

## DEPLOIEMENT EN MICROENVIRONNEMENT DE 2 PRELEVEURS CYCLONIQUES POUR L'ETUDE TOXICOLOGIQUE DE PARTICULES

A. Delater<sup>1,3</sup>, B. Berthelot<sup>1</sup>, L. Meunier<sup>1</sup>, S. Fable<sup>1</sup>, M. De Mendonça Andrade<sup>1</sup>, O. Le Bihan<sup>1</sup>, J. Queron<sup>1</sup>, G. Lacroix<sup>1</sup>, M. Plumail<sup>1</sup>, C. Gamez<sup>1</sup>, K. Blazy<sup>1</sup>, M. Floreani<sup>1</sup>, A. Albinet<sup>1</sup>, S. Ngo<sup>2</sup>, G. Brun<sup>2</sup>, H. Carrilho<sup>2</sup>, I. Coll<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INERIS, Institut Nationale de l'Environnement industriel et des RISques, 60550 Verneuil-en-Halatte, France

<sup>2</sup>SNCF Voyageurs – Ingénierie du Matériel – Agence d'Essai Ferroviaire, 94407 Vitry-sur-Seine, France

<sup>3</sup>Univ Paris Est Créteil and Université de Paris, CNRS, LISA, F-94010 Créteil, France

\*Courriel de l'orateur : ambre.delater@ineris.fr

### TITLE

**Deployment in microenvironment of 2 cyclone samplers for the toxicological study of particles.**

### RESUME

Les prélèvements de particules sur filtre ne permettent pas à l'heure actuelle d'étudier leurs effets toxicologiques correctement. En effet, pour effectuer des analyses *in vitro*, les particules doivent être désorbées du filtre pour être déposées sur des cellules. Or les étapes de désorption peuvent induire des modifications des propriétés physico-chimiques des particules. Une méthode de prélèvement alternative est donc recherchée. Les préleveurs de bioaérosols représentent de potentiels candidats pour cela, puisqu'ils collectent les particules sur d'autres supports que le filtre (e.g. directement dans un liquide). Deux préleveurs de bioaérosols (i.e. le Coriolis Micro et le Coriolis Compact - Bertin Instruments) ont été testés dans deux microenvironnements différents (i.e. quai et rame de train). Les résultats ont montré qu'il est possible de déployer de tels préleveurs sur le terrain et que les échantillons prélevés sont compatibles avec des tests *in vitro*. Toutefois, leur efficacité de prélèvement selon le diamètre des particules doit encore être caractérisée.

### ABSTRACT

Particles sampling on filters does not enable to study their health effect without bias. To analyze particles with *in vitro* test, the particles must indeed be desorbed from filter and deposited on cells. Yet, the desorption steps may induce modifications of the physico-chemical properties of the particles. Thus, an alternative sampling method should be set-up. Bioaerosol samplers are potential candidates for this, since they collect particles on other media. Two bioaerosol samplers (i.e., Coriolis Micro and Coriolis Compact - Bertin Instruments) were tested in two different microenvironments (i.e., platform and train). The results showed that it is possible to deploy such samplers in real conditions and that the samples collected are compatible with *in vitro* tests. However, their sampling efficiency as a function of particle diameter still needs to be evaluated.

**MOTS-CLÉS** : prélèvement, aérosol, tests *in vitro*, microenvironnement / **KEYWORDS**: sampling, aerosol, *in vitro* test, microenvironment

### 1. INTRODUCTION

Un microenvironnement est un espace où la concentration en polluants est considérée comme homogène ou ayant une variation prévisible dans le temps (Duan, 1982), e.g. habitacle de voiture, parking, quai de train. Les caractéristiques des particules rencontrées dans ces environnements peuvent varier fortement (e.g. composition chimique, taille, concentration des particules) (Tran *et al*, 2021). Selon les trajets empruntés par les individus au cours de leur journée, et leurs temps de passage dans un ou plusieurs microenvironnements, ils subiront différentes formes et intensités de pollution particulaire, avec des conséquences variables sur leur santé (Chen *et al*, 2020). Il y a donc un besoin fort d'étudier le potentiel toxique des principaux microenvironnements urbains, par exemple par des essais *in vitro* sur cellules.

Pour cela, la méthode la plus utilisée consiste à prélever les particules sur un filtre puis à les désorber du support, afin de les déposer sur des cellules et étudier leurs effets (Goulaouic, 2009). Cependant, les ultrasons et les solvants utilisés pour désorber les particules induisent des modifications sur les propriétés physico-chimiques de celles-ci (Marvanova *et al*, 2018).

