

## Comparaison du comportement et caractérisation de deux bioaérosols viraux sur les filtres d'une centrale de traitement de l'air (CTA)

Victor Bandy<sup>1,2,3</sup>, Aurélie JOUBERT<sup>1</sup>, Pierre LE CANN<sup>2,3</sup>, Yves ANDRES<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> GEPEA- CNRS UMR 6144, Ecole des Mines de Nantes, 44000 Nantes, France

<sup>2</sup> EHESP, 35000 Rennes, France

<sup>3</sup> IRSET- INSERM UMR 1085, 35000 Rennes, France

\* Corresponding email: [yves.andres@imt-atlantique.fr](mailto:yves.andres@imt-atlantique.fr)

### ABSTRACT

Indoor air pollution is one of the main public health problems of our century. Air is a vector transporting microorganisms like viruses from outdoors to indoors. The aim of this work is to understand the fate and the persistence of respiratory viruses on filters used in air handling units (AHU). As a model respiratory virus, Mengovirus and Adenovirus were aerosolized in a vertical column with outputs equipped with a fiberglass filter F7. Viral particles passing through the filter are collected by a BioSampler. The detection of virus particles and the study of viability on the filters were made by qPCR and TCID<sub>50</sub> respectively.

### RESUME

La pollution de l'air intérieur est l'un des principaux problèmes de santé publique de notre siècle. L'air est un vecteur transportant des microorganismes comme les virus de l'extérieur à l'intérieur. Le but de ce travail est de comprendre le devenir et la persistance des virus respiratoires sur les filtres utilisés dans les centrales de traitement de l'air (CTA). En tant que modèle de virus respiratoire, Mengovirus et Adenovirus ont été aérosolisés dans une colonne verticale avec des sorties équipées d'un filtre à fibre de verre F7. Les particules virales qui traversent le filtre sont collectées par BioSampler. La détection des particules virales et l'étude de la viabilité sur les filtres ont été effectuées respectivement par qPCR et TCID<sub>50</sub>.

**KEYWORDS:** Indoor air quality, AHU, Mengovirus, Adenovirus / **MOTS-CLES :** Qualité d'air intérieur, CTA, Mengovirus, Adénovirus.

### INTRODUCTION

L'un des sujets les plus importants qui occupent les problèmes de santé publique de notre siècle est la qualité de l'air. C'est la raison pour laquelle la ventilation mécanique et les CTA ont été imposées par les différents gouvernements dans les bâtiments collectifs ou individuels (The Lancet, 2013). De nombreux bâtiments créent un climat artificiel à l'aide de systèmes HVAC. Parmi les aérosols existants dans l'air intérieur, on peut distinguer les bioaérosols de nature biologique comme les bactéries, les virus, les champignons, les débris de cellules et les pollens (González et al., 2016). La pollution intérieure concerne tous les environnements fermés tels que la maison, les lieux de travail, les transports et le gymnase où nous passons la plupart de notre temps (Saelens et al., 2003). Ces endroits sont 5 à 10 fois plus pollués que l'extérieur (Jones, 1999). Des études épidémiologiques ont déjà montré qu'il existe une relation entre les bioaérosols et la santé humaine. La pollution de l'air intérieur est l'une des raisons de l'absentéisme au travail et à l'école qui impliquent des coûts connexes élevés qui peuvent atteindre 42,8 milliards d'euros et augmente la mortalité infantile (Pascal et al., 2013). Nous étudierons dans ce travail la comparaison du devenir de deux virus respiratoires modèles dans des environnements fermés sur un filtre en fibre de verre utilisé dans les CTA. Nous évaluerons la performance du filtre dans l'CTA pour améliorer la qualité de l'air intérieur.

