fécondant mâle de la fleur. Ce sont de minuscules grains de forme plus ou moins ovoïde de quelques dizaines de micromètres de diamètre, initialement contenus dans l'anthere à l'extrémité des étamines de la fleur. L'homologue du grain de pollen chez les végétaux inférieurs (algues, mousses, prothalles des fougères) est le gamétophyte mâle [12]. Les pollens allergisants sont en majorité issus d'espèces anémophiles (dispersion des graines par le vent).

Concernant la taille, on considère que les pollens les plus petits sont ceux du myosotis (7 μ m) et les plus gros, ceux de la courge (150 μ m). Les pollens de moins de 20 μ m sont réputés plus souvent allergènes ; il s'agit notamment des pollens des espèces suivantes : bouleau, charme, noisetier, frêne, olivier, peuplier, cyprès, platane, aulne, graminées, ambroisie, plantain, pariétaire.

Si plus de 200 types de pollens se retrouvent dans l'atmosphère, à peine une vingtaine présente un potentiel allergisant significatif, mais constitue 70 % des quantités aéroportées. Ce potentiel allergisant correspond à la capacité du grain de pollen à provoquer des allergies respiratoires chez les sujets prédisposés, il dépend essentiellement de son contenu en allergènes majeurs.

On retrouve dans les grains de pollens des granules cytoplasmiques, qui ont fait l'objet de diverses études notamment sur les pollens de graminées. Dans un grain de pollen, on peut trouver entre 700 et 1 000 granules d'amidon et près de 1 million de microparticules. À cause de leur taille, ces particules peuvent pénétrer plus profondément dans l'appareil respiratoire que le pollen entier et induire ainsi des réactions allergiques. La caractérisation de l'allergénicité de ces granules comporte 3 volets : épidémiologique, expérimental et analytique. Les résultats d'une étude épidémiologique mettent en évidence un effet éventuel des granules dans la survenue ou l'aggravation des allergies respiratoires et de l'asthme [13].

Il est possible d'identifier une espèce végétale par l'observation de son pollen. Les caractères observés sont la taille (de 7 à 150 micromètres), la forme générale et l'aspect de l'exine (paroi externe du grain de pollen) ; la stratification, les sculptures et granulations de la surface, le nombre, la forme et la disposition des ouvertures [14].

Quelques exemples de pollens avec leur potentiel allergisant (P.A.) sur une échelle de 0 (nul) à 5 (fort) :

POLLENS D'ARBRES :

- **Le noisetier** : famille BETULACEAE espèce *Corylus avellana*, taille moyenne 23-26 µm, pollinisation janvier-mars (Potentiel Allergisant moyen = 3/5).
- **L'aulne** : famille BETULACEAE espèce *Alnus scordata*, taille 20-25 µm, pollinisation février-mars (Potentiel Allergisant moyen = 3/5).
- **Le peuplier** : famille des SALICACEAE espèce *Populus sp.*, pollinisation mars-avril (Potentiel Allergisant moyen = 2 ou 3/5).
- **Le saule** : famille des SALICACEAE espèce *Salix cinerea*, pollinisation mars-avril (Potentiel Allergisant moyen = 2 ou 3/5).
- **Le cyprès** : famille des CUPRESSACEAE espèce *Chamaecyparis lawsoniana*, pollinisation février-avril (Potentiel Allergisant très élevé = 5/5).
- **Le bouleau** : famille des BETULACEAE espèce *Betula pendula*, pollinisation avril-mai (Potentiel Allergisant très élevé = 5/5).
- **Le platane** : famille des PLATANACEAE espèce *Platanus*, pollinisation avril-mai (Potentiel Allergisant moyen à élevé = 4/5).
- **Le charme** : famille BETULACEAE espèce *Carpinus betulus*, 40 µm, pollinisation avril-mai (Potentiel Allergisant élevé = 4/5).
- **Le frêne** : famille des OLEACEAE espèce *Fraxinus excelsior*, pollinisation avril-mai (Potentiel Allergisant élevé = 4/5).
- **L'olivier** : famille des OLEACEAE espèce *Olea europaea*, pollinisation mai (Potentiel Allergisant moyen 3 ou 4/5).

