

**THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1**  
*sous le sceau de l'Université Bretagne Loire*

pour le grade de  
**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1**  
*Mention : Biologie*

**Ecole doctorale Biologie-Santé**

présentée par

**Victor Bandaly**

Préparée à l'unité de recherche INSERM U1085-IRSET  
Institut de Recherche sur la Santé, l'Environnement et le Travail et  
au GEPEA CNRS UMR 6144, IMT-Atlantique  
UFR Science

---

**Etude de la  
persistance de virus  
sur les filtres des  
centrales de  
traitement d'air :  
influence des  
paramètres de  
procédé et impact sur  
la santé**

**Thèse soutenue à IMT-Atlantique de  
Nantes**

**le 07 décembre 2017**

devant le jury composé de :

**Dominique COURAULT**

Directrice de recherche, INRA- Avignon / *rapporteur*

**Christophe GANTZER**

Professeur, Université de Lorraine / *rapporteur*

**Michel SAMSON**

Directeur de recherche, IRSET- Rennes / président  
du jury - *examineur*

**Pierre LE CANN**

Professeur, EHESP - Rennes / *directeur de thèse*

**Yves ANDRES**

Professeur, IMT-Atlantique de Nantes / *co-directeur  
de thèse*



ANNÉE 2017



**THÈSE**  
**UNIVERSITÉ DE RENNES 1**  
*sous le sceau de l'Université Bretagne Loire*  
**et ECOLE DES HAUTES ETUDES EN SANTE PUBLIQUE**

pour le grade de  
**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1**  
*Mention : Biologie*  
**Ecole doctorale Biologie-Santé**

présentée par  
**Victor Bandaly**

Préparée dans le cadre du Réseau Doctoral en Santé Publique  
animé par l'EHESP  
à l'unité de recherche INSERM U1085-IRSET  
Institut de Recherche sur la Santé, l'Environnement et le Travail  
et au GEPEA CNRS UMR 6144, IMT-Atlantique





# Remerciement

Le travail réalisé durant cette thèse est né suite à une collaboration entre l'IMT-Atlantique de Nantes et l'EHESP de Rennes. Je remercie les membres du personnel de ces organismes qui m'ont permis de mener à bien ce projet, pour leur accueil et leur gentillesse durant ces trois ans.

J'exprime ma profonde gratitude et mon respect à mon directeur de thèse Pierre LE CANN et mon co-directeur de thèse Yves ANDRES. J'ai particulièrement aimé les échanges toujours très intéressants et motivants et leur disponibilité qu'ils m'avaient accordée. J'ai apprécié leur rigueur, leur regard critique et les exigences rédactionnelles qui m'ont aidé à progresser.

Je remercie COURAULT Dominique, Directeur de recherche, INRA- Avignon, ainsi que Christophe GANTZER, Professeur, Université de Lorraine, pour avoir accepté le travail de rapporteur de ma thèse. Je remercie Michel SAMSON, Directeur de recherche, IRSET-Rennes pour avoir participé à ma thèse en tant que membre du jury.

Je remercie également Laurence LE COQ, Philippe DUQUENNE et Gwennola ERMEL pour avoir accepté d'être membres de mon CST et ainsi que pour leurs conseils, leurs suggestions et leurs échanges pour avancer dans ma thèse.

Tout le travail expérimental n'aurait pu se faire sans l'aide précieuse de l'équipe technique du DSEE de l'IMT-Atlantique et de l'IRSET. Je remercie Eric CHEVREL et Katell CHAILLOU de l'IMT-Atlantique pour leur aide lors des expériences et pour m'avoir formé à l'utilisation des différents appareils analytiques. Un grand merci à Anne GERARD, Arlette ROUXEL et Sylvie BINARD de l'IRSET pour la réalisation des manip de biologie moléculaire. Mes remerciements vont désormais à Dominique BRIAND et Ludivine SAHRAOUI, les assistantes administratives du DSEE, pour leur efficacité et leur aide.

Je voudrai remercier mes régulateurs d'insuline et de stress durant ces trois ans : Chantal, Mouna, Agustina, Nadine et Elias.

Ces 3 années de thèse ont été particulièrement agréables grâce aux autres doctorants et post-doctorants. Ainsi je remercie Rachid, Mouheb, Thibault, Ivan, Djihad, Safaa, Guillaume, Aurélien, Ana, Henrietta, Jenny...

