

DETECTION DE VIRUS DANS L'AIR AVEC LES ECHANTILLONEURS D'AIR CORIOLIS

Floriane Cohen¹, Martin Serrano Sanchez¹ et Sophie Dubacq¹

¹Bertin Technologies, 78180, Montigny-le-Bretonneux, France

*Courriel de l'orateur : floriane.cohen.ext@bertin.fr

TITLE

Sampling virus-laden aerosols with the Coriolis air samplers

RESUME

La pandémie actuelle de Covid-19 a montré la vulnérabilité de nos systèmes de santé face aux infections virales sans traitement connu. Comprendre la transmission du SARS-CoV-2 dans l'air est une étape cruciale pour stopper la pandémie et mettre en place les mesures de prévention et de contrôle appropriées. Dans cet article, nous présentons comment les échantillonneurs d'air Coriolis (Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux, France) peuvent être utilisés pour la détection de virus dans l'air ambiant. Nous décrivons également un exemple d'utilisation du Coriolis μ en milieu hospitalier pour monitorer la présence du SARS-CoV-2 par le biais des techniques de RT-qPCR et de culture.

ABSTRACT

The current pandemic of Covid-19 has shown the vulnerability of our healthcare systems when faced with viral infections without a known treatment. Understanding the transmission behavior of SARS-CoV-2 in the air will be a crucial step to managing the current outbreak and design the appropriate prevention and control measures. In this article, we present how the Coriolis air samplers (Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux, France) can be used to detect the presence of viruses in the air. We also describe how researchers in Imperial College have been evaluating SARS-CoV-2 surface and air contamination in a London hospital, using surface swabs and the Coriolis μ air sampler coupled with RT-qPCR and viral culture.

MOTS-CLES : aérovirologie, échantillonnage d'air, Covid-19 / **KEYWORDS**: aerovirologie, air sampling, Covid-19

1. INTRODUCTION OU DETECTION DE VIRUS DANS LES BIOAEROSOLS

1.1. Transmission des maladies respiratoires par l'air

Les risques liés aux virus aéroportés constituent un problème majeur dans le domaine de la qualité de l'air intérieur et extérieur. Si les virus ne peuvent se multiplier qu'au sein des cellules de leur hôte, ils peuvent cependant se propager dans l'air ambiant à partir de leur hôte (aérosolisation primaire), ou se retrouver dans des liquides ou sur des surfaces depuis lesquels ils peuvent être aérosolisés (aérosolisation secondaire). Suite à leur aérosolisation, les virus se retrouvent dans un état transitoire, où ils ne se multiplient pas mais pour certains d'entre eux, peuvent conserver leur caractère infectieux selon les conditions environnementales (Morawska, 2006). Les conditions physiques (humidité, température, lumière UV..) mais aussi la concentration d'individus jouent un rôle particulièrement important dans ce phénomène. Il a été montré dans plusieurs études que la voie aérienne peut promouvoir la propagation de pathologies d'origine virale sur une distance de plusieurs kilomètres (Gralton, 2011), pour des virus comme le virus de la grippe aviaire A H5N1 (Alexander, 1995), le virus respiratoire syncytial (VRS) (Aintablian, 1998) ou encore le virus à l'origine du syndrome respiratoire aigu sévère ou SARS (Li, 2005). Dans le cas de l'épidémie actuelle de Covid-19, de nombreux chercheurs ont avancé l'hypothèse d'un rôle important joué par la transmission aéroportée du virus SARS-CoV-2 (Ge, 2020). Pour cette raison, il est essentiel de disposer de méthodes de détection de virus aéroportés qui permettent de monitorer la présence d'agents viraux dans l'environnement.

