

EVALUATION D'UNE METHODOLOGIE UTILISANT LES FILTRES DE REPRISE DES CENTRALES DE TRAITEMENT D'AIR POUR QUALIFIER LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DE L'AIR INTERIEUR DES BUREAUX

G. Pavard*^{1,2}, A. Joubert¹, Y. Andrès¹, P. Le Cann²

¹IMT Atlantique, GEPEA, CNRS UMR 6144, CS 20722, 44307, Nantes, France

²EHESP, Inserm, IRSET - UMR_S 1085, 35000 Rennes, France

*Courriel de l'orateur : gaetan.pavard@imt-atlantique.fr

TESTING OF METHODOLOGY USING AIR HANDLING UNIT FILTERS TO QUALIFY THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF INDOOR AIR IN OFFICES

RESUME

La pandémie Covid-19 a permis de rappeler l'importance de maintenir une qualité de l'air intérieur convenable pour diminuer les risques de propagation des particules virales. L'objectif de cette étude est de tester une méthodologie utilisant les filtres de reprise des centrales de traitement d'air pour identifier les contaminants microbiens présents dans l'air intérieur de bureaux. La méthodologie met en œuvre des coupons de média filtrant prélevés périodiquement sur les filtres et analysés par méthodes culturale et moléculaire. Les résultats montrent que la concentration en microorganismes cultivables sur les filtres se stabilise après 4-5 mois et les genres *Aspergillus*, *Cladosporium* et *Penicillium* sont majoritaires.

ABSTRACT

The Covid-19 pandemic reminded us of the importance of maintaining adequate indoor air quality to reduce the risk of propagation of viral particles. The aim of this study is to use air handling unit (AHU) filters to develop a methodology to identify microbial contaminants present in office indoor air. The methodology involves discs of filter media taken periodically from the extraction filters and analysed by cultural and molecular methods. The concentration of cultivable microorganisms on the filters stabilises after 4-5 months. The genera *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium* are the most represented.

MOTS-CLES : Qualité microbiologique de l'air, Bureaux, Centrale de Traitement d'Air, Filtres, Aérosols microbiens /

KEYWORDS : Microbiological air quality, Offices, Air Handling Units, Filters, Microbial aerosols

1. INTRODUCTION

La Qualité de l'Air Intérieur (QAI) et ses impacts sur le bien-être et la santé, sont devenus une préoccupation majeure ces dernières années et de surcroît aujourd'hui à la lumière de la crise sanitaire Covid-19 (Qian et al., 2021). Parmi les indicateurs pris en compte dans la QAI on retrouve les aérosols. L'exposition prolongée à des concentrations élevées en PM (Particulate Matter) augmente les risques pour la santé, notamment du système respiratoire et cardiovasculaire (Brunekreef & Forsberg, 2005; Lu et al., 2015). Concernant les aérosols d'origine animale, végétale ou microbienne, appelés bioaérosols, l'impact d'une exposition sur la santé est beaucoup moins connu.

L'étude de ces bioaérosols implique une étape essentielle qui est l'échantillonnage. Il existe trois types de biocollecteurs classés en fonction du mécanisme de collecte des microorganismes de l'air. L'impaction en milieu solide permet de collecter les bioaérosols directement sur une boîte de Petri avec un milieu gélosé (Bragoszewska et al., 2020). La filtration permet de capter les microorganismes sur un filtre et d'ensuite les cultiver ou d'utiliser des techniques de biologie moléculaire pour les analyser (Bekking et al., 2019). Enfin d'autres échantillonneurs utilisent la méthode d'impingement permettant de collecter les microorganismes en milieu liquide (Ferguson et al., 2019). Les biocollecteurs disponibles présentent, pour la plupart, la contrainte de prélever seulement sur une courte durée et ne donnent qu'une image de la contamination de l'environnement intérieur au moment de la collecte.

Pour déterminer la contamination microbiologique de l'air intérieur sur une échelle de temps supérieure, il est possible d'utiliser les filtres des Centrales de Traitement d'Air (CTA) comme collecteurs et accumulateurs de la contamination particulaire et biologique. Deux précédentes études, menées à IMT Atlantique, ont expérimenté une nouvelle méthodologie afin d'utiliser ces filtres pour des analyses microbiologiques (Gonzalez H., 2014; Joubert et al., 2021).