Des grands mercis à mes amis et en particulier Mickael, Amélie, Edouard, Walid et Lara.  
Enfin je remercie affectueusement mes parents à l'étranger et mon frère pour votre amour qui équilibre ma vie, votre soutien moral et vos conseils tout au long de ma thèse.

A la fin, je remercie mon ange gardien « mon oncle HABIB »

## Résumé

La pollution de l'air est l'un des principaux problèmes de santé publique de notre siècle et surtout de l'air intérieur alors que nous passons environ 90% de notre temps dans des environnements fermés. Parmi les polluants les bioaérosols ont été peu étudiés. Cependant des études épidémiologiques ont déjà montré une relation entre les bioaérosols et la santé. Le but de cette thèse est d'étudier les virus respiratoires dans les milieux clos via les systèmes de ventilation. A l'issue d'un état de l'art des polluants de l'air, il est important de définir ceux nécessitant d'être traités, les systèmes de ventilation, les procédés de filtration par médias fibreux et les procédés de traitement pouvant être mis en œuvre. Les effets des bioaérosols viraux dans les environnements intérieurs sur la santé publique ont été discutés dans une revue bibliographique. Une méthodologie a été mise en œuvre pour étudier le comportement des virus dans une centrale de traitement de l'air (CTA). Les virus respiratoires, mengovirus (virus nu à ARN de la même famille que les rhinovirus responsables du rhume) et adénovirus (virus respiratoire nu à ADN), ont été choisis et étudiés dans un système expérimental miniature représentatif des systèmes de traitement d'air. La performance de filtration d'un filtre de CTA vis-à-vis des aérosols viraux a été évaluée avec une validation du système expérimental utilisé. Cette étude a montré la capacité des virus de passer à travers le filtre tout en restant infectieux. Peu de littérature existant sur le sujet, ce projet a permis d'ajouter de nouvelles données pertinentes quant à la persistance des virus respiratoires dans l'air intérieur et plus précisément au niveau des filtres dans les centrales de traitement d'air.

**Mots clés :** *Qualité de l'air intérieur, bioaérosols, filtre en fibre de verre - F7, CTA, mengovirus, adénovirus, caractérisation des aérosols viraux*



## **Abstract**

Air pollution is one of the major public health problems of our century and especially of indoor air as we spend about 90% of our time in closed environments. Among pollutants bioaerosols have been poorly studied. However, epidemiological studies have already shown a relationship between bioaerosols and human health. The aim of this PhD work is to learn about respiratory viruses in closed environments via ventilation systems in order to study indoor air quality. At the end of state of the art of air pollutants, it is important to define those present in the air that need to be treated, ventilation systems, filtration processes by fibrous media and the processing methods being able to be implemented. The effects of viral bioaerosols on public health in indoor environments were discussed and drafted in a bibliographic review. The methodology of the study was to assess the fate of respiratory viruses, mengoviruses and adenoviruses, in a miniature experimental system similar to air treatment systems used in closed environments. The experimental system used was validated and the filter performance against viral aerosols was investigated. This study presented originality for the characterization and the fate of two non-enveloped respiratory viruses, mengovirus (RNA) and adenovirus (DNA), in indoor environments and their fate on fiber glass filter. This study showed the ability of viruses to pass through the filter and to remain infectious upstream and downstream the filter. There is scarce literature on this subject, and this project allowed us to add new relevant data on the persistence of respiratory viruses in indoor air and more precisely at the level of filters in air handling units.

**Key words:** *Indoor air quality, bioaerosols, Fiberglass filter, air handling unit, mengovirus, adenovirus, characterization of viral aerosols*



# Production scientifique

## **Publication dans une revue internationale avec comité de lecture**

Bandaly V, Joubert A, Le Cann P, Andres Y (2017). The Fate of Mengovirus on Fiberglass Filter of Air Handling Units. Food and Environmental Virology (in press; DOI: 10.1007/s12560-017-9310-8)

## **Publication soumise dans une revue internationale avec comité de lecture**

Bandaly V, Joubert A, Andres Y, Le Cann P (2017). Adenovirus behavior in air handling unit fiberglass filters. Environmental Science and Pollution Research

Bandaly V, Andres Y, Le Cann P (2017). Review of indoor environments viral bioaerosols and public health effects. International Journal of Occupational and Environmental Health