1.2. Détection des virus dans les bioaérosols

Les principales techniques d'échantillonnages dans l'air ont été décrites en détail dans la littérature (Verreault, 2008). La majorité des technologies d'échantillonnage de l'air jouent sur les propriétés des particules comme le diamètre aérodynamique, l'inertie, le mouvement brownien ou encore les propriétés d'adhérence. L'échantillonnage et l'analyse de bioaérosols présentent de nombreuses difficultés, tout particulièrement pour les virus. Il est nécessaire d'utiliser une méthode d'échantillonnage qui préserve l'intégrité des acides nucléiques viraux. Dans le cas des études de viabilité, il faut tenir compte de l'impact de l'échantillonnage sur les particules virales. La faible concentration des virus dans l'air constitue également un obstacle conséquent. En effet, lors de leur aérosolisation, les particules virales sont dispersées et diluées dans l'air ambiant. (Hammond, 1989). L'un des principaux défis de la détection de virus dans l'air consiste donc à

prélever un volume d'air suffisamment important sans endommager les virus. La concentration de l'échantillon collecté doit enfin être suffisamment importante pour être compatibles avec les méthodes analyses actuelles comme la PCR.

2. LES ECHANTILLONEURS D'AIR CORIOLIS

2.1. L'échantillonneur d'air Coriolis μ

Le Coriolis μ est un biocollecteur d'air à haut débit permettant d'évaluer le niveau de biocontamination de l'air intérieur et extérieur. Des particules biologiques comme des toxines, virus, bactéries, moisissures, pollens et spores sont collectées et concentrées dans un liquide prêt à être analysé avec des méthodes de biologie moléculaire et cellulaire. Le Coriolis μ peut être utilisé à des débits allant de 100L/min à 300 L/min, pour une durée de 10min, qui peut être allongée à 6h avec l'option de surveillance longue durée. Cette option permet de collecter un volume d'air important, ce qui présente un avantage pour la détection de virus. Le principe d'échantillonnage du Coriolis μ est basé sur une technologie cyclonique liquide alliée à un débit d'air élevé. La **Figure 1** illustre ce principe, qui peut être décrit brièvement par les étapes suivantes: (1) L'air est aspiré et pénètre dans le cône formant un vortex, (2) Les particules sont centrifugées sur la paroi du cône et séparées de l'air, (3) Les particules biologiques dans l'échantillon liquide sont prêts à être analysées par des méthodes de microbiologie rapides comme la PCR, les microarrays ou encore le NGS.

Dans le cas des virus, les particules virales sont collectées dans un cône contenant un liquide de collecte qui peut être du PBS ou du milieu de culture, dont le volume peut aller de 5 à 15mL. Le Coriolis peut collecter des particules de diamètre à partir de 0,5 μ m. Cela est compatible avec la collecte de virus car les virus sont rarement présents isolés dans l'air ambiant, ils sont généralement associés à des particules plus larges de diamètre en moyenne supérieur à 3 μ m (Gibson, 1986).

Après la collecte, les échantillons peuvent être par reconcentrés à l'aide d'un filtre du type comme le filtre centrifugal Amicon Ultra-15 (50 kDa cutoff) Merck Millipore pour atteindre des volumes de quelques centaines de μ L.

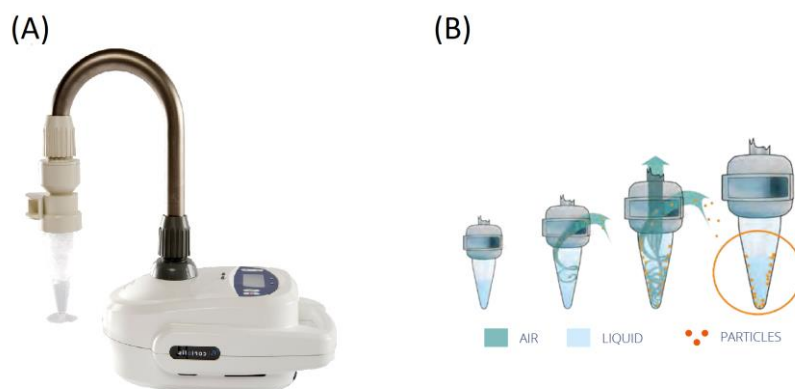


Figure 1 : L'échantillonneur d'air Coriolis μ : (A) : vue de profil, (B) principe de collecte (source : Bertin Technologies, France)

2.2. L'échantillonneur d'air Coriolis Compact

Le Coriolis Compact est un biocollecteur innovant, qui est le dernier modèle de la gamme de collecteurs d'air Coriolis. Il utilise une technologie d'échantillonnage cyclonique à sec, décrite en **Figure 2**. La collecte s'effectue selon les étapes suivantes : (1) le cône est placé sur l'instrument et verrouillé (2) L'air aspiré est introduit dans le cône (3) Les particules contenues dans l'air sont retenues sur les parois du cône. (4) Les particules collectées peuvent être récupérées en ajoutant un liquide dans le cône.