L'objectif de cette étude est de développer une méthodologie d'analyse de l'exposition aux contaminants de l'air intérieur de bureaux, par l'étude des filtres de reprise des CTA. Les contaminants étudiés sont les moisissures, les bactéries et les virus. La méthodologie a été mise en œuvre avec des filtres d'extraction d'une CTA d'un bâtiment BBC (Bâtiment Basse Consommation) du site d'IMT Atlantique du campus de Nantes alimentant des bureaux. Cet article présente les résultats obtenus entre Février et Juillet 2021.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Caractéristiques de la CTA étudiée

La CTA étudiée est du type double flux avec un échangeur thermique rotatif. Elle possède deux compartiments : l'un dédié à l'air neuf, et l'autre traitant l'air repris des bureaux. Dans chaque compartiment, deux filtres à poches constitués chacun de quatre poches et placés en parallèle filtrent l'air. La Figure 1 présente un schéma de la CTA avec ses différents éléments. Un débit d'air de 2360 m³/h a été estimé sur les deux compartiments correspondant à une vitesse de filtration au niveau des filtres à poches de 0,22 m/s. Le média filtrant composant les filtres classés ePM1 60% selon la norme ISO16890 est constitué de trois couches, une pré-couche synthétique, une couche de microfibre de verre et d'une couche en polyester. La surface de filtration est de 1,5 m² par filtre.

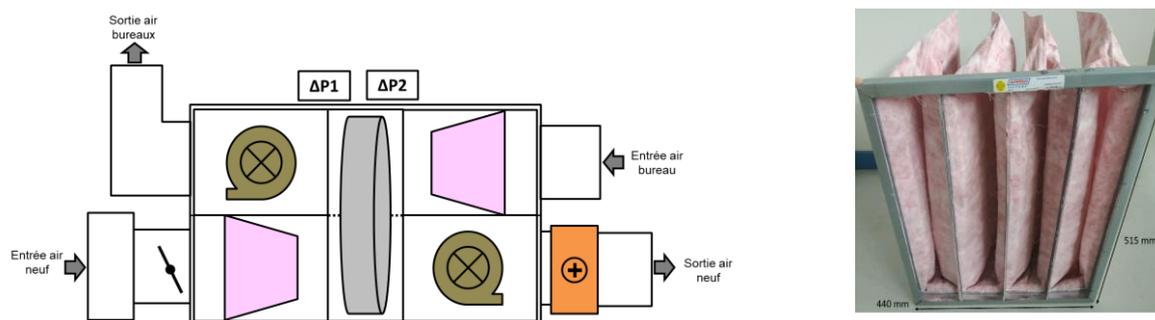


Figure 1 : À gauche, schéma simplifié de la CTA ; à droite, photographie d'un filtre à poches neuf.

2.2. Caractérisation de l'écoulement d'air à travers les filtres d'extraction

Le compartiment de reprise de la CTA, équipé de deux filtres à poches placés en parallèle, présente une particularité, à savoir une arrivée d'air décentrée au niveau d'un des deux filtres. La répartition de l'écoulement à travers des filtres neufs a été étudiée à l'aide de particules traceur de fluorescéine. Une solution de fluorescéine à 50 g/L a été injectée (d_{50} optique=0,18μm) en amont du caisson de reprise pour un débit nominal de fonctionnement de la CTA. Une quantification zonale (entrée/milieu/fond des poches) de l'écoulement dans les filtres a été réalisée par spectrophotométrie. Les résultats obtenus avec des filtres neufs ont mis en évidence un écoulement préférentiel à travers le filtre placé en face de l'entrée d'air. Il a donc été choisi d'utiliser ce filtre pour fixer les coupons qui seront prélevés lors de l'échantillonnage.