### METHODOLOGIES

Le mengovirus et l'adénovirus ont été choisis respectivement comme un modèle de virus respiratoire à ARN et à ADN. Chaque virus a été cultivé et généré par le nébuliseur médical (Omron C29 - CompAir pro) avec un débit d'air de 4,5 L .min<sup>-1</sup> et homogénéisé dans une colonne cylindrique verticale. À la tête du cylindre, quatre sorties circulaires ont été équipées d'un filtre en fibres de verre F7 (EN 779-2002). 3 sorties sur 4 ont été équipées de filtre à étudier. Après les sorties, 4 BioSamplers (SKB) ont été connectés afin de collecter les particules virales qui passent à travers le filtre. Le taux d'échantillonnage correspond à 13 L .min<sup>-1</sup> à l'entrée de chaque BioSampler. La détection du virus sur les filtres et les échantillons liquides des BioSamplers a été réalisée par RT-qPCR. La détection du virus infectieux sur les filtres et les échantillons dans les BioSamplers a été réalisée par observation d'effet cytopathique en microplaques de cellules infectées (TCID<sub>50</sub>).

La caractérisation de la taille de l'aérosol a été analysée par l'Impaction électrique basse pression (ELPITM, DEKATI) et le « Scanning Mobility Particle Sizer » (SMPS<sup>TM</sup>, GRIMM) qui caractérise la taille aérodynamique et la taille de la mobilité électrique des particules.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS:

### Comparaison de la caractérisation des 2 aérosols viraux:

Les particules recueillies sur les différents étages de l'ELPI ont été extraites et le virus a été quantifié par RT-qPCR.

Mengovirus a été détecté sur tous les étages de collecte pour les tailles supérieures à 92,8 nm, à l'exception du plateau 2390 nm. Le virus a été quantifié en fonction de la concentration initiale en solution du virus nébulisé (figure 1). Faulkner et al., (1961) ont déterminé que la taille de mengovirus était proche de 27 nm. En associant la caractérisation du mengovirus avec la détection du virus par qPCR dans les aérosols caractérisés, on trouve que le virus ne peut pas être aérosolisé en tant qu'un virus unique mais qu'il pourrait être constitué de groupes de virus ou associé à des protéines ou des débris cellulaires.

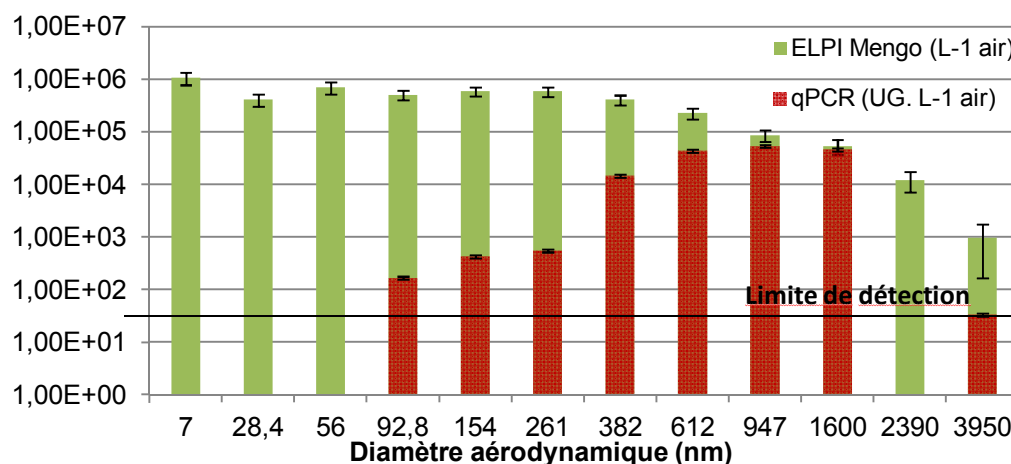


Figure 1. Détection et quantification de mengovirus sur les différents étages de l'ELPI™