Le Coriolis Compact peut être utilisé pour monitorer le niveau de particules biologiques dans l'air en intérieur et en extérieur. Le système cyclonique à sec aspire les particules avec un débit d'air de 50L/m afin de les concentrer dans un cône de collecte où elles seront retenues. Une fois les particules ou micro-organismes collectés, elles sont récupérées dans une solution tampon appropriée choisie par l'utilisateur. L'échantillon est ainsi compatible avec les méthodes d'analyse biologiques standards (NGS, qPCR, Culture). Le Coriolis Compact recueille des particules allant de 500 nm à 10 μ m. L'autonomie de sa batterie rend possible un échantillonnage continu pour une durée de 8 heures, et son format compact (poids 1,2kg) permet son transport dans des endroits stratégiques pour la réalisation d'échantillonnages.

La technologie d'échantillonnage à sec du le Coriolis Compact est compatible avec la collecte de virus dans l'air. Après chaque collecte, l'utilisateur peut choisir le volume de liquide dans lequel il souhaite resuspendre son échantillon et donc obtenir des échantillons avec d'importantes concentrations en particules virales. De plus, pour empêcher la dégradation des acides nucléiques présents dans l'échantillon, il est possible d'ajouter une solution comme le Trizol dans le cône de collecte immédiatement après l'échantillonnage.

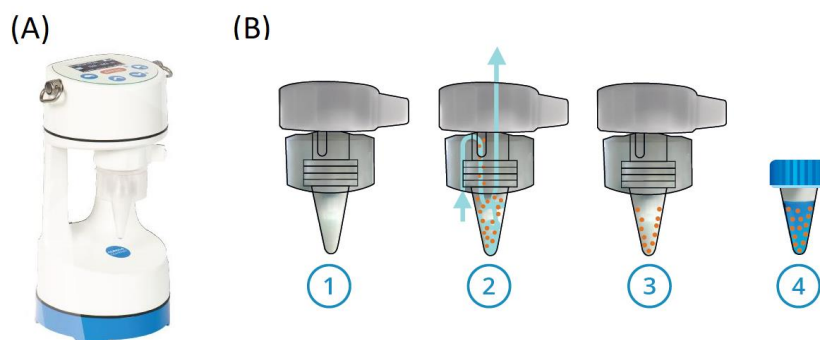


Figure 2 : L'échantillonneur d'air Coriolis Compact: (A) vue de profil, (B) principe de collecte (source : Bertin Technologies, France)

3. UTILISATION DES ECHANTILLONEURS D'AIR CORIOLIS EN MILIEU SANITAIRE DANS LE CADRE DE LA PANDEMIE DE COVID-19

Les échantillonneurs Coriolis permettent la détection de virus dans l'air dans de nombreux environnements différents. Ils ont été utilisés pour le contrôle et la surveillance de la qualité de l'air dans la recherche environnementale, ainsi que dans les industries pharmaceutiques, alimentaires et vétérinaires, ou encore dans des environnements biomédicaux et sanitaires (Mubareka, 2015), (Naide, 2018), (Brisebois, 2018).

Dans le cadre de la pandémie de Covid-19, de nombreuses études ont soulevé l'hypothèse d'un mécanisme de transmission aéroportée du virus SARS-CoV-2. Cette problématique est particulièrement importante pour les milieux sanitaires afin de mettre en place des règles sanitaires d'hygiène limitant la propagation du virus dans les hôpitaux. Nous présentons ici brièvement un exemple d'utilisation du Coriolis μ par les chercheurs de l'Imperial College pour évaluer la contamination de l'air et des surfaces d'un hôpital, pendant le pic de la première vague de Covid-19 à Londres, à l'aide des techniques de RT-qPCR et culture (Zhou, 2020).