POLLENS HERBACÉES :

- **La pariétaire** : famille des URTICACEAE espèce *Parietaria sp.*, pollinisation mai-juillet (Potentiel Allergisant élevé = 4/5).
- **Les graminées** : famille des POACEAE, pollinisation mai-septembre (Potentiel Allergisant très élevé = 5/5).
- **Le plantain** : famille des PLANTAGINACEAE espèce *Plantago major L.*, pollinisation mai-septembre (Potentiel Allergisant moyen = 3/5).
- **Le rumex** : famille POLYGONACEAE espèce *Rumex acetosa L.*, pollinisation juin-septembre (Potentiel Allergisant faible = 2/5).
- **L'armoise** : famille des ASTERACEAE espèce *Artemisia vulgaris L.*, pollinisation juillet-septembre (Potentiel Allergisant moyen à élevé = 3 ou 4/5).

- **L'ambroisie** : famille des ASTERACEAE espèce *Ambrosia artemisiifolia L.*, pollinisation août-septembre (Potentiel Allergisant très élevé = 5/5).

Mesures des particules biologiques dans l'air

Le large spectre des micro-organismes et des particules présents dans l'air est étudié grâce à un large panel d'instruments et de méthodes [15]. Les stratégies de mesure imposent un choix à la fois d'une technique d'échantillonnage et d'une méthode d'analyse.

Les techniques d'échantillonnage

Les techniques dépendent du type de particules biologiques à récupérer et, surtout, de la méthodologie d'analyse liée ou non à la viabilité de la particule.

Les virus

L'échantillonnage classique des virus dans l'air fait appel à des préleveurs de type cycloniques en milieu liquide, comme le Coriolis de Bertin Technologies, ou à un barbotage en tampon spécifique [2] [16] [17]. Les particules de l'air se trouvent centrifugées dans un liquide de recueil agité par un mouvement de cyclone important [18].

Les bactéries

La mesure des bactéries dans l'air est beaucoup plus fréquente, surtout en milieu industriel dans les domaines de l'industrie pharmaceutique ou en milieu hospitalier.

À l'extérieur, ces types de mesures sont beaucoup moins fréquents, et utilisent principalement trois types de techniques :

- Méthodes par impaction
- Méthodes par filtration
- Méthodes cycloniques permettant de gros débits et de ce fait une plus grande sensibilité. Cette technique est très utilisée pour la recherche de légionnelle auprès des panaches émises par les tours aéro-épurantes [9].

Les moisissures

Dans le cas des moisissures, le choix de la technique d'échantillonnage est très dépendant du choix de la méthode d'analyse. En effet, la recherche de spores de moisissures dans l'air faisant appel à des techniques de détection sans utiliser le caractère revivifiable, aléatoire, de ces spores fera appel à des méthodes d'impaction sur bandes siliconées ou de filtration sur membranes minces ou épaisses ou cyclones en milieu liquide avec, par exemple, le Coriolis [20].

Les grains de pollens

Ces particules biologiques ne faisant pas partie du matériel vivant, les méthodes d'analyse culturale ne

pourront pas être utilisées. De ce fait, les préleveurs d'air pour la recherche des pollens, fréquemment utilisés en même temps pour recueillir les spores de moisissures, font appel à des méthodes d'impaction.

Les techniques d'analyses

Techniques utilisant la culture

Si, pour les virus, les techniques nécessitent fréquemment une première culture cellulaire, l'analyse se fait ensuite grâce aux méthodes de biologie moléculaire et en particulier la méthode "Protein Chain Reaction" (PCR).

Concernant les bactéries, l'identification et la quantification se font après croissance sur des milieux solides. Les colonies comptées permettent de présenter des résultats en UFC/m³ (Unité Formant Colonie) en se rapportant au volume d'air impacté. Mais cette quantification reste discutable, elle est liée à la cultivabilité des bactéries, à la qualité du milieu de culture, à l'absence d'autres micro-organismes incubateurs...

Ces mêmes méthodes peuvent être utilisées pour l'identification des moisissures cultivables récupérées sur les impacteurs, mais dans ces cas aussi, on est très loin de récupérer toutes les moisissures, seuls les mycéliums cultivables permettent souvent un démarrage de culture. Par contre, les spores ne poussent pas sur ces milieux de culture.