Dans ce contexte, une méthode de prélèvement alternative a été recherchée pour effectuer des tests ultérieurs *in vitro*. Les préleveurs de bioaérosols ont été identifiés comme potentiels candidats pour répondre à cette problématique, puisqu'ils présentent l'avantage de prélever des particules sur des supports autres que le filtre (e.g. prélèvement directement dans un liquide, sur un gel, dans un récipient). Cependant, leur efficacité de prélèvement n'est souvent pas bien caractérisée, et reste à étudier.

Dans le cadre de la thèse Aerorep<sup>1</sup> et du projet TOXinTRANSPORT<sup>2</sup>, 2 préleveurs de bioaérosols ont été choisis pour être évalués sur le terrain : (a) le Coriolis Micro, un cyclone en voie liquide et (b) le Coriolis Compact, un cyclone en voie sèche (Bertin Instruments) dans lesquels les particules sont aspirées jusqu'à un cône. L'objectif est de déterminer si ces préleveurs peuvent être détournés de leur utilisation principale (i.e. le prélèvement pour la caractérisation de bioaérosol) pour répondre aux besoins du projet. Les préleveurs devront (i) être déployables en microenvironnement, (ii) prélever des échantillons compatibles avec les tests *in vitro* et (iii) compatibles avec des méthodes de caractérisations des particules (e.g. détermination de la masse de particules collectées) dans le but d'interpréter les résultats toxicologiques. Dans un second temps, leur efficacité de prélèvement selon la taille des particules sera évaluée.

## 2. MATERIELS & METHODES

### 2.1. Présentation des campagnes de terrain

Les Coriolis ont été déployés lors de 2 campagnes de terrain (2 campagnes pour le Coriolis Micro et 1 campagne pour le Coriolis Compact). La campagne n°1 s'est déroulée sur quai en Enceinte Ferroviaire Souterraine (EFS) et la campagne n°2 en rame de train (Figure 1).

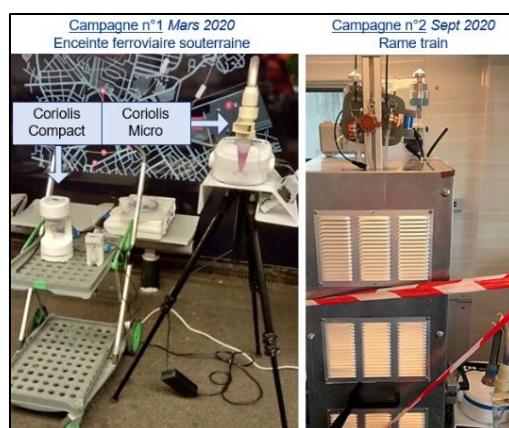


Figure 1 : Déploiement des Coriolis en conditions réelles

Le Coriolis Micro (cyclone en voie liquide) a été testé avec différents liquides et différents débits. En parallèle des prélèvements des Coriolis, des méthodes de référence ont été déployées pour mesurer la concentration particulaire. Le Tableau 1 regroupe les paramètres de mesure.

Tableau 1 : Paramètres de mesure

Paramètres	Campagne n°1	Campagne n°2
Liquide de prélèvement (Micro)	- Milieu de culture diluée (RPMI + SVF) - Eau Milli Q	Eau Milli Q + tensioactifs (0,001% Tween 20)
Durée prélèvement	2h à 4h	10 min à 14h
Débit	Coriolis Micro : 100 L/min Coriolis Compact : 50 L/min	Coriolis Micro : 100 L/min et 300 L/min
Référence en parallèle	TEOM PM <sub>2,5</sub> et PM <sub>10</sub>	Impacteur personnel HPEM PM <sub>10</sub>

### 2.1. Présentation des analyses des échantillons

Les particules prélevées par les Coriolis ont été récupérées et déposées sur les cellules. Pour les prélèvements Coriolis Micro dans le milieu de culture, le prélèvement a été déposé sur les cellules tel quel. Pour les prélèvements Coriolis Micro dans l'eau Milli Q avec tensioactif, le prélèvement a été dilué dans du milieu de culture 10 fois concentré et déposé sur les cellules. Enfin, pour le Coriolis Compact, le prélèvement a été remis en suspension dans du milieu de culture 1 fois concentré et déposé sur les cellules. Les prélèvements Coriolis Micro dans l'eau Milli Q sans tensioactifs n'ont pas été exposés sur cellules. Les tests *in vitro* ont été effectués sur un modèle de co-culture composée de cellules épithéliales alvéolaires humaines A549 et de monocytes différenciés en macrophages THP-1. La cytotoxicité a été évaluée par un test métabolique (le presto blue) et un test mesurant l'intégrité de la membrane cellulaire (test LDH), après exposition des cellules aux particules durant 24 heures.