## **Communication avec actes dans un congrès international ou national**

Bandaly V, Le Cann P, Andres Y. Respiratory viruses' behaviours on filters of air handling units. Healthy Building 2017 – Lublin (Pologne). 2-5 juillet 2017. (Présentation Oral)

Bandaly V, Le Cann P, Andres Y. Characterization and fate of viral bioaerosols on filters of air handling units. Meeting 10- Bioaerosols (Aerosol Society Focus Meeting) – Bristol (Angleterre). 8 juin 2017. (Présentation Oral)

Bandaly V, Le Cann P, Andres Y. Respiratory viruses' fate on filters of air handling units. 8èmes rencontres scientifiques- EHESP 2017. Rennes (France). 14-15 mars 2017. (Présentation Oral)

Bandaly V, Le Cann P, Andres Y. The persistence of the respiratory viruses on filters of air handling units. Indoor Air 2016, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate. Ghent (Belgique). 4-8 July 2016. (Short presentation + poster)

Bandaly V, Le Cann P, Andres Y. The fate and persistence of respiratory viruses on filters of air handling units. 8èmes rencontres scientifiques- EHESP 2016. Paris (France). 22-23 mars 2016. (Poster)

Bandaly V, Le Cann P, Andres Y. Virus fate in air handling units : A laboratory study.  
5ème édition de la Journée des Jeunes Chercheurs– Rennes (France) 1 décembre 2016.  
(Présentation Oral)

Bandaly V, Le Cann P, Andres Y. Filters of air handling units and fate of mengovirus.  
4ème Journée des Jeunes Chercheurs (IRSET) – Rennes (France) 8 décembre 2015. (Poster)

## Table des matières

Introduction générale.....	11
Chapitre 1 : Introduction bibliographique .....	13
Introduction .....	13
I. La pollution atmosphérique des mégapoles .....	14
II. La qualité de l'air intérieur .....	16
III. Activités intérieures .....	21
IV. Le système de ventilation et les centrales de traitement d'airs.....	23
i. Ventilation naturelle .....	23
ii. Ventilation mécanique contrôlée .....	24
iii. Les centrales de Traitement d'Air (CTA).....	25
iv. Recyclage de l'air.....	26
V. Les médias fibreux commercialisés .....	26
i. Les mécanismes de filtration et la performance du filtre .....	27
ii. La performance des médias fibreux.....	28
iii. Classification des Filtres .....	29
VI. Les aérosols .....	32
i. Taille et forme des aérosols .....	32
ii. Distribution granulométrique .....	33
iii. Origine des aérosols .....	35
iv. Caractéristiques et phénomènes liées aux aérosols.....	36
v. Aérosols et qualité d'air intérieur .....	37
VII. Les bioaérosols et les maladies respiratoires .....	38
i. Bioaérosols et classification .....	38
ii. Les bioaérosols viraux et les infections respiratoires .....	38
iii. Les virus respiratoires .....	40
iv. Mode de transmission des virus respiratoires .....	42
v. Rôle des HVAC dans la propagation des particules virales.....	44
VIII. Les conditions de persistance des virus respiratoires .....	46
i. Effet de la température et l'humidité relative .....	47
ii. Effet de la surface et l'Ultra-violet (UV).....	49
iii. Effet biologique .....	51

IX. Coût et contexte en santé publique .....	51
X. Conclusion.....	52
Les objectifs.....	54
Chapitre 2 : Effet des bioaérosols viraux dans les environnements intérieurs sur la santé publique (Revue bibliographique).....	55
Chapitre 3 : Les démarches scientifiques .....	82
I. Description et validation du système expérimental: .....	83
i. Nébuliseur médical (Omron C29 – CompAir pro).....	84
II. Virus et support cellulaire .....	85
III. Extraction des virus du filtre .....	86
IV. Mesure de l'aérosol .....	87
i. Biosampler SKC Inc .....	87
ii. Electrical Low Pressure Impactor (ELPI™) .....	88
iii. Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS™) .....	89
V. Méthode de détection quantitative et qualitative des virus .....	90
i. Réaction en chaîne par polymérase en temps réel (PCR quantitative).....	90
ii. Test « Tissue Culture Infective Dose 50» (TCID <sub>50</sub> ).....	93
iii. Autres techniques de détection de l'apoptose .....	94
VI. Normalisation des résultats.....	96
Chapitre 4 : Validation du système expérimental et étude du devenir du mengovirus sur les filtres F7 dans les CTA.....	97
Chapitre 5 : Comportement et caractérisation des adénovirus sur les filtres F7 dans les centrales de traitement de l'air .....	108
Conclusions générales et Perspectives .....	123
Bibliographie .....	130