Méthodes utilisant la détection

Toutes les techniques d'échantillonnage cycloniques ou par filtration ou par impaction sur un support transparent permettent de mettre en œuvre différentes méthodes de détection allant de la simple microscopie optique par coloration jusqu'aux méthodes de biologie moléculaire comme la PCR.

Concernant les grains de pollens, les méthodes de comptage, quelle que soit la méthode d'échantillonnage des pollens dans l'air utilisée, passent par une analyse qui exige l'identification et la quantification des types de pollen enregistrés en microscopie optique.

Aspects quantitatifs

Les particules biologiques sont présentes dans l'air, que ce soit en zone urbaine ou en zone rurale : les travaux réalisés par Bosch-Cano *et al.* [21] indiquent bien que, si les quantités de pollens sont plus importantes en zone rurale qu'en zone urbaine, ce phénomène est pondéré par les taxons d'origine urbaine (exemple du platane).

De même pour les spores de moisissures, beaucoup plus nombreuses dans l'air que les grains de pollens, des travaux ont permis d'estimer le nombre et le poids de spores de moisissures dans l'air avec une moyenne en quantité de 10³ à 10⁴ particules/m³ et une masse d'environ 1 µg/m³.

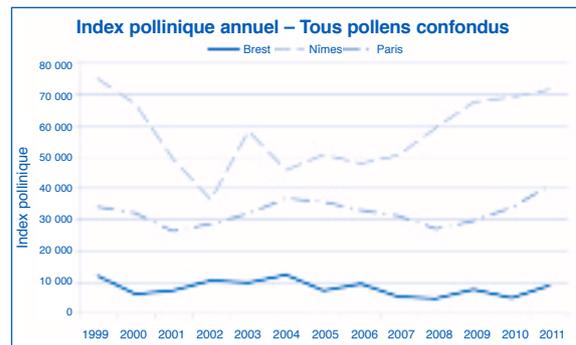


Figure 1.
Index polliniques annuels – Tous pollens confondus.

Les quantités de pollens et de moisissures mesurées au sein des plus grandes agglomérations de France varient beaucoup en fonction de la situation géographique de l'agglomération.

De même les spores de moisissures 10 à 50 fois plus nombreuses que les pollens présentent des index annuels variables en fonction de la situation géographique du point de prélèvement.

Air extérieur/Air intérieur

S'il est fréquent de mettre une frontière entre les travaux concernant l'*indoor* et l'*outdoor*, il devient nécessaire désormais de ne pas oublier que des échanges se produisent entre ces deux milieux et que beaucoup de particules biologiques de l'atmosphère rentrent dans les locaux, tant par les transferts d'air que par les occupants ou les objets transférés de dehors vers le dedans. De plus, si la contamination extérieure pénètre à l'intérieur des locaux (exemple des pollens, figure 3), à l'intérieur le brassage limite l'élimination d'une partie de ces particules biologiques qui se déposent sur les sols, murs, intérieurs d'ameublement...

Bien souvent, les nouvelles conditions de température, d'humidité et de substrats que trouvent les spores de moisissures venant de dehors, vont permettre à l'intérieur des locaux un développement important, et une dissémination dans l'air intérieur de quantités de spores ou, pire, de toxines provenant de ces spores, ayant un impact sur la santé.

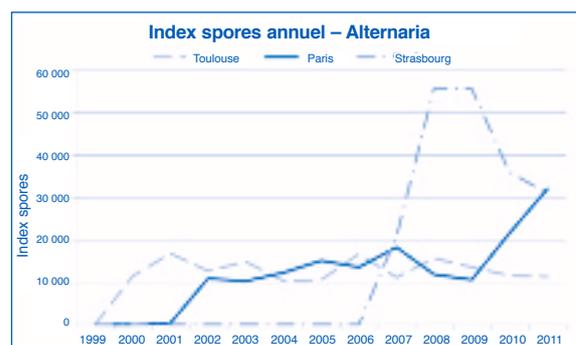


Figure 2.
Index spores annuels – Alternaria.