<sup>1</sup> « Développement d'une méthode de prélèvement *in situ* d'AEROSols en vue de l'évaluation des REPonses pulmonaires induites » – Ambre Delater sous la direction d'Isabelle Coll et de Brice Berthelot

<sup>2</sup> « Caractérisations TOXicologiques *in vitro*, chimiques et physiques de particules prélevées dans l'air d'habitacles de TRANSPORT en roulage » – APR IMPACTS ADEME 2018

Enfin, la masse des particules prélevée a été estimée par une analyse optique en voie liquide avec un disque centrifuge, le CPS (CPS Instruments, Inc.). Le CPS mesurait les particules entre 0,02 et 6 µm de diamètre, en prenant comme indice de réfraction celui des oxydes de fer, élément majoritaire en concentration dans les 2 environnements (analyse par ICP-MS de filtres).

### 3. RESULTATS

Plusieurs constats ont pu être faits lors de l'évaluation des Coriolis sur le terrain. Tout d'abord, les Coriolis peuvent être déployés en microenvironnement sans difficulté grâce à leur petit format et leur légèreté. Ensuite, l'étape de préparation des échantillons avant tests *in vitro* a montré que l'emploi de tensioactif était nécessaire pour récupérer les particules prélevées en voie liquide. En effet, les particules prélevées dans l'eau Milli Q sans tensioactif (campagne n°1) étaient adsorbées sur les parois du cône. Enfin, le Coriolis Compact (cyclone en voie sèche) s'est révélé être la technologie la plus adaptée pour récupérer les particules, puisque les étapes de récupération étaient moins nombreuses, limitant ainsi les contaminations potentielles de manipulation et les pertes de particules.

Des effets d'intensité différente ont été observés sur les cellules lors des analyses *in vitro* des échantillons des 2 campagnes de terrain. La Figure 2 représente le pourcentage de survie des cellules (colonne de gauche) ainsi que le pourcentage de cytotoxicité (colonne de droite) selon la masse de particules prélevées dans les échantillons, mesurées par le CPS et déposées sur les cellules (les échantillons sont ici dilués à 1:2). Les barres sont colorées selon la durée de prélèvement de l'échantillon.