L'adénovirus est un virus de taille entre 70 et 90 nm (Doerfler, 1996). Ce virus a été détecté sur tous les étages de collecte avec de différentes quantités (figure 2). La plus grande quantité avait une taille entre 382 et 1600 nm alors que la plus petite quantité (négligeable) a été détectée sur les étages représentant une taille inférieure à 56 nm. Les particules détectées par Q-PCR sur les étapes inférieures à la taille du virus peuvent être attribuées à des fragments d'ADN en raison de l'effet d'apoptose cellulaire suite au développement du virus (Green, 2011). L'apoptose entraîne une autodégradation de la cellule dont une dégradation de l'ADN qui peut affecter aussi l'ADN de notre virus utilisé d'où la présence des fragments d'ADN dans les étages à petit diamètre aérodynamique (Green, 2011). L'adénovirus nébulisé pourrait être aérosolisé en tant que virus unique, des groupes de virus ou pourrait être associé à des débris et des protéines cellulaires.

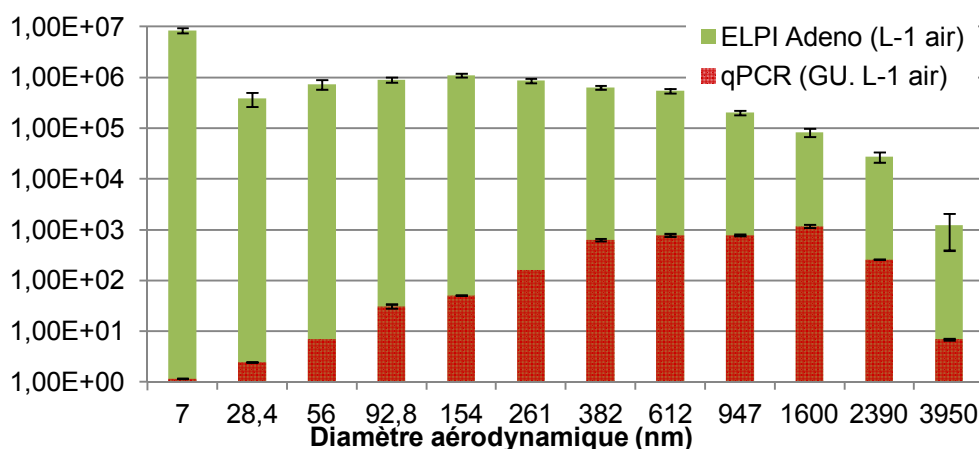


Figure 2. Détection et quantification d'adénovirus sur les différents étages de l'ELPI™

### Comparaison du devenir des 2 aérosols viraux sur les filtres dans les CTA:

Pour le mengovirus, une efficacité de filtration du filtre F7 a été estimée entre 83,8 et 98,5%. En se basant sur la quantification et la détection de l'infectiosité dans le système respectivement par la mesure RT-qPCR et TCID50,  $3,07 \times 10^6$  UG.cm<sup>-2</sup> ont été détectés dont  $4,39 \times 10^2$  PFU.cm<sup>-2</sup> sont restés infectieux sur les filtres et  $4,74 \times 10^1$  PFU.L<sup>-1</sup> de  $3,98 \times 10^5$  GU.L<sup>-1</sup> air sont restés infectieux après collecte dans les BioSamplers (figure 3). L'étude montre que les virus sont capables de passer le filtre et que les virus qui ont été arrêtés par le filtre et ceux qui ont traversé les filtres sont restés infectieux.

