

AEROTAPE : DETECTION EN TEMPS REEL DES POLLENS D'AMBROISIE PAR MICROSCOPIE OPTIQUE

S. Bonnefond¹, R. Bernard¹, Y. Pratt¹, D. Filippi¹, B. Guinot¹, A. Reynaud¹, D. Baisnée² et R. Sarda-Estève^{2,3}

¹OBERON SCIENCES SAS, 38190 Villard-Bonnot, France

²Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement, CEA-CNRS, 91190 Saint-Aubin, France

³Climate and Atmosphere Research Center, The Cyprus Institute, Aglantzia, 2121 Nicosia, Cyprus

*Courriel de l'orateur : sylvain.bonnefond@oberon.one

TITLE

AEROTAPE : REAL-TIME DETECTION OF AMBROSIA POLLEN BY OPTICAL MICROSCOPY

ABSTRACT

Due to global warming, pollen concentrations are expected to be higher with a longer pollen season, thereby intensifying the severity of symptoms caused by pollen-associated allergies. This problem particularly concerns invasive species such as ragweed (Lake, 2017). In this context, there is a real need to densify observation networks and geolocate pollen sources to study the dispersion of these invasive species, prevent symptoms of polyposis, with automatic instruments at reasonable costs which quickly identify the presence of these pollen grains. The current standardized method is the collection of pollen grains present in the air by impaction using a pollen trap. The collected samples undergo chemical treatment and are then analyzed under an optical microscope by a palynologist who quantifies the pollen grains. This palynological analysis, however, is a slow, laborious and expensive process. In this context, we sought to develop a complete and automated analytical chain of measurements, trainable for the recognition and counting of pollen grains, inspired by the current standard EN 16868-19. We used a new approach combining several analytical tools such as pollen collection, direct digital acquisition of images and pollen recognition by deep learning. Our device (Aerõtape) was designed to avoid the time spent by palynologists on delayed analyses, monitor pollen concentrations continuously, increase the number of data, and densify the number of observation sites. Our study focuses on the temporal monitoring of ragweed pollen concentrations, the data of which will be intercompared with those of a Hirst sensor in order to validate our methodology and evaluate the performance of the Aerõtape.

RESUME

En raison du réchauffement climatique, il est attendu que les concentrations de pollens soient plus élevées avec une saison pollinique plus longue, intensifiant par conséquent la gravité des symptômes causés par les allergies associées aux pollens. Cette problématique concerne particulièrement les espèces invasives comme l'ambrosie (Lake, 2017). Dans ce contexte, il existe un besoin réel de densifier les réseaux d'observation et géolocaliser les sources polliniques pour évaluer la propagation de ces espèces invasives, prévenir les symptômes de polypose, avec des instruments automatiques à coûts raisonnables qui identifient rapidement la présence de ces grains de pollen. La méthode standardisée et actuelle est la collecte de grains de pollens présents dans l'air par impaction à l'aide d'un piège pollinique. Les échantillons récoltés subissent un traitement chimique pour être ensuite analysés au microscope optique par un palynologue qui quantifie les grains de pollens. Cette analyse palynologique est cependant un processus lent, laborieux et coûteux. Dans ce contexte, nous avons cherché à développer une chaîne analytique complète et automatisée de mesures, entraînable pour la reconnaissance et le comptage des grains de pollens, inspirée de la norme actuelle EN 16868-19. Pour cela, nous avons utilisé une nouvelle approche combinant plusieurs outils analytiques comme la collecte des pollens, une acquisition numérique directe des images et la reconnaissance des pollens par apprentissage profond. Notre dispositif (Aerõtape) a été conçu pour éviter le temps passé par les palynologues sur les analyses en différé, suivre les concentrations de pollens en continu, augmenter le nombre de données, et densifier le nombre de sites d'observation. Notre étude se concentre sur le suivi temporel des concentrations de pollens d'ambrosie dont les données seront intercomparées avec celles d'un capteur Hirst afin de valider notre méthodologie et évaluer les performances de l'Aerõtape.