2.3. Méthodologie d'analyse de la contamination microbiologique par coupons de média filtrant

La méthodologie employée consiste à découper des disques de 4 cm de diamètre de média filtrant neuf et de les fixer à la surface d'un des filtres installé dans le compartiment de reprise de la CTA (Figure 2 droite). Des tests préliminaires ont permis de caractériser l'écoulement de l'air à travers un échantillon de média filtrant sur lequel 4 coupons du même média ont été fixés, soit environ 6,7% de la surface de filtration recouverte par des coupons contre 1,5% lors de la mise en œuvre de la méthodologie sur le filtre à poches en conditions réelles. L'écoulement d'air à travers le média a été quantifié dans un banc d'essai du laboratoire en conditions nominales (i.e. pour la même vitesse moyenne de filtration que celle des filtres à poches en conditions réelles de fonctionnement) à l'aide de particules traceur de fluorescéine de diamètre optique 0,18 μm (atomisation d'une solution à 50 g.L⁻¹). Les quatre coupons ont été analysés par spectrophotométrie ainsi que quatre échantillons de média prélevés dans les zones périphériques (Figure 2 - droite). Les résultats ont confirmé tout d'abord que la présence des coupons n'augmente pas significativement la perte de charge du média filtrant. En revanche, les coupons modifient les conditions d'écoulement puisqu'une perte d'environ 50% en concentration massique des particules traceur a été observée.



Figure 2 : A gauche, coupon de média filtrant fixé à la surface d'un filtre à poches ; à droite, répartition zonale normée de l'écoulement dans un échantillon de média filtrant muni de quatre coupons.

Chaque mois, 3 coupons sont prélevés et subissent des analyses différentes :

1) Analyse par méthode culturale

Un coupon est placé dans 10 mL d'une solution d'extraction contenant $MgSO_4$ (0,01 M) sous agitation pendant 1h à 250 RPM. Deux séries de dilutions successives sont réalisées et étalées sur 5 milieux : (i) LB, R2A favorisant la croissance bactérienne, (ii) MEA, DG18, DRBC étant des milieux couramment utilisés dans la détermination de la contamination fongique de l'air.

Un second coupon est traité de la même façon mais avec une solution d'extraction $MgSO_4$ (0,01 M) et de Tween 20 (0,25 %). Le Tween 20 est une molécule tensioactive permettant d'améliorer l'extraction des particules captées dans le média filtrant. Les deux conditions d'extraction avec et sans utilisation du Tween 20 permettent de contrôler son influence sur l'extraction et la croissance des microorganismes.

Lorsque des colonies fongiques sont isolées sur les géloses après incubation, il est possible de réaliser une identification du genre par microscopie optique sur lame avec une coloration au bleu coton. Cela permet de colorer la paroi des hyphes et de mettre en évidence l'ornementation sporale. Si l'identification par microscopie ne permet pas de déterminer le genre, une extraction d'ADN est réalisée sur la colonie. Une PCR dirigée vers les régions ITS du génome est effectuée avant de procéder à un séquençage.

3) Analyse par biologie moléculaire

Un coupon est conservé à $-20^{\circ}C$. Il sera destiné aux analyses de biologie moléculaire (qPCR avec amorces ciblées pour certaines bactéries, moisissures et virus, et séquençage 16S et ITS) de détermination de la diversité microbienne et de détection des espèces impliquées dans les pathologies respiratoires.

3. RESULTATS

3.1. Pertes de charge moyennes mesurées dans les deux compartiments de la CTA

Le Tableau 1 présente l'évolution de la perte de charge moyenne des filtres dans les compartiments de soufflage et d'extraction entre le premier mois de la campagne de prélèvement et le 6^{ème} mois. L'acquisition des pertes de charge est enregistrée toutes les minutes sur un datalogger (fréquence 1/60 Hz). La perte de charge est relativement stable sur les six premiers mois d'analyse pour les deux compartiments. L'encrassement des filtres est modéré et n'a pour l'instant pas d'influence sur les pertes de charge mesurées, en particulier sur le compartiment de reprise. Les compartiments de soufflage et d'extraction sont exposés à des concentrations moyennes en particules de $11,3 \mu g/m^3$ (mesure via un moniteur en temps réel 1405 TEOM) et de $15,2$ particules/ m^3 pour le compartiment de soufflage et $6,6$ particules/ m^3 pour celui d'extraction (mesures via un compteur APS 3321TSI).

Tableau 1 : Evolution des pertes de charge moyennes des filtres à poches calculées le 1er mois et le 6^{ème} mois de la campagne de prélèvement (moyenne mensuelle \pm écart-type).

	1 ^{er} mois	6 ^{ème} mois
ΔP moyenne filtre soufflage (Pa)	$67 \pm 2,5$	$69 \pm 7,0$
ΔP moyenne filtre reprise (Pa)	$65 \pm 2,5$	$62 \pm 5,0$

3.2. Concentrations en microorganismes cultivables sur les filtres de reprise

La Figure 3 présente les résultats de cultures microbiologiques sur boîtes de Petri à partir des coupons échantillonnés sur le filtre de reprise de la CTA.