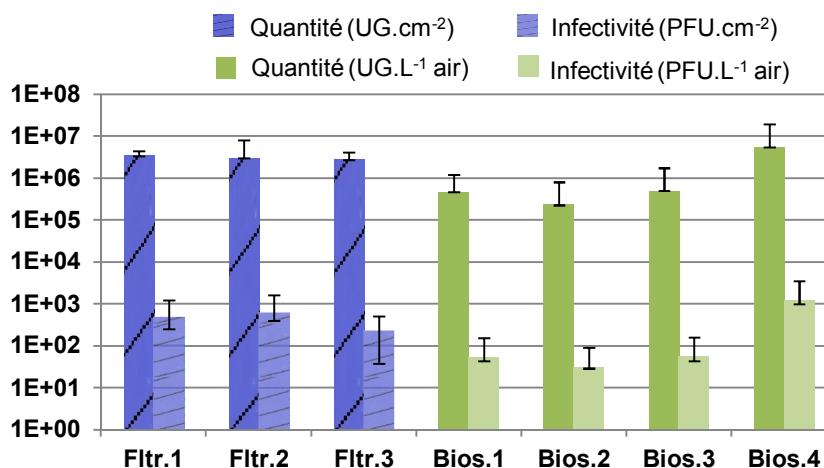


Figure 3. Comparaison de la détection de l'infectiosité et de la quantification du mengovirus en aval du système et sur les filtres

Pour l'adénovirus, une efficacité de filtration du filtre F7 a été estimée entre 91 et 99%. En se basant sur la quantification et la détection de l'infectiosité dans le système par la mesure RT-qPCR et TCID50,  $1,61 \times 10^5$  UG.cm<sup>-2</sup> ont été détectés dont  $4,74 \times 10^2$  PFU.cm<sup>-2</sup> sont restés infectieux sur les filtres et  $1,6 \times 10^3$  virus de  $3,3 \times 10^5$  virus par mètre cube d'air sont restés infectieux dans les BioSamplers (figure 4). L'étude montre que les virus sont capables de passer le filtre et que les virus qui ont été arrêtés par le filtre et ceux qui ont traversé les filtres sont restés infectieux.

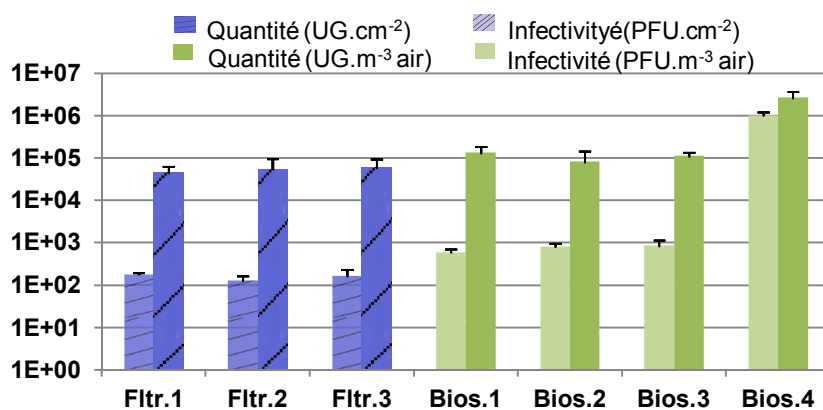


Figure 4. Comparaison de la détection de l'infectiosité et de la quantification de l'adénovirus en aval du système et sur les filtres

En comparant ces deux virus, il existe une différence entre les adénovirus et les mengovirus d'un point de vue morphologique et physiologique. Sur le plan morphologique, l'adénovirus est un virus à ADN ayant une taille entre 70-90 nm (Doerfler, 1996) comparé au mengovirus qui est un virus à ARN avec une taille plus petite entre 22-30 nm (Faulkner et al., 1961). Sur le plan physiologique, on distingue le type de multiplication dans les cellules hôtes et leur virulence. L'adénovirus montre un effet apoptotique dans les cellules hôtes alors que la multiplication des mengovirus se manifeste avec un effet cytopathique. Ces deux types de multiplication différents conduisent à différentes formes de libération de virus. Cette différence a été démontrée par le fait que la solution virale initiale était plus grande dans le cas de l'effet cytopathique où le mengovirus est libéré plus facilement avec l'éclatement des cellules que l'adénovirus dans les cellules apoptotiques. L'étude de Knight, (1980) et

la revue de Gerba, (2013) ont porté sur le taux d'inactivation entre les virus respiratoires. Ces études ont montré que l'adénovirus avait un faible taux d'inactivation ( $0,011 \log_{10} \cdot h^{-1}$ ) et que le rhinovirus représenté par mengovirus comme virus modèle, présente un taux d'inactivation ( $0,25 \log_{10} \cdot h^{-1}$ ) qui est supérieur à l'adénovirus. Ces valeurs ont été confirmées par cette étude qui montre que l'adénovirus était plus persistant dans le système après une aérosolisation avec une perte de moins de 1 log alors que mengovirus a montré une perte de 4 logs d'infectiosité.