MOTS-CLES : pollens, ambrosie, instrumentation, temps réel / **KEYWORDS**: pollen, ambrosia, instrumentation, real-time

1. CONTEXTE SCIENTIFIQUE

Originaire d'Amérique du Nord, l'ambrosie à feuilles d'armoise (*Ambrosia Artemisiifolia*) est une plante herbacée, invasive et annuelle à pollinisation anémophile dont le pollen est particulièrement allergisant. Cette plante héliophile, rudérale et adventice colonise actuellement tous les types d'habitats ouverts : elle se développe sur les bords de routes, dans les cultures printanières et estivales, les friches agricoles, urbaines et périurbaines ou encore les berges de rivières. Sa floraison a lieu tardivement en été de mi-août à début octobre. Leurs pollens sont responsables de nombreuses allergies chez les personnes sensibles pouvant provoquer des rhinites, des conjonctivites et des trachéites sous des formes d'asthme assez graves. Un pied peut produire de 100 millions à 3 milliards de grains (17 – 29 µm) de pollen selon sa taille et il suffit de quelques grains par mètre cube d'air afin que les symptômes apparaissent : environ 6 à 12% de la population exposée est allergique aux pollens d'ambrosie (Charpin, 2020) avec une augmentation probable des cas, causée par le réchauffement climatique.

Le gouvernement a mis en place plusieurs dispositifs afin de lutter contre l'ambrosie et réduire les allergies associées. La loi du 26 janvier 2016, destinée à moderniser le système de santé, a introduit dans le code de la santé publique la notion « d'espèces nuisibles à la santé humaine » : Article L1338-1 à 5. Le décret n°2017-645 du 26 avril 2017 a mis en place une organisation de la lutte contre trois espèces d'ambrosie et il décrit les mesures de prévention et de lutte à mettre en œuvre sur l'ensemble du territoire. Au niveau départemental, des arrêtés préfectoraux ont également été pris afin de lutter contre l'ambrosie au contexte local selon des accords avec l'Agence Régionale de Santé (ARS) et le Conseil Départemental de l'Environnement et des Risques Sanitaires et Technologiques (CODERST).

La région Rhône-Alpes est la région de France la plus touchée par la diffusion de ces pollens. Selon une étude de 2016, approximativement les 2/3 de la population de cette région aurait été exposée plus de 20 jours à un Risque Allergique d'Exposition aux Pollens d'ambrosie (RAEP) supérieur ou égal à un niveau 3 au-delà duquel les personnes sensibles à ce pollen présentent les symptômes de la pollinose (Charpin, 2020). L'allergie à l'ambrosie représente donc en région Rhône-Alpes un enjeu majeur de santé publique par la présence importante de la plante dans la région, la forte proportion de personnes allergiques et les conséquences médico-économiques qu'elle peut engendrer : cela représente un coût annuel estimé entre 59 et 186 millions d'euros pour la santé publique (Charpin, 2020).

Aujourd'hui, le suivi du contenu pollinique dans l'air repose sur la mesure de la concentration du pollen. La méthode actuelle standardisée est la collecte des grains aéroportés par impaction à l'aide de pièges sporopolliniques de type Hirst (Hirst, 1952) ou Cour (Cour, 1974). Les échantillons récoltés subissent ensuite une coloration chimique afin que les pollens soient identifiés et quantifiés par un palynologue certifié. Cependant, cette analyse palynologique est un processus lent, laborieux et coûteux (Calleja, 2005). C'est dans ce contexte que nous avons cherché à développer une chaîne analytique complète et automatisée de mesures, entraînable pour la reconnaissance et le comptage des grains de pollens, inspirée de la norme actuelle EN 16868-2019.

L'Aerõtape est un capteur de (bio)aérosols, développé par ÖBERON SCIENCES, pour un suivi continu des concentrations de pollens : le capteur collecte et analyse à la fois les pollens par une acquisition des images assurée par un microscope optique. Le dispositif a été conçu pour éviter les contraintes de la mise en œuvre logistique associée à la méthode actuelle : il engendrera à long-terme un gain économique pour la surveillance et le suivi préventif des pollens.

2. MATERIELS ET METHODES

Dans cette section, nous décrivons le matériel et les méthodes utilisés pour le suivi continu des concentrations de pollens d'ambrosie sur le site d'observation de Beaurepaire (42.52°N, 2.65°E – 38270, Isère). Un Aerõtape est installé sur le toit du bâtiment de la mairie à côté d'un capteur actif et volumétrique de type Hirst pendant la période de fin juillet à début octobre 2022.