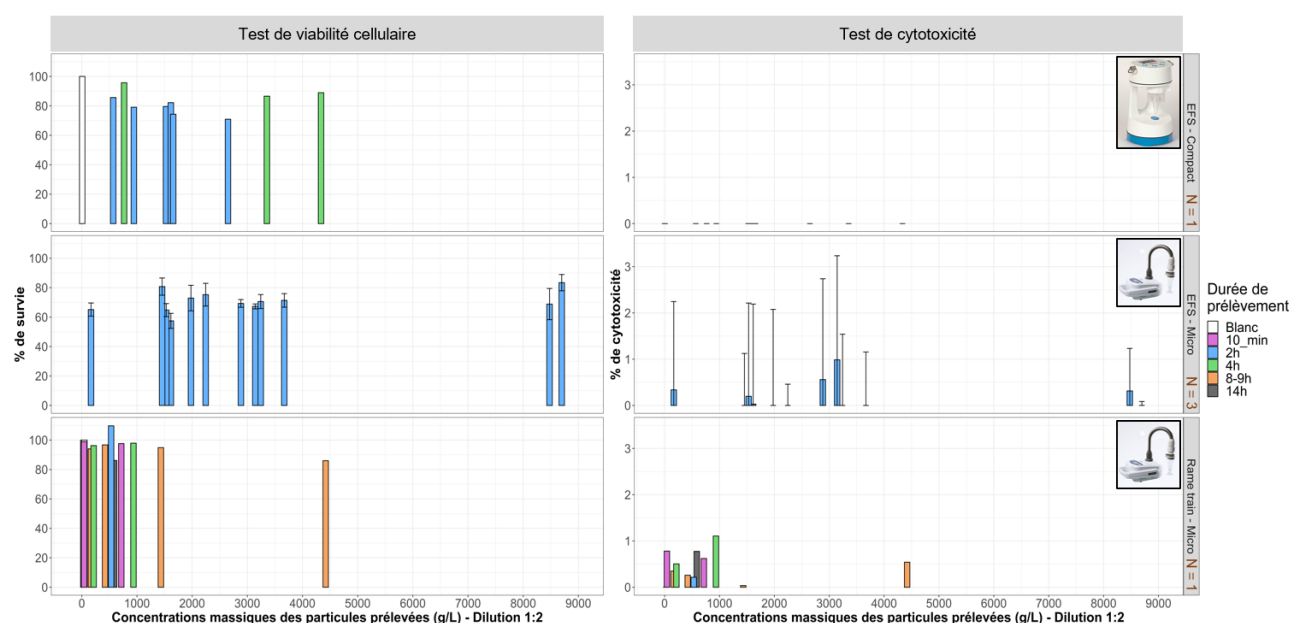


Figure 2 : Pourcentage de survie des cellules et pourcentage de cytotoxicité sur les cellules en fonction de la masse de particules (en g/L) prélevées (dilution 1:2) et déposées sur les cellules. La 1ère ligne présente les résultats du Coriolis Compact lors de la campagne n°1, la 2<sup>ème</sup> ligne présente les résultats du Coriolis Micro lors de la campagne n°1 et la 3<sup>ème</sup> ligne présente les résultats du Coriolis Micro lors de la campagne n°2.

Tout d'abord, les résultats des concentrations en particules prélevées par les Coriolis ont montré qu'ils permettent de collecter en l'espace de 2h assez de particules pour que celles-ci soient quantifiables (la concentration la plus basse en PM<sub>10</sub> mesurée en parallèle des Coriolis par les préleveurs HPEM est 30 µg/m<sup>3</sup>). Des essais de 10 min réalisés avec le Coriolis Micro à un débit de 300 L/min (au lieu de 100 L/min pour les autres essais) ont montré qu'il est aussi possible d'effectuer des prélèvements bien plus courts que 2h et de quantifier les particules, à condition que l'atmosphère soit assez chargée en particules (la barre rose la plus à droite du graphique représente un prélèvement effectué lors d'un passage en gares souterraines alors que la barre rose la plus à gauche représente un prélèvement effectué lors d'un passage en gares aériennes). Les essais les plus longs ne sont pas toujours les plus chargés en particules. Ce phénomène peut s'expliquer par (i) la concentration en particules dans l'environnement lors du prélèvement mais aussi par (ii) le fait que l'efficacité de rétention (*i.e.* la fraction des particules collectées qui sont encore retenues dans le fluide de collecte à la fin de l'échantillonnage) d'un préleveur diminue au cours du temps du fait de la ré-aérosolisation des particules et/ou de l'évaporation du liquide (Su *et al*, 2020). L'efficacité de rétention est propre à chaque préleveur et à la connaissance de l'auteur, celle du Coriolis Micro n'est pas/peu étudiée dans la littérature. A l'avenir, elle devra être évaluée afin de déterminer le temps de collecte optimum du Coriolis Micro.

Pour ce qui est des résultats toxicologiques, on peut constater sur la Figure 2 qu'il y a plus de mortalité cellulaire pour la campagne n°1 que pour la campagne n°2. De plus, on peut voir que les essais les plus chargés en particules ou les plus longs ne sont pas ceux qui induisent le plus de mortalité cellulaire. Pour ce qui est du pourcentage de cytotoxicité, il n'y a pas ou peu d'effets qui ont été observés sur les cellules. Enfin, les résultats des mesures de concentrations particulaires prélevées par les Coriolis ont montré que celles-ci étaient en moyenne supérieures de plus de 2 ordres de grandeur à celles prélevées en parallèle par les méthodes de référence (Figure 3). Cette différence peut s'expliquer (i) par le fait que les appareils de références ne mesurent que les PM<sub>2,5</sub> ou PM<sub>10</sub> contrairement aux Coriolis qui mesureraient des particules supérieures à 2,5 µm de diamètre et/ou (ii) que les Coriolis surestiment le prélèvement d'une fraction de particules. Ces hypothèses pourront être vérifiées par une analyse plus poussée de la granulométrie des particules prélevées et par une évaluation de l'efficacité des préleveurs en laboratoire.

