

P. Duquenne¹, X. Simon¹, C. Coulais¹, V. Koehler¹ and C. Dziurla¹

¹Laboratoire de Métrologie des Aérosols, 1 rue du Morvan CS 60027, 54519 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex
*Courriel de l'orateur : philippe.duquenne@inrs.fr

TITLE

Temporal variations of size distribution of bioaerosols at occupational settings

ABSTRACT

Measurements of the size distribution of airborne microorganisms (SDAM) provide helpful data for occupational hygiene but its variability in time and space is scarcely known. Bioaerosols (culturable bacteria/fungi and gravimetric dust) were studied over one year in a waste sorting plant (WSP) with a Marple cascade impactor. The results revealed SDAM variations over time and suggest different aggregate states for airborne bacteria and fungi. They support performing several overtime measurements for a relevant evaluation of SDAM and characterization of submicron particles.

RESUME

Les mesures de la distribution granulométrique des bioaérosols (DGB) fournissent des données utiles en l'hygiène du travail, mais sa variabilité dans le temps et l'espace est peu connue. Les bioaérosols ont été étudiés sur une année dans une usine de tri des déchets avec un impacteur en cascade Marple. Les résultats ont révélé des variations de la DGB au cours du temps et suggèrent différents états d'agglomération pour les bactéries et les champignons. Ils suggèrent des mesures répétées pour une étude pertinente de la DGB et la caractérisation des particules submicroniques.

KEYWORDS: bioaerosol, size distribution, household waste sorting, temporal variation / **MOTS-CLÉS:** bioaérosols, distribution en taille, tri des déchets ménagers, variation dans le temps.

1. CONTEXTE ET OBJECTIF

La mesure de la distribution granulométrique des bioaérosols (DGB) donne des informations utiles pour éliminer les particules de l'air contaminé, pour vérifier que les performances des biocollecteurs utilisés sont adaptées à l'aérosol prélevé et pour prédire le dépôt des particules dans les voies respiratoires. La DGB a été documentée pour différents agents microbiens dans une multitude d'environnements professionnels comme le compostage, les stations d'épuration des eaux usées et les élevages (Ding *et al.*, 2015 ; Gutarowska *et al.*, 2015 ; Hu *et al.*, 2016). Cependant, les connaissances relatives à la DGB dans les centres de tri des ordures ménagères sont très limitées. Par ailleurs, dans les études publiées, un nombre limité de mesures a généralement été effectué. En particulier, la variation spatio-temporelle de la DGB n'est pas très bien connue et des recherches sont encore nécessaires afin de mieux évaluer la pertinence des mesures effectuées. Les objectifs de l'étude étaient (a) d'apporter des connaissances concernant la DGB lors des opérations de tri des déchets ménagers (b) d'investiguer les variations temporelles de la DGB au poste de travail dans ce secteur.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les bioaérosols ont été étudiés dans un centre de tri des ordures ménagères situé en France. Les mesures ont été effectuées tout au long de l'année 2016. Les échantillons ont été prélevés en ambiance, tous les mois, dans une cabine de tri et dans une zone de broyage des déchets pour la mesure des bactéries et champignons cultivables ainsi que des poussières (Figure 1A et B). Le prélèvement des bioaérosols a été effectué à l'aide de l'impacteur en cascade MARPLE modèle 298 monté avec des supports d'impaction Mylar[®] ajourés (New Star Environmental Inc., USA) et fonctionnant à 2,0 L/min. Le diamètre aérodynamique (d_{ae}) de coupure pour chaque étage d'impaction était de 0,52 ; 0,93 ; 1,55 ; 3,5 ; 6,0 ; 9,8 ; 14,8 et 21,3, μm respectivement (Rubow *et al.*, 1987). Les supports d'impaction de l'impacteur n'ont pas été graissés pour les prélèvements. Des mesures des particules en temps réel ont également été effectuées à l'aide de l'« Optical Particle Sizer » fonctionnant à 1,0 L/min. (OPS - Modèle 3330, TSI, France). Parallèlement, des prélèvements ont été effectués, d'une part sur filtre en polycarbonate (0,8 μm) à l'aide de la cassette fermée de 37 mm et à un débit moyen de 2,0 L/min. pour la mesure des bactéries et des champignons cultivables et, d'autre part, sur mousse en polyuréthane à l'aide du CIP 10-I pour la mesure de poussières inhalables. Les mesures ont été effectuées sur une durée d'environ cinq heures pendant la journée de travail. Lors des prélèvements la température ($T^{\circ}\text{C}$) et l'humidité relative de l'air (RH%) ont été enregistrés en continu (Mobiguard[®], Biomérieux, France).