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : Différents types de polluants avec différents types d'émissions (Jones, 1999) ..	17
Tableau 2: Nombre d'heures de travail par jour, par semaine dans différents pays (Export Entreprises SA, 2014) ( <a href="http://www.planet-expert.com/fr/pays">http://www.planet-expert.com/fr/pays</a> ) .....	22
Tableau 3 : les différents filtres, les médias et leurs applications (Bailly, 2001; "EN779:2012" , "EN1822 : 2009") .....	31
Tableau 4: Origines des particules PM 2,5 et PM 10 dans l'air .....	36
Tableau 5: Concentration et granulométrie des particules émises par les voies respiratoires (Fabian et al., 2008; Morawska, 2006; Tang et al., 2006) .....	43
Tableau 6: Estimation de l'inactivation du virus influenza en fonction de la température et RH (adapté de (Weber and Stilianakis, 2008)).....	48
Tableau 7: Temps de conservation du pouvoir infectieux virale sur différent support.....	49
Tableau 8: Taux d'inactivation des virus sur les surfaces adapté de Gerba, (2013) .....	50
Tableau 9 : Caractéristiques de mengovirus et adénovirus .....	127

## **Liste des schémas**

Schéma 1 : Illustration descriptif du cycle de vie des (bio)aérosols .....	53
Schéma 2: Illustration des démarches scientifiques utilisées durant ce travail.....	82

## **Liste des figures**

Figure 1: Différents types de microorganismes présents dans l'environnement extérieur et intérieur (adapté de Burge, 1990; Jones, 1999; Kalogerakis et al., 2005; Kampa & Castanas, 2008) .....	18
Figure 2 : Effets des polluants chimiques sur la santé de l'homme (adapté de (Kampa and Castanas, 2008)).....	20
Figure 3 : Sens de l'air en fonction de la pression (a) et la température (b) .....	24
Figure 4 : La ventilation à simple flux (a) et à double flux (b) .....	24
Figure 5: Description de fonctionnement de la centrale de traitement d'air (Bailly, 2001)....	25
Figure 6: Filtre F7 (EN779:2012 ) fibre de verre, observation des fibres au MEB .....	27
Figure 7: Les 5 mécanismes de filtration .....	28
Figure 8: Courbes d'efficacité des quatre phénomènes de filtration (Le Coq, 2006) .....	29
Figure 9: Les trois grandes familles de filtres ("EN779:2012", "EN1822 : 2009").....	30
Figure 10: Taille d'aérosol et leurs propriétés adapté de Lazaridis and Colbeck, (2013) .....	33

Figure 11: Différentes granulométries des particules dans l'air.....	35
Figure 12: Caractéristiques des aérosols .....	38
Figure 13: Différent types de virus avec différents types d'infections (adapté de (Segondy, 2007) .....	39
Figure 14: Répartitions des virus respiratoires selon les saisons (adapté de Kesson, 2007; Treanor and Falsey, 1999)) .....	40
Figure 15 : Description de quelques virus respiratoires .....	41
Figure 16: Mode de transmission des virus grippaux .....	42
Figure 17: Granulométrie des particules expulsées de la sphère oro-pharyngée .....	43
Figure 18: Rôle de la ventilation et les centrales de traitements d'air à propagation des particules virales .....	44
Figure 19: Influence de différents types de ventilations sur le risque de transmission du virus influenza.....	45
Figure 20: Facteurs généraux affectant la persistance du virus dans l'environnement .....	46
Figure 21: l'effet de la température sur la persistance et l'inactivation des virus.....	48
Figure 22 : Description du dispositif expérimental.....	83
Figure 23 : Description du nébuliseur médical (Omron C29- CompAir pro) adapté du ("Omron NE-C29-E Manuals,") .....	84
Figure 24 : La caractérisation des aérosols formés par Omron C29 – CompAir pro à l'aide d'un impacteur en cascade adapté du "Omron NE-C29-E Manuals," .....	85
Figure 25 : La multiplication virale du mengovirus et de l'adénovirus .....	86
Figure 26 : Extraction des virus du filtre et traitement par chloroforme.....	87
Figure 27 : Schéma descriptif du BioSampler (SKC inc.) adapté de Lin et al., (1999).....	88
Figure 28 : Description de l'ELPI adapté de <i>www.dekati.com</i> .....	89
Figure 29 : Description du SMPS adapté de Guha et al., (2012) .....	90
Figure 30 : Description du fonctionnement de la technologie TaqMan.....	92
Figure 31 : Description du fonctionnement de la QPCR en SYBR Green.....	93
Figure 32 : Validation du système par la fluorescéine (courbe d'étalonnage + bilan massique) .....	97