3.1. Protocole utilisé pour l'échantillonnage

Protocole d'échantillonnage : Les échantillons collectés sur les surfaces, ainsi que les échantillons d'air ont été prélevés dans 8 sites différents d'un hôpital du Nord-Ouest de Londres pendant le pic de la première vague de Covid (entre le 2 et le 20 avril 2020), parmi lesquels 7 zone cliniques et 1 zone publique. La liste des sites figure dans la Figure 3. Tous les services concernés étaient entièrement remplis par des patients atteints du Covid-19 au moment de l'échantillonnage, mis à part le service des urgences.

Dans chacune des zones cliniques, 4 échantillons d'air ont été collectés (exceptés dans le service des urgences, et les zones publiques, où respectivement 5 et 3 échantillons furent collectés). Des échantillons furent également collectés sur des surfaces à l'aide d'écouvillons, sur une zone d'approximativement 25cm² proche de l'endroit où l'échantillon d'air avait été prélevé.

Collecte : L'échantillonnage a été effectué avec le Coriolis μ , (Bertin Technologies, France) à 100L/min pendant 10 min (ce qui correspond à 1m³ d'air) dans 5 mL de milieu DMEM.

Analyse RT-qPCR : l'extraction ARN a été réalisée sur 140 μ L d'échantillon à l'aide du mini-kit Viral RNA de Qiagen. Elle fut suivie d'une RT-qPCR visant le gène de l'enveloppe (E) de SARS-CoV-2 avec le AgPath One-step RT-PCR (Life Technologies).

Culture virale : Des cellules Vero E6 (cellules rénales de singe Cholorocebus) ainsi que Caco2 (cellules humaines de carcinome du colon) ont été utilisées pour cultiver les virus provenant des échantillons environnementaux prélevés à l'hôpital.

3.2. Résultats

L'ARN du virus SARS-CoV-2 fut détecté dans 114/218 des échantillons de surfaces, ainsi que dans 14/31 des échantillons d'air collectés avec le Coriolis μ . Les résultats correspondants figurent dans le **Tableau 1**.

Tableau 1: résultats PCR pour les échantillons d'air. Dans le cas où les analyses PCR des échantillons d'air et de surfaces détectent l'ARN du SARS-CoV-2, le résultat est défini comme positif. Si l'analyse d'un seul des échantillons détecte le virus, le résultat est défini comme suspect. Si aucune analyse ne détecte le virus, le résultat est négatif. (adapté de (Zhou, 2020))

		AIR SAMPLES	
		Result	Concentration (copies/m ³)
Cohort ward A	Staff room	Negative	
	Nurse station	Negative	
	Toilet B (outside the patients' bay)	Negative	
	Cohort bay B	Positive	7048
Cohort ward B	Staff room	Negative	
	Patients' toilet (in the ward)	Suspect	464
	Male bay (side room)	Suspect	1305
Adult acute admission unit	Ward managers office	Negative	163
	Nurse station	Positive	404
	Patient bay 2	Negative	
Adult emergency department	Patient bay 1	Negative	
	Green mapes	Negative	
	Nurse station	Negative	
	Ambulatory waiting	Negative	
	Patient assessment cubicles		
Hospital public areas	Male toilet (next to the nurse station)	Suspect	35
	Resus bay (last patient > 2 hours)		
	QEOM main entrance	Suspect	1574
	Male toilet at QEOM main entrance	Suspect	1545
Temporary CPAP ward	Lift area QEOM ground floor	Negative	
	Nurse station	Suspect	1922
	CPAP unit	Suspect	31
Adult ICU			< 1m from 2 patients
	PPE staffing area	Negative	> 2 m from patients
	Staff room	Suspect	249
Operating theatres	Nurse station inside ICU	Negative	
	Bay area	Suspect	164
	Side room bay area	Suspect	307
Total	Operating theatres	Negative	Before tracheostomy
		Negative	During tracheostomy
		Suspect	1163
		Negative	During tracheostomy
		2/31 (6.4%) positive; 12/31 (38.7%) suspect	