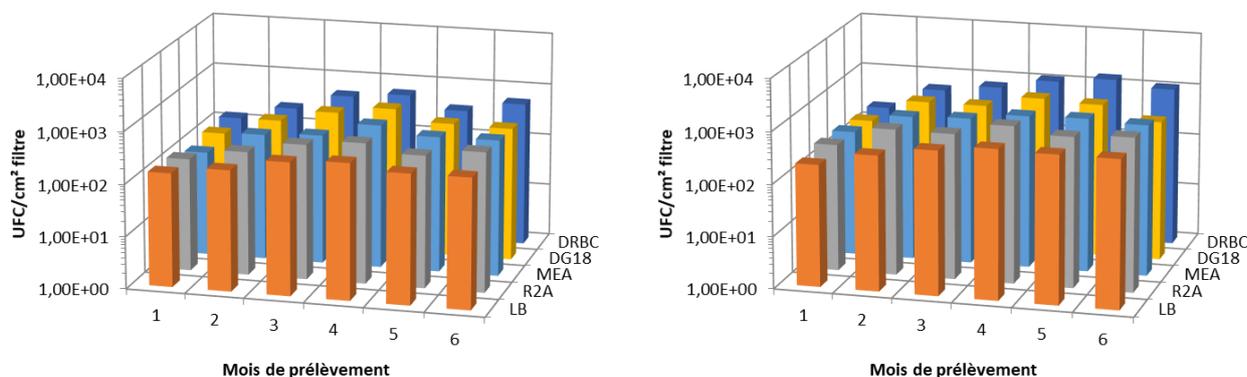


Figure 3 : Concentrations en microorganismes cultivables sur les coupons prélevés sur le filtre de reprise. À gauche extraction avec $MgSO_4$; à droite extraction avec $MgSO_4$ et Tween 20.

D'une façon générale, il n'y a pas de différence significative de croissance sur les différents milieux que ce soit pour les bactéries ou pour les moisissures. Le nombre d'UFC/cm² (Unité Formant Colonie) compté n'évolue que faiblement pour chaque mois de prélèvement, avec au minimum 9,2.10¹ UFC/cm² et au maximum 1,5.10³ UFC/cm². Après 4 mois d'analyse, les résultats sont cohérents avec ceux de (Gonzalez H., 2014) qui a mesuré après 6 mois d'étude sur un filtre G4 d'une CTA d'extraction d'air d'un immeuble de bureaux en région périurbaine Nantaise, des valeurs comprises entre 9,3.10² et 1,2.10³ UFC/cm² avec la même méthodologie de coupons. En comparant les résultats des extractions avec et sans Tween 20, on observe une quantité supérieure d'UFC par cm² de filtre avec la solution contenant du Tween 20. Il semble que son rôle de tensioactif permet de mieux extraire les microorganismes du coupon, et ce pour les 5 différents milieux. Le nombre d'UFC compté pour le deuxième mois d'analyse est significativement supérieur à celui du premier mois pour les 5 milieux de culture avec l'utilisation de Tween 20, à un niveau de confiance de 99% (test de comparaison de moyenne de Student). Il semble y avoir une stabilisation de la concentration microbienne sur les filtres après 4 à 5 mois d'étude. Les genres *Aspergillus*, *Cladosporium* et *Penicillium* ont été observés le plus fréquemment par microscopie optique, et les genres *Engyodontium*, *Sarocladium*, *Nectria* et *Ascochyta*, moins fréquemment rencontrés ont été identifiés par PCR. *Aspergillus*, *Cladosporium* et *Penicillium* sont les genres majoritairement retrouvés dans les analyses d'air intérieur (Luhung et al., 2018; Sautour et al., 2009; Shelton et al., 2002). Les analyses par PCR des colonies bactériennes ont permis notamment d'identifier *Micrococcus luteus*, *Parracoccus sp.*, *Rhodococcus sp.* et *Aeromonas sp.* Le genre *Micrococcus* est également couramment retrouvé dans l'air intérieur, faisant parti du microbiome cutané humain (Kookken et al., 2012; Luhung et al., 2018).