## Nomenclature

### Lettres Grecques

		Unités
$\tau$	temps de relaxation	(s)

### Lettres latines

B	Mobilité dynamique	(m)
Ct	Cycle seuil	(-)
d	Distance	(m)
D	Coefficient de diffusion	(m <sup>2</sup> . s <sup>-1</sup> )
dp	Diamètre des particules	(m)
S	Surface	(m <sup>2</sup> )
T	Température	(°C)
t	Temps	(h)
v	Vitesse frontale de filtration	(m. s <sup>-1</sup> )
V	volume	(m <sup>3</sup> )
Vl	Vitesse limite	(m. s <sup>-1</sup> )
$\Delta P$	Perte de charge du milieu poreux	(Pa)

### Acronymes

ADEME	Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADV	<i>Adenoviridae</i>
AFSSET	Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail
ANAH	Agence nationale d'amélioration de l'habitat
ANSES	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ARN	Acide ribonucléique
Bcl-2	B-cel lymphoma 2
BGM	Buffalo african green monkey
CDC	Centers for disease control and prevention

CFC	Chlorofluorocarbone
CMV	CytomégaloVirus
CNC	Compteur à noyaux de condensation
COV	Composés organiques volatiles
CP	Coarse particules
CSTB	Centre scientifique et technique du bâtiment
CTA	Centrale de traitement de l'air
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole
DB	Double brin
DIF	Immunofluorescence directe
DMA	Analyseur différentiel de mobilité électrique
EBV	Virus d'Epstein-Barr
EIA	Test immuno enzymatique (Enzyme ImmunoAssay)
ELISA	Enzyme-linked immuno sorbent assay (Test immuno enzymatique sur phase solide)
ELPI	Electric allow pressure impactor
FRET	Fluorescence resonance energy transfer
H1N1	Virus Influenza A, type H1N1
H5N1	Virus Influenza A, type H5N1
HBV	Virus de l'hépatite B
HEAL	Health and environment alliance
HEK	Human embryonic kidney
HHV	Human Herpesvirus
HIV	Virus de l'immunodéficience humaine
HPV	virus du papillome humain
HSV	Virus herpes simplex
HVAC	Heating, ventilation and air-conditioning
IBR	Infectious bovine rhinotracheitis virus
IF	Immunofluorescence
Log	Logarithme
MERS-COV	Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient
MPCO	Maladie pulmonaire chronique obstructive
MPI	Multi polluant index

NDV	Newcastle disease virus
OMS	Organisation mondiale de la santé
OQAI	Observatoire de la qualité de l'air intérieur
PARP	Poly ADP-ribose polymérase
PCR	Amplification en chaîne par polymérase (Polymerase chain reaction)
pH	Potentiel hydrogène
PIV	Parainfluenza virus
PFU	Plaque-forming unit
PM	Particulate matter
PS	Phosphatidyl sérines
QAI	Qualité de l'air intérieur
q-PCR	Polymerase chain reaction quantitative
RH	Humidité relative
RLV	Rausher leukemia virus
RSV	Virus du sarcome de rous
RT-PCR	Real-time reverse transcription polymerase chain reaction
SB	Simple brin
SBS	Sick building syndrome
SMPS	Scanning mobility particle sizer
SRAS	Syndrome respiratoire aigu sévère
TCID <sub>50</sub>	Tissue Culture Infective Dose 50
TSP	Particules totales en suspension
UE	Union européenne
UFC	Unité formant colonie
UG	Unité génomique
URI	Infection des voies respiratoires supérieures
USA	États-Unis d'Amérique
UV	Ultra violet
VEE	Virus de l'encéphalite équine du Vénézuéla
VRI	Infections respiratoires virales
VRS	Virus respiratoire syncytial
VSV	Vesicular stomatitis virus