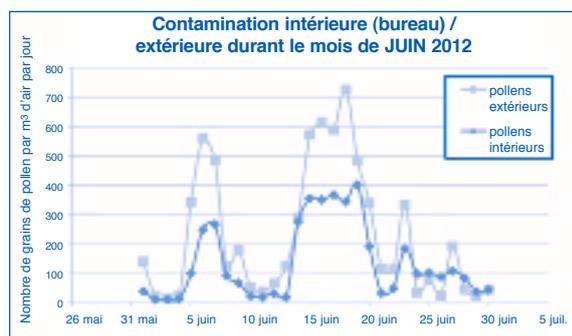


Figure 3.
Contamination intérieure/extérieure durant le mois de juin 2012.

Impact sanitaire des particules biologiques de l'air

La présence de virus dans l'air à proximité de sources dans l'habitat, et surtout à l'hôpital, mais aussi dans les moyens de transports, comme les transports aériens [3] [4], va entraîner une exposition, généralement par voie respiratoire, des personnes fréquentant ces lieux. La pénétration des virus dans l'organisme pourra entraîner l'apparition ou l'aggravation de pathologies.

De même, l'apparition de cas de légionellose s'explique facilement lorsque l'on détecte la présence de cette bactérie dans l'air, comme par exemple dans des lieux situés sous les panaches des tours aérofrigorantes.

Certaines moisissures comme les *Aspergillus*, en particulier *Aspergillus fumigatus* ou *Aspergillus niger*, peuvent être à l'origine d'une contamination par voie aérienne des populations et en particulier de population fragiles en milieu hospitalier.

Concernant les pollens et les moisissures, le plus grand impact sanitaire de ces particules biologiques concerne le risque d'allergie. Celle-ci pourra se manifester par différents symptômes tels que des rhino-conjonctivites importantes, des gênes respiratoires pouvant aller jusqu'à de l'asthme et moins fréquemment des eczémas ou autres symptômes cutanés. Pour les moisissures, si les réactions d'hyper-sensibilité sont largement prépondérantes, il faut signaler les risques de mycotoxicose, d'infection ou encore d'irritation.

Ces épisodes d'allergie respiratoire s'accompagnent bien souvent d'une forte altération de la qualité de vie avec une diminution du sommeil, une diminution de la vigilance et une plus grande sensibilité aux infections microbiennes.

La particularité des pollens et des moisissures réside dans la diversité des potentiels allergisants en fonction des espèces.

Depuis une trentaine d'années, les pollens allergisants sont classés en fonction de leur potentiel allergisant, c'est-à-dire de leur capacité à provoquer une réaction immunologique chez un sujet présensibilisé. On dit alors que le grain de pollen contient des allergènes qui, en fonction du nombre de personnes chez qui ils provoquent des allergies, peuvent être caractérisés de « majeurs » ou de « mineurs ».

Si ce potentiel allergisant est intrinsèque à chaque type de pollen, le risque allergique associé est très différent. En effet, le risque allergique est lié non seulement au potentiel allergisant mais aussi à l'existence d'une exposition importante de la population et à la prédisposition de cette population.

Si par exemple le pollen de bouleau riche en allergène majeur Betv1 est caractérisé par un potentiel allergisant élevé (5/5), le risque allergique variera d'un niveau très élevé en zones de forte exposition comme la Finlande ou le grand tiers Nord-Ouest de la France, à un niveau de risque ne dépassant pas le niveau faible sur le pourtour méditerranéen. D'autres exemples peuvent être pris avec des taxons à connotation régionale comme les cyprès et les ambrosies.

Le nombre de particules biologiques présentes dans l'air est considérable, tant sur le plan qualitatif que quantitatif. Ces particules sont émises naturellement ou produites par l'homme ou les végétaux, leur aspect pathogène est très variable mais leur entrée dans l'habitat est indéniable. Même si d'importants progrès ont été accomplis ces dernières années dans la connaissance des particules biologiques et de leurs effets sur la santé, les recherches doivent être poursuivies pour notamment limiter leur formation, leur contact avec l'homme et leurs impacts sur sa santé, en lien avec le développement de leur surveillance dans l'air et l'information des personnes sensibles et des acteurs concernés.

Remerciements :

Cet article a pu être écrit grâce à l'aide de Nadine DUPUY (RNSA, Brussieu), Esmeralda CARVAHLO (Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux) et Vincent MOULES (VIRNEXT, Lyon).