4. CONCLUSIONS

Une méthodologie permettant de qualifier la qualité microbiologique (bactérienne, fongique et virale) de l'air intérieur de bureaux basée sur l'utilisation de coupons de média filtrant fixés sur les filtres de reprise de CTA a été testée en conditions réelles pendant 6 mois. Des résultats préliminaires ont montré que la présence de coupons modifie les conditions initiales d'écoulement d'un filtre neuf conduisant à une efficacité d'échantillonnage de 50%. Les premiers mois de la campagne de mesure ont montré que l'encrassement des filtres est modéré, sans augmentation significative de la perte de charge dans les deux compartiments. L'analyse des coupons prélevés indique que la contamination microbiologique des filtres, après une augmentation, semble se stabiliser après 4 à 5 mois. L'utilisation d'un tensioactif dans la solution d'extraction permet d'améliorer la collecte microorganismes. Les genres *Aspergillus*, *Cladosporium* et *Penicillium* sont les plus représentés. Les coupons conservés à -20°C seront par la suite analysés avec des techniques de biologie moléculaire, afin d'investiguer la diversité microbienne non-cultivable.

5. REFERENCES

- Bekking, C., Yip, L., Groulx, N., Doggett, N., Finn, M., & Mubareka, S. (2019). Evaluation of bioaerosol samplers for the detection and quantification of influenza virus from artificial aerosols and influenza virus-infected ferrets. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 13(6), 564-573. <https://doi.org/10.1111/irv.12678>
- Bragoszewska, E., Palmowska, A., & Biedroń, I. (2020). Investigation of indoor air quality in the ventilated ice rink arena. *Atmospheric Pollution Research*, S1309104220300295. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2020.02.002>
- Brunekeef, B., & Forsberg, B. (2005). Epidemiological evidence of effects of coarse airborne particles on health. *European Respiratory Journal*, 26(2), 309-318. <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00001805>
- Ferguson, R. M. W., Garcia-Alcega, S., Coulon, F., Dumbrell, A. J., Whitby, C., & Colbeck, I. (2019). Bioaerosol biomonitoring : Sampling optimization for molecular microbial ecology. *Molecular Ecology Resources*, 19(3), 672-690. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13002>
- Gonzalez H., L. F. (2014). *Influence de la gestion des centrales de traitement d'air des réseaux de ventilation de bâtiments sur le développement d'aérosols microbiens. Thèse de doctorat en Génie des Procédés. Nantes, IMT Atlantique.*
- Joubert, A., Abd Ali, S. A. Z., Frossard, M., & Andrès, Y. (2021). Dust and microbial filtration performance of regular and antimicrobial HVAC filters in realistic conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(29), 39907-39919. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13330-w>
- Kookken, J. M., Fox, K. F., & Fox, A. (2012). Characterization of *Micrococcus* strains isolated from indoor air. *Molecular and Cellular Probes*, 26(1), 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2011.09.003>
- Lu, F., Xu, D., Cheng, Y., Dong, S., Guo, C., Jiang, X., & Zheng, X. (2015). Systematic review and meta-analysis of the adverse health effects of ambient PM2.5 and PM10 pollution in the Chinese population. *Environmental Research*, 136, 196-204. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.06.029>
- Luhung, I., Wu, Y., Xu, S., Yamamoto, N., Chang, V. W.-C., & Nazaroff, W. W. (2018). Exploring temporal patterns of bacterial and fungal DNA accumulation on a ventilation system filter for a Singapore university library. *PLOS ONE*, 13(7), e0200820. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200820>
- Qian, H., Miao, T., Liu, L., Zheng, X., Luo, D., & Li, Y. (2021). Indoor transmission of SARS-CoV-2. *Indoor Air*, 31(3), 639-645. <https://doi.org/10.1111/ina.12766>
- Sautour, M., Sixt, N., Dalle, F., L'Ollivier, C., Fourquenot, V., Calinon, C., Paul, K., Valvin, S., Maurel, A., Aho, S., Couillault, G., Cachia, C., Vagner, O., Cuisenier, B., Caillot, D., & Bonnin, A. (2009). Profiles and seasonal distribution of airborne fungi in indoor and outdoor environments at a French hospital. *Science of The Total Environment*, 407(12), 3766-3771. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.02.024>
- Shelton, B. G., Kirkland, K. H., Flanders, W. D., & Morris, G. K. (2002). Profiles of Airborne Fungi in Buildings and Outdoor Environments in the United States. *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.*, 68, 11.