2.1. Détection et quantification des pollens d'Ambrosie : impaction volumétrique

La méthode Hirst (Hirst, 1952) est un piège volumétrique sporopollinique (Fig. 1) par impaction basé sur la collecte des grains de pollen aéroporté dans un volume d'air aspiré. Le dispositif est une pompe électrique montée sur une girouette : il aspire et prélève un volume d'air constant (débit : 10 L/min) à travers une buse de 14mm x 2mm orientée face aux vents dominants. Les grains de pollens sont précipités et piégés par impaction sur un ruban adhésif et transparent qui défile sur un tambour cylindrique à une vitesse de 2 mm/h. Le dispositif permet de collecter les pollens pendant une période de 7 jours. Le ruban adhésif est ensuite découpé en 7 segments égaux (48 mm x 14 mm) correspondant à un jour de la semaine. Chaque segment est placé sur une lame de microscope et les échantillons récoltés subissent une coloration chimique par fuchsine afin que les grains de pollens soient visibles et identifiés directement au microscope optique selon des caractères morphologiques par un palynologue certifié selon la norme EN 16868-19. Les pollens sont analysés et comptabilisés sur 3 lignes horizontales, *i.e.* 10% de la surface échantillonnée (48 mm x 14 mm) : les données obtenues sont des concentrations.

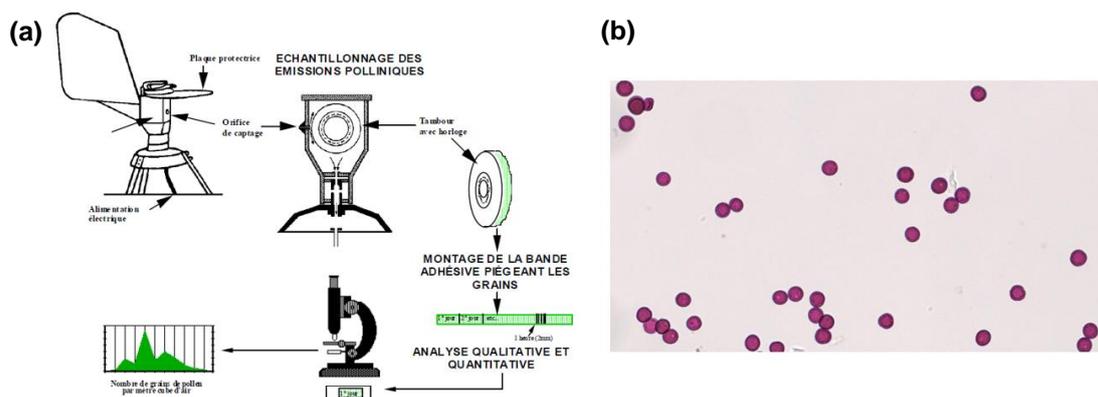


Figure 1. (a) Chaîne d'acquisition des capteurs volumétriques de type Hirst (Calleja, 2005) (b) avec une image de pollens d'ambrosie colorés

2.2. Détection et quantification des pollens d'ambrosie : Aerõtape®

L'Aerõtape® est à la fois un échantillonneur et un analyseur automatique (Fig. 2) connecté (IoT) pour un suivi continu des (bio)aérosols. Le dispositif collecte une diversité de microparticules atmosphériques variées de 800 nm à 200 µm : les pollens sont aspirés et prélevés sur un volume d'air constant par une pompe active (débit : 15 L/min) et précipités sur un ruban adhésif déroulant et transparent par impaction. Un microscope optique acquiert ensuite les images du dépôt de particules à travers un objectif x10 et une caméra CMOS. Les pollens sont détectés, identifiés et quantifiés par un algorithme d'intelligence artificielle (IA). Le ruban déroulant a un double intérêt : *i*) éviter une saturation des échantillons par une quantité élevée de microparticules prélevées, *ii*) augmenter la surface échantillonnée à analyser (pression d'observation). Les pollens sont éclairés par un anneau de LEDs blanches en éclairage diascopique rasant. Les images sont acquises toutes les 10 minutes après 5 minutes de pompage et 5 minutes de prétraitement, *i.e.* 6 images / heure. Elles sont ensuite envoyées sur un serveur dédié pour une analyse *a posteriori* par une IA capable de détecter et reconnaître les taxons. L'algorithme actuel est un réseau de neurones CNN (*Convolutional Neural Network*) Inception v3. Les données polliniques sont couplées avec des données météorologiques locales mesurées par une sonde météo fournie avec l'Aerõtape.