#### **CONCLUSIONS:**

Ces dernières années, nous avons vu les avantages des efforts pour le développement de techniques de traitement de l'air intérieur et l'évolution de la connaissance de l'écologie microbienne des bioaérosols qui pourrait jouer un rôle important sur la santé humaine. Cette étude est un nouveau travail qui a comparé la caractérisation et le devenir de deux virus modèles respiratoires sur le filtre en fibre de verre utilisé dans les CTA dans les environnements intérieurs.

#### **REMERCIEMENTS:**

Cette étude était basée sur un travail soutenu par GEPEA-CNRS UMR 6144, IMT Atlantique ( anciennement Ecole des Mines de Nantes) et de l'EHESP et l'IRSET-INSERM UMR 1085, Rennes. Les auteurs remercient le professeur Albert Bosch du Laboratoire de virus entérique, Universitat de Barcelona, en Espagne, pour la fourniture du mengovirus et du laboratoire Inovalys, Nantes, en France, pour la fourniture des cellules Buffalo Green Monkey (BGM). Un remerciement pour le Prof. Christophe Gantzer du LCPME, UMR 7564, de l'Université Lorraine (CNRS), en France, pour la fourniture du virus adénovirus et des cellules du rein humain embryonnaire (HEK-293) et au docteur Valérie Delague de la Institut français de santé et de la recherche médicale (Inserm), UMR\_S 910, Marseille, France, pour la fourniture des cellules du rein humain embryonnaire (HEK-293).

#### **REFERENCES:**

- Doerfler, W., 1996. Adenoviruses, in: Baron, S. (Ed.), Medical Microbiology. University of Texas Medical Branch at Galveston, Galveston (TX).
- Faulkner, P., Martin, E., Sved, S., Valentine, R., Work, T., 1961. Studies on protein and nucleic acid metabolism in virus-infected mammalian cells. 2. The isolation, crystallization and chemical characterization of mouse encephalomyocarditis virus. *Biochem. J.* 80, 597–605. doi:10.1042/bj0800597
- Gerba, C.P., 2013. Occurrence and transmission of food- and waterborne viruses by fomites. doi:10.1533/9780857098870.3.205
- González, L.F., Joubert, A., Andrés, Y., Liard, M., Renner, C., Coq, L.L., 2016. Filtration performances of HVAC filters for PM10 and microbial aerosols— Influence of management in a lab-scale air handling unit. *Aerosol Sci. Technol.* 50, 555–567. doi:10.1080/02786826.2016.1167833
- Green, D.R., 2011. Means to an End: Apoptosis and Other Cell Death Mechanisms. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Jones, A., 1999. Indoor air quality and health. *Atmos. Environ.* 33, 4535–4564. doi:10.1016/S1352-2310(99)00272-1
- Knight, V., 1980. Viruses as Agents of Airborne Contagion. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 353, 147–156. doi:10.1111/j.1749-6632.1980.tb18917.x
- Pascal, M., Corso, M., Chanel, O., Declercq, C., Badaloni, C., Cesaroni, G., Henschel, S., Meister, K., Haluza, D., Martin-Olmedo, P., Medina, S., Grp, A., 2013. Assessing the public health impacts of urban air pollution in 25 European cities: Results of the Aphekom project. *Sci. TOTAL Environ.* 449, 390–400. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.01.077
- Saelens, B.E., Sallis, J.F., Black, J.B., Chen, D., 2003. Neighborhood-based differences in physical activity: an environment scale evaluation. *Am. J. Public Health* 93, 1552–1558.
- The Lancet, 2013. Air pollution: Europe's avoidable health risk. *LANCET* 381, 876.