Figure 1 : Conditions de prélèvement et d'analyses des échantillons de bioaérosols dans le centre de tri. **A** : zone de broyage ; **B** : cabine de tri ; **C** : description des analyses.

Les échantillons ont été acheminés au laboratoire dans une enceinte réfrigérée puis analysés dans les 24 heures pour les bactéries et champignons cultivables (Figure 1C). L'analyse microbiologique a été effectuée par culture des échantillons sur le milieu TSA supplémenté d'actidione pour les bactéries et sur le milieu MEA pour les champignons, avec une incubation des boîtes ensemencées à 25°C pendant 5 jours. Les colonies développées ont été dénombrées et les résultats ont été exprimés en Unités Formant Colonies par mètre cube d'air prélevé (UFC/m³). L'analyse des poussières a été effectuée dans les semaines suivant le prélèvement, par gravimétrie et après conditionnement (MX5, Mettler Toledo) et les résultats ont été exprimés en milligrammes de poussières par mètre cube d'air prélevé (mg/m³) (Figure 1C).

L'analyse des données par régression a été effectuée avec le logiciel StatGraphics 5.1 (Statistical Graphics Corp.,USA).

3. RESULTATS

3.1. Conditions de mesures et aperçus des concentrations mesurées

Les mesures ont été effectuées dans les conditions normales de fonctionnement de l'entreprise. Dans la cabine de tri, la température a évolué au cours de l'année entre 10°C en hiver et 30°C en été et l'humidité relative de l'air de 33 % à 57% (Figure 2A). Dans le même temps et au même endroit, la concentration en poussières inhalables a évolué entre 0,4 et 10 mg/m³ et celle en microorganismes cultivables entre 10⁴ et 10⁶ UFC/m³ (Figure 2B). Des résultats similaires ont été obtenus dans la zone de broyage (données non montrées).

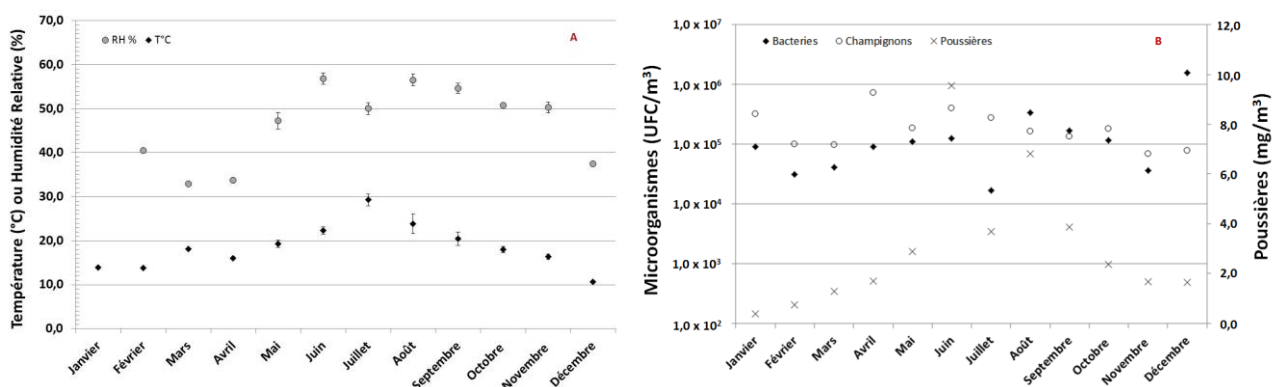


Figure 2: Mesure effectuées dans la cabine de tri au cours de l'année. **A**: conditions climatiques ; **B**: concentration en microorganismes cultivables et en poussière inhalables

3.2. Variation de la DGB sur une année

La campagne d'étude a permis de collecter 22 échantillons pour la mesure de la DGB concernant les bactéries et les champignons cultivables et 21 échantillons pour celle concernant les poussières. La Figure 3 illustre les distributions granulométriques obtenues lors des mesures. Dans l'exemple présenté, l'essentielle de la masse de poussières a été collectée sur les 4 premiers étages de l'impacteur ($d_{50} > 6,0 \mu\text{m}$) avec un

mode à 9,8 - 14,8 μm . Les particules portant les bactéries cultivables ont été collectées principalement sur les trois premiers étages avec un mode à 14,8 - 21,3 μm . Les particules portant les structures fongiques sont de plus petite taille et ont été principalement collectées sur le quatrième et le cinquième étage de l'impacteur avec un mode à 3,5 - 6,0 μm .