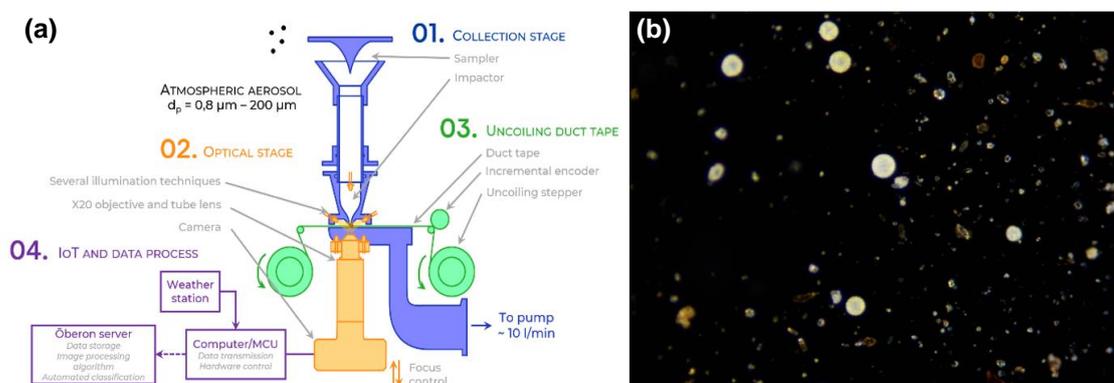


Figure 2. (a) Principe de fonctionnement de l'Aerõtape (AT) (b) avec image de pollens d'ambrosie en éclairage diascopique rasant issue du dispositif AT pendant le 29/08 de la saison 2022 à Beaurepaire

3. RESULTATS

Dans cette section, nous présentons les résultats sur les concentrations journalières de pollens d'ambrosie. Les résultats sont issus du dispositif Aerõtape (AT) de la saison 2022 et 2023 du 11/08 au 21/09 (42 jours) du site d'observation de Beaurepaire. A ce jour, les échantillons du Hirst sont en cours d'analyse.

La figure 3 présente le suivi temporel des concentrations journalières des pollens d'ambrosie pour la saison 2022 et 2023. Le dispositif AT a prélevé au total respectivement 604 et 1743 grains de pollen en 2022 et 2023 ce qui donne une concentration totale respective de 13 870 et 39 030 grains / m³ ainsi qu'une concentration journalière moyenne de 330 et 930 grains / m³. En 2022, un pic a été observé au mois d'août tandis que deux pics sont observés en 2023 du 11/08 au 25/08 et du 01/09 au 12/09 avec une baisse entre ces deux périodes

causée par des pluies. Le dispositif AT a prélevé une quantité élevée de pollens d'ambroisie en 2023 par rapport à la saison 2022 avec un ratio de 3.