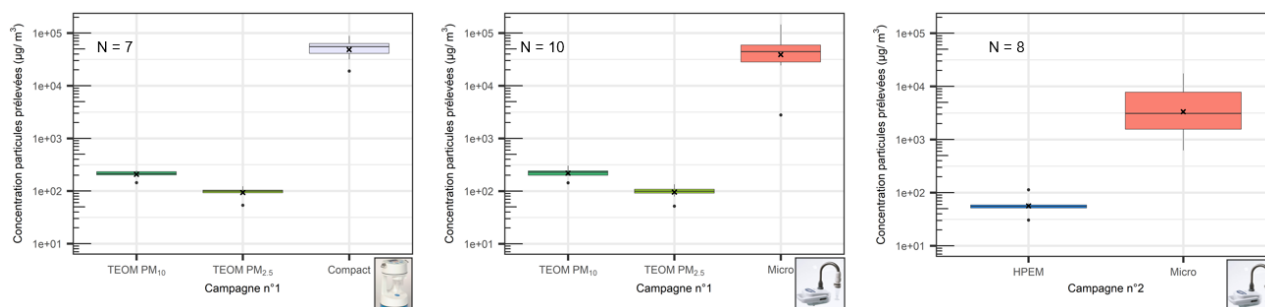


Figure 3 : Distribution sous forme de boxplots des concentrations particulaires mesurées en parallèle par les Coriolis et par une méthode de référence (TEOM et HPEM).

#### 4. CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

La faisabilité du déploiement de 2 préleveurs de bioaérosol en conditions réelles a pu être étudiée, du prélèvement jusqu'aux analyses toxicologiques. Le haut débit des Coriolis fait de ces 2 technologies de sérieuses candidates pour le prélèvement de particules en microenvironnement à des fins d'études toxicologiques *in vitro*. Le temps de prélèvement le plus adapté pour prélever les particules en concentration quantifiable, mais en limitant les phénomènes de ré-aérosolisation/d'évaporation, reste à déterminer pour le Coriolis Micro. Les essais de 10 min à 300 L/min ont montré qu'il était possible de quantifier les particules, à condition qu'il y en ait assez dans l'environnement prélevé. Cette configuration de prélèvement pourrait être intéressante puisqu'elle représenterait le volume d'air respiré par un homme pendant 6 à 8h. Augmenter le débit pour des durées de prélèvement identiques favorise cependant l'évaporation, réduisant le volume d'échantillon et le nombre d'analyses pouvant être effectuées. Le Coriolis Compact prélève les particules sans liquide, ce qui pourrait permettre de déterminer le temps de prélèvement le plus adapté sans les contraintes d'évaporation du Coriolis Micro.

La surestimation des concentrations en particules prélevées par les Coriolis en comparaison des méthodes de références pose la question de la représentativité des échantillons prélevés. La suite des travaux va consister à (a) évaluer l'efficacité de prélèvement de ces technologies en laboratoire afin de lever cette inconnue, (b) exploiter davantage les échantillons des 2 campagnes afin de mieux caractériser les prélèvements Coriolis (e.g., analyses de la composition chimique des particules prélevées).

#### 5. REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la société Bertin Instruments pour leur contribution à la réalisation des essais menés dans le cadre de la thèse Aerorep et du projet TOXinTRANSPORT.

Chen, X.-C., J.-J. Cao, T.J. Ward, L.-W. Tian, Z. Ning, N.K. Gali, N.J. Aquilina, S. H.-L. Yim, L. Qu, and K.-F. Ho (2020). Characteristics and toxicological effects of commuter exposure to black carbon and metal components of fine particles (PM<sub>2.5</sub>) in Hong Kong. *Science of the Total Environment* 742:12.

Duan, N. (1982). Model for human exposure to air pollution. *Environment International* 8: 305-309.

Goulaouic, S. Effets des particules fines atmosphériques sur la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires par les cellules THP-1 et mesures de marqueurs du stress oxydant. *Toxicologie*. Université Paul Verlaine - Metz, 2009. Français. NNT: 2009METZ018S. tel-01752636

Marvanova, S., P. Kulich, R. Skoupy, F. Hubatka, M. Ciganek, J. Bendl, J. Hovorka, and M. Machala (2018). Size-segregated urban aerosol characterization by electron microscopy and dynamic light scattering and influence of sample preparation. *Atmospheric Environment* 178:181-190.

Su, Y., W. Wang, W. Wang, L. Zhai, X. Shen, J. Xu and Z. Li (2020). Re-evaluation of BioSampler and its improvement for on-line, time-resolved monitoring of environmental coarse aerosol. *Atmospheric Environment* (2020) 117249.

Tran, P.T.M., M.G. Adam, K.W. Tham, S. Schiavon, J. Pantelic, P.F. Linden, E. Sofianopoulou, S.C. Sekhar, D. Kok Way Cheong, and R. Balasubramanian (2021). *Sustainable Cities and Society* 72:103

Pour citer cet article : Auteurs (2022), Titre, Congrès Français sur les Aérosols 2022, Paris