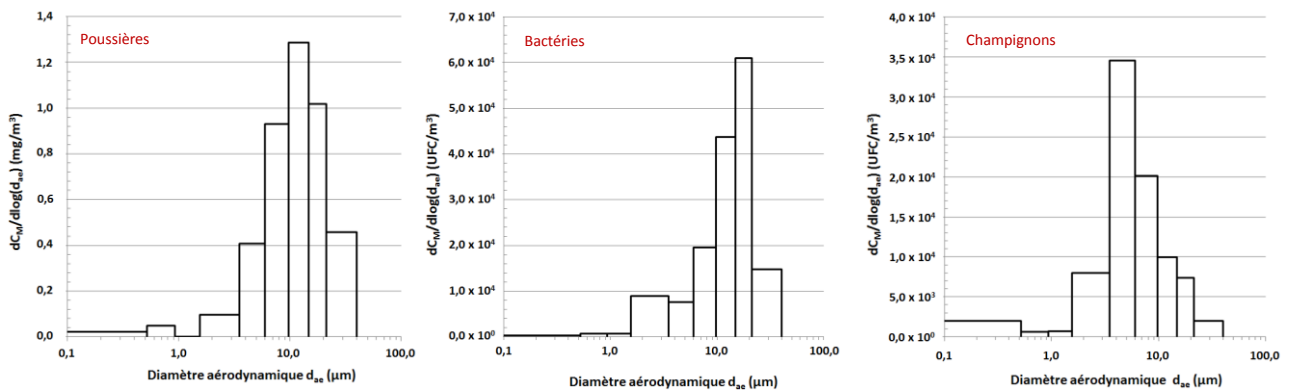


Figure 3. Exemples de distributions granulométriques observées dans la zone de broyage (Mai 2016)

L'examen des diamètres aérodynamiques médians sur l'ensemble des mesures effectuées indique des différences importantes entre les paramètres mesurés et ce pour les deux lieux étudiés (Figure 4). Pour la cabine de tri, le diamètre médian varie de 2,8 à 7,2 μm pour les particules portant des entités fongiques cultivables, de 8,6 à 12,5 μm pour les poussières inhalables et de 3,2 à 24 μm pour les particules portant des entités bactériennes cultivables. La même tendance est observée dans la zone de broyage, avec des tailles légèrement plus élevées que celles observées dans la cabine de tri (Figure 4). La taille médiane est de l'ordre de 4 μm pour les particules portant des entités fongiques, de 15 μm pour celles portant des entités bactériennes et de 11 μm pour les poussières. L'analyse des données ne montrent aucune corrélation significative entre les concentrations mesurées, la température et l'humidité relative de l'air, exceptée entre les bactéries cultivables et la température ($n = 21$, $r^2 = 68\%$, $P < 10^{-4}$).

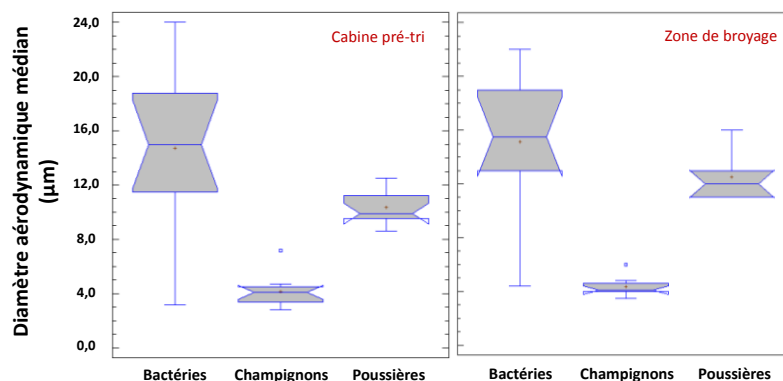


Figure 4. Variation du diamètre aérodynamique médian mesuré au cours de l'année dans les deux zones investiguées

Les résultats des mesures en temps réel des particules aéroportées révèlent des pics de concentration élevés dans la journée et indiquent une population importante en nombre de particules submicroniques (données non montrées).

4. DISCUSSION

Les mesures effectuées dans notre étude révèlent que les bioaérosols ont une distribution granulométrique variable selon les microorganismes recherchés et le jour du prélèvement dans l'année. Dans le centre de tri investigué, les bioaérosols sont dominés par des particules de tailles supérieures à 10 μm pour les poussières inhalables et les entités bactériennes cultivables. Au contraire, les particules portant des entités fongiques cultivables sont majoritairement de tailles inférieures à 5 μm . A notre connaissance, la DGB dans les centres de tri des ordures ménagères n'est pas documentée et il n'existe pas de données auxquelles comparer les résultats obtenus. Nos données constituent une contribution nouvelle à la connaissance des

bioaérosols dans ce secteur. Les études antérieures menées montrent des DGB variables d'un environnement professionnel à l'autre, avec généralement, des différences pour les bactéries et les champignons cultivables (Wang, 2011 ; Ding *et al.*, 2015 ; Gutarowska *et al.*, 2015 ; Hu *et al.*, 2016 ; Ding *et al.*, 2015).