Les concentrations détectées indiquent une charge virale non cultivable, ce qui fut confirmé par les tests de culture virale. Les données obtenues montrent une présence d'ARN viral dans les zones publiques de l'hôpital, mais moins fréquentes que dans les zones cliniques. Ces résultats montrent que le Coriolis μ peut être utilisé avec succès pour évaluer la biocontamination par SARS-CoV-2 dans les milieux sanitaires.

Nous souhaitons remercier le Dr Zhou du Department of Infectious Disease, Imperial College London, London, UK.

Aintablian, N., Walpita, P. and Sawyer, M.H., (1998). Detection of Bordetella pertussis and respiratory syncytial virus in air samples from hospital rooms. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 19(12), 918-923.

Alexander, D.J., (1995). The epidemiology and control of avian influenza and Newcastle disease. *Journal of comparative pathology*, 112(2), 105-126.

Brisebois, E., Veillette, M., Dion-Dupont, V., Lavoie, J., Corbeil, J., Culley, A. and Duchaine, C., (2018). Human viral pathogens are pervasive in wastewater treatment center aerosols. *Journal of Environmental Sciences*, 67, 45-53.

Ge, Z.Y., Yang, L.M., Xia, J.J., Fu, X.H. and Zhang, Y.Z., (2020). Possible aerosol transmission of COVID-19 and special precautions in dentistry. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 1-8.

Gibson, C.F. and Donaldson, A.I., (1986). Exposure of sheep to natural aerosols of foot-and-mouth disease virus. *Research in veterinary science*, 41(1).

Gralton, J., Tovey, E., McLaws, M.L. and Rawlinson, W.D., (2011). The role of particle size in aerosolised pathogen transmission: a review. *Journal of Infection*, 62(1), 1-13.

Hammond, G.W., Raddatz, R.L. and Gelskey, D.E., (1989). Impact of atmospheric dispersion and transport of viral aerosols on the epidemiology of influenza. *Reviews of infectious diseases*, 11(3), 494-497.

Li, Y., Huang, X., Yu, I.T.S., Wong, T.W. and Qian, H., (2005). Role of air distribution in SARS transmission during the largest nosocomial outbreak in Hong Kong. *Indoor air*, 15(2), 83-95.

Morawska, L., (2005). Droplet fate in indoor environments, or can we prevent the spread of infection?. In *Proceedings of Indoor Air 2005: the 10th International Conference on Indoor Air Quality and Climate (9-23)*. Springer.

Mubareka, S., Granados, A., Naik, U., Darwish, I., Cutts, T.A., Astrakianakis, G., Gubbay, J.B., Peci, A. and Scott, J.A., (2015). Influenza virus emitted by naturally-infected hosts in a healthcare setting. *Journal of Clinical Virology*, 73, 105-107.

Naide, T., Ikeguchi, A., Islam, M.A., Katsuda, K., Kawashima, K., Nakakubo, R. and Miyazaki, A., (2018). Relationship between aerosol concentration and airborne microbe including porcine sapelovirus concentration in Japanese weaning swine houses. In *10th International Livestock Environment Symposium (ILES X) (1)*. American Society of Agricultural and Biological Engineers.

Verreault, D., Moineau, S. and Duchaine, C., (2008). Methods for sampling of airborne viruses. *Microbiology and molecular biology reviews*, 72(3), 413-444.

Zhou, J., Otter, J., Price, J.R., Cimpeanu, C., Garcia, D.M., Kinross, J., Boshier, P., Mason, S., Bolt, F., Holmes, A.H. and Barklay, W., (2020). Investigating SARS-CoV-2 surface and air contamination in an acute healthcare setting during the peak of the COVID-19 pandemic in London. *Clinical Infectious Diseases*, ciaa905