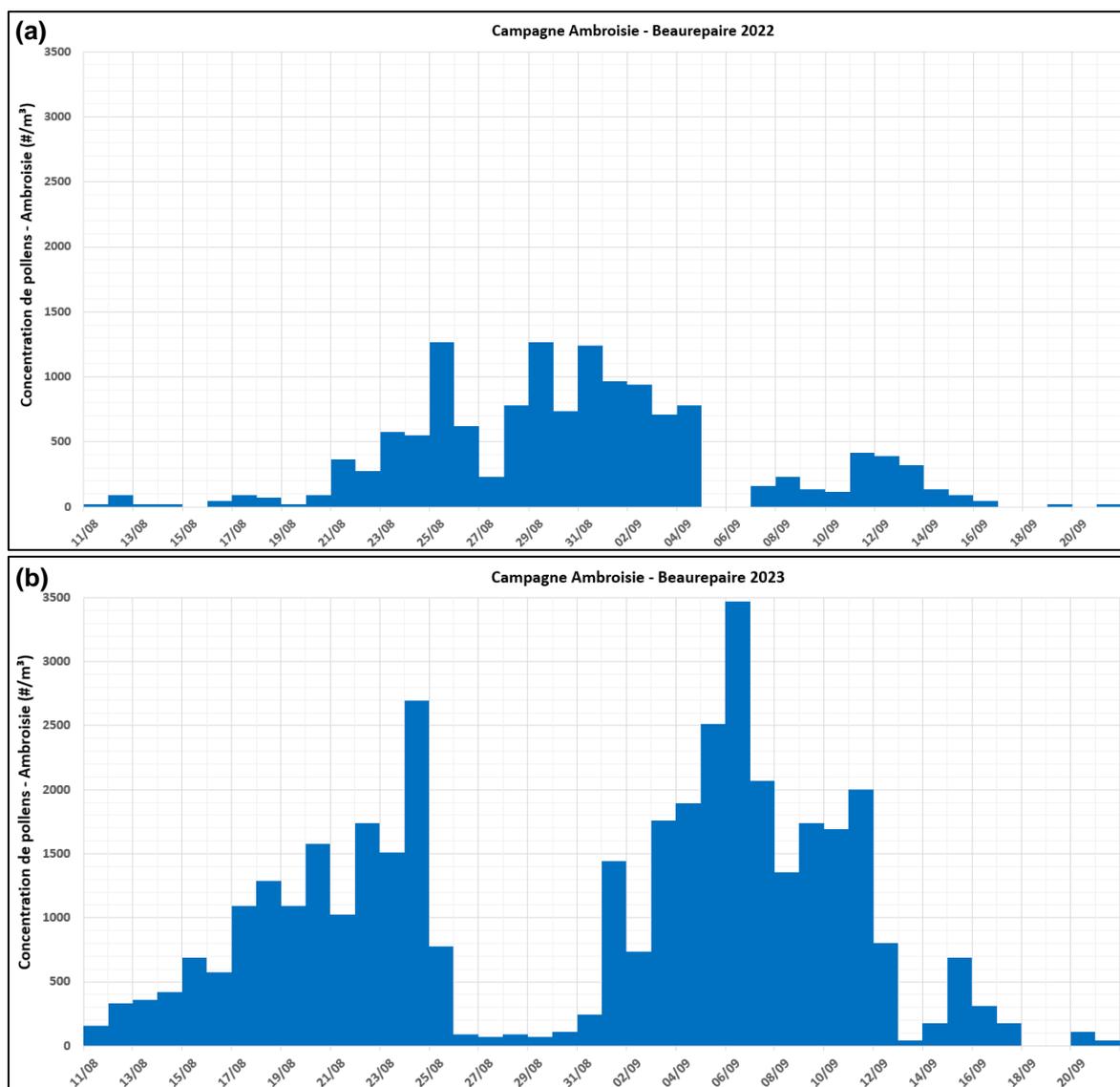


Figure 3. Suivi des concentrations journalières de pollens d'Ambroisie pendant les saisons (a) 2022 et (b) 2023 du 11/08 au 21/09

Les données AT seront intercomparées avec celles du Hirst – pour valider notre méthodologie et évaluer les performances de l'Aerôtape – dont les échantillons colorés sur lame sont en cours d'analyse par microscopie optique. En outre, ces données seront aussi soumises à une analyse intercomparative avec des données météorologiques fournies par la station de l'Aerôtape pour évaluer la variabilité saisonnière et interannuelle des pollens d'ambroisie. Ces intercomparaisons feront l'objet d'un travail présenté au congrès français sur les aérosols de 2024.

Lake, I.R., Jones, N.R., Agnew, M., Goodess, C.M., Giorgi, F., Hamaoui-Laguel, L., Semenov, M.A., Solomon, F., Storkey, J. and Vautard, Robert (2017) Climate change and future pollen allergy in Europe, *Environmental health perspectives*, 125, 385 - 391

Charpin, D., Desneux, N., Escobar-Gutiérrez, A., Fumanal, B., Polomé, P., Poncet, P., Sanchez, O. and Thibaudon, M. (2020), Impacts sanitaires et coûts associés à l'ambroisie à feuilles d'armoise en France, *Rapport d'expertise collective*.

Hirst, J. M. (1952) An automatic volumetric spore trap., *Ann. of Appl. Biol.*, 39, 257-265.

Cour, P. (1974) Nouvelles techniques de détection des flux et des retombées polliniques : étude de la sédimentation des pollens et des spores à la surface du sol., *Pollen & Spores*, 16, 103-141.

Calleja, M., Farrera, I., Almeras, T., Richard, P., Rossi, O., Vernier, D., Belmonte, J., Puigdemont, R. and Plaisant, I. (2005), *Météorologie des pollens dans l'air : étude intercomparative en région Languedoc-Roussillon, Rapport final. Etude DRASS Languedoc-Roussillon*, 2.