La taille des structures microbiennes individuelles est très variables selon la forme cellulaire et l'espèce considérée (Kowalski *et al.*, 1999). Par exemple, des études de laboratoire ont révélé que le diamètre aérodynamique des cellules végétatives d'*Escherichia coli* était de l'ordre de 0,7 µm à 1,0 µm (Zhen *et al.*, 2014). Pour les champignons, les spores de *Cladosporium cladosporioides* et *Penicillium brevicompactum* ont été mesurées à un d_{ae} de l'ordre de 1,8 µm et 2,1 µm, respectivement (Reponen *et al.*, 1996). Les fragments de mycélium ont généralement plusieurs micromètres. Dans les centres de tri, les bioaérosols sont principalement émis lors de la manipulation des déchets et la remise en suspension des poussières déposées sur les installations. Il est généralement admis que les bactéries aéroportées sont majoritairement présentes dans l'air des locaux industriels sous la forme d'agglomérats complexes constitués de matériels biologiques et non biologiques (Cox, 1987; Griffiths & DeCosmo, 1994). Au contraire, les microorganismes capables de sporuler comme les champignons, seraient plus facilement dispersés dans l'air sous forme d'agglomérats plus simples, constitués de une à plusieurs spores ou de fragments mycéliens. Nos résultats confortent ces hypothèses.

Les résultats montrent également que la DGB a subi des variations au cours de l'année, différentes d'un polluant à l'autre et particulièrement importantes pour les bactéries cultivables. Les facteurs régissant DGB sont multiples et incluent les conditions météorologiques, le type d'agent biologique, le type d'environnement et de source, l'agitation mécanique, la saison, l'humidité relative de l'air, et le moment dans la journée (Clauß, 2015). Quelques études rapportent des variations saisonnières de la DGB émis sur les lieux de travail comme les stations d'épuration des eaux usées et les transports en communs (Wang, 2011 ; Ding *et al.*, 2015). Cependant, ces études sont fondées sur un nombre très limité d'échantillons et avec des durées de prélèvement réduites à quelques minutes, non représentatives de la durée du poste de travail. A l'exception des bactéries, l'analyse statistique de nos données n'a pas permis de relier les variations observées dans notre étude à la saison ou l'activité dans l'entreprise. Mais les résultats montrent que la DGB dépend du moment dans l'année et du polluant qui est mesuré. Ils suggèrent que plusieurs mesures sont nécessaires dans l'année pour une évaluation pertinente de la DGB et que les données relatives à un polluant donné ne préfigurent pas celles pour un autre polluant. La présence de particules submicroniques dans l'aérosol interroge sur la nature microbiologique de ces dernières. Le dépôt des bioaérosols étudiés dans les voies respiratoires sera abordé au cours de la présentation.

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats révèlent une variation temporelle de la DGB dans le centre de tri investigué et suggèrent que les particules portant les bactéries et celles portant les moisissures dans l'air du centre de tri sont de taille et de niveaux d'agrégation différents. Ils indiquent aussi la nécessité de réaliser plusieurs mesures de la DGB dans un environnement donné avec une caractérisation plus fine des particules submicroniques.

6. RÉFÉRENCES

- Cox, C.S., (1987) The aerobiological pathway of microorganisms, Chichester, New York.
- Clauß, M. (2015) Landbauforsch Appl. Agric. Forestry. Res. 65, 77-100.
- Ding, W., Li, L., Han, Y., Liu, J., and Liu, J. (2015) Aerobiologia 32, 211-224.
- Griffiths, W.D., and DeCosmo, G.A.L. (1994) J. Aerosol Sci. 25,1425-1458.
- Gutarowska, B., Skóra, J., Stępień, Ł., Szponar, B., Otlewska, A., and Pielech-Przybylska, K. (2015) J.Air & Waste Manag. Assoc. 65, 466-478.
- Kowalski, W., Bahnfleth, W., and Whittam, T. (1999) ASHRAE Trans. 05, 4-17.
- Reponen, T., Willeke, K., Ulevicius, V., Reponen, A., and Grinshpun, S.A. (1996) Atmo. Environ. 30, 3967-3974.
- Wang, Y.F. (2011). Environ. Engin. Sci. 28, 461-467.
- Rubow, K.L., Marple, V.A., Olin, J., and McCawley, M.A. (1987) Aihaj 48, 532-538.
- Zhen, H., Han, T., Fennell, D.E., and Mainelis, G. (2014). J. Aerosol Sci. 70,67-79.
- Hu, D., Wang-Li, L.J., Simmons, O.D., Classen, J.J., and Osborne, J.A. (2016) Environ. Engin. Sci., 33, 215-223.