Références

- [1] Tellier R. Aerosol transmission of influenza A virus: a review of new studies, *Journal of the Royal Society Interface* 2009 ; 6 : S783-90.
- [2] Lindsley WG, Blachere FM, Davis KA *et al.* Distribution of airborne influenza virus and respiratory syncytial virus in an urgent care medical clinic, *Clinical Infectious Diseases* 2012 ; 50 : 693-8.
- [3] Garcia Rio F, Borderias Clau L, Casanova Macario C *et al.* Air travail and respiratory disease, *Arch Broncopneumol* 2007 ; 42(2) : 101-25.
- [4] Mangili A, Gendreau MA. Transmission of infectious diseases during commercial air travel, *Lancet* 2005 ; 365 : 989-96.
- [5] Griffin DW. Atmospheric Movement of Microorganisms in Clouds of Desert Dust and Implications for Human Health, *Clinical Microbiology Reviews* 2007 ; 20 (3) : 459-77.
- [6] Fahlgren C, Bratbak G, Sandaa RA *et al.* Diversity of airborne bacteria in samples collected using different devices for aerosol collection, *Aerobiologia* 2011 ; 27 : 107-20.
- [7] Möhler O, DeMott PJ, Vali G, Levin Z, Microbiology and atmospheric processes: The role of biological particles in cloud physics, *Biogeosciences* 2007 ; 4 : 1059-71.
- [8] Bauer H, Kasper-Giebl A, Löflund M *et al.* The contribution of bacteria and fungal spores to the organic carbon content of cloud water, precipitation and aerosols, *Atmospheric Research* 2002 ; 64 : 109-19.
- [9] Berthelot N, Oberti S, Pinon A *et al.* Prélèvement des légionnelles dans les aérosols : étude de la viabilité avec deux préleveurs du marché, *L'eau, l'industrie, les nuisances* 2009 ; 320 : 53-5.
- [10] Ren P, Jankun TM, Belanger K *et al.* The relation between fungal propagules in indoor air and home characteristics, *Allergy* 2001 ; 56 : 419-24.
- [11] Emmons W, Binford CH, Utz JP, Kwon-Chung KJ. Medical Mycology. Lea &Febiger, 3rd ed. Philadelphia 1977.
- [12] Auger R. Tableau d'identification des grandes familles des plantes à fleurs. CRDP Bordeaux 1982.
- [13] Abou-Chakra OR. Allergénicité des granules cytoplasmiques de pollen. Thèse université Paris-Diderot – Paris VII, 2009.
- [14] Reille M. Leçons de palynologie et d'analyse pollinique. CNRS, Paris 1990 : 206 p.
- [15] Cox CS, Wathes CM. Bioaerosols handbook. Lewis Publishers, New York 1995.
- [16] Blachere FM, Lindsley WG, Pearce TA *et al.* Measurement of airborne influenza in a hospital emergency department, *Clin Infect Dis* 2009 ; 48 : 438-40.
- [17] Choukri F, Aliouat EM, Menotti J *et al.* Dynamics of pneumocystis carinii air shedding during experimental pneumocystosis, *The Journal of Infectious Diseases* 2011 ; 203 : 1333-6.
- [18] Verreault D, Gendron L, Rousseau GM *et al.* Detection of airborne lactococcal bacteriophages in cheese manufacturing plants, *Applied and Environmental Microbiology* 2011 ; 77(2) : 491-7.
- [19] Langer V, Hartmann G, Niessner R, Seidel M. Rapid quantification of bioaerosols containing *L. pneumophila* by Coriolis® µ air sampler and chemiluminescence antibody microarrays, *Journal of Aerosol Science* 2012 ; 48 : 46-55.
- [20] Bellanger AP, Reboux G, Scherer E *et al.* Contribution of a cyclonic-based liquid air collector for detecting *aspergillus fumigatus* by QPCR in air samples, *Journal of Occupational and Environmental Hygiene* 2012 ; 9(1) : D7-D11.
- [21] Bosch-Cano F, Bernard N, Sudre B *et al.* Human exposure to allergenic pollens: A comparison between urban and rural areas, *Environmental Research* 2011 ; 111 : 619-25.