VZV

Virus varicelle-zona

WHO

World health organization

## *Introduction générale*

---





## Introduction générale

La qualité de l'air intérieur dans les environnements clos est un déterminant important de santé publique. Il est, en effet, indispensable de connaître les effets des polluants présents dans ces milieux fermés sur la santé. Parmi les polluants atmosphériques, les particules associées à des composés d'origine biologique comme les virus, moisissures, bactéries, endotoxines... sont nommées des bioaérosols. Ce sont des particules ubiquistes, omniprésentes, très variables en taille, en quantité et en composition, d'origine naturelle ou artificielle. Les bioaérosols peuvent être pathogènes ou servir de vecteur de transport à la dispersion de pathogènes. Ils peuvent être responsables de pathologies respiratoires. Avec l'évolution des modes de vie, l'ensemble de la population passe de plus en plus de temps dans les environnements intérieurs, ce qui augmente la durée d'exposition à la pollution intérieure. Un adulte passe de 80 à 90 % de son temps dans les espaces clos alors que ce pourcentage augmente jusqu'à 97% pour les personnes âgées et les très jeunes enfants. En outre, comme les effets potentiels des bioaérosols sur la santé sont très diversifiés, y compris les effets toxiques aigus, les allergies, les infections et le cancer, il convient de s'y intéresser plus particulièrement.

L'efficacité opérationnelle d'un système de ventilation dépend autant de l'installation correcte que de la performance de l'équipement. Une conception incorrecte et une mauvaise installation du système de climatisation ventilation HVAC (heating, ventilation and air-conditioning) ont des répercussions négatives sur le confort personnel. Bien qu'il soit difficile de mesurer la gravité des problèmes associés à la qualité de l'air intérieur, les experts en sciences du bâtiment et la plupart des spécialistes de la qualité de l'air intérieur estiment que les bâtiments standards sont autant susceptibles d'avoir des problèmes que ceux qui sont à basse consommation énergétique. Au cours des différentes études de qualité de l'air, il a été constaté que les bioaérosols contribuent à hauteur d'environ 5 à 34% de la pollution de l'air intérieur. La maison, les bureaux et les gymnases doivent être un lieu de confort et non de danger, une habitation saine et sans risque est un facteur fondamental pour la santé et le bien-être de ses occupants. La santé est fortement liée à l'exposition de l'homme à son milieu. L'étude de la qualité de l'environnement clos est devenue une thématique importante dans beaucoup de pays depuis une trentaine d'années. L'exposition à des faibles doses, de façon chronique, sur une grande durée est soupçonnée d'être responsable de l'augmentation des maladies cardiovasculaires, des cancers et de l'asthme. Garantir une qualité de l'environnement intérieur à haut niveau est donc primordial pour préserver la santé des occupants.

Ainsi, pour répondre aux problématiques des bioaérosols dans le milieu intérieur et en particulier du comportement des virus respiratoires dans les centrales de traitement d'air, cette thèse a été menée en 6 parties :

- l'état de l'art de la pollution au niveau de la mégalopole jusqu'au milieu intérieur
- l'effet des bioaérosols viraux dans les environnements intérieurs sur la santé publique
- l'établissement de la méthodologie générale de l'étude
- la validation du système expérimental et l'étude du devenir du mengovirus sur les filtres dans les centrales de traitement s'air
- Le comportement et la caractérisation des adénovirus sur les filtres dans les centrales de traitement de l'air.
- Une discussion sur l'effet des caractéristiques et du type du virus respiratoire et les effets des paramètres expérimentaux sur le devenir des virus dans les CTA et diverses perspectives afin d'étudier l'impact des bioaérosols viraux dans les environnements intérieurs sur la santé humaine.

## ***Chapitre 1 : Introduction bibliographique***

---



# **Chapitre 1 : Introduction bibliographique**

## **Introduction**

De l'échelle de la mégalopole, à l'échelle locale jusqu'à l'échelle individuelle, les effets de la pollution de l'air se manifestent à tous les niveaux. La qualité de l'air urbain et la pollution intérieure peuvent entraîner des problèmes pour la santé humaine, sujets préoccupants pour les autorités sanitaires. En tant que contaminants, les bioaérosols, qu'ils soient présents dans l'environnement extérieur ou intérieur, contiennent différents types de microorganismes tels que les virus, les bactéries et les moisissures. En effet, dans les pays industrialisés, les gens passent 90% de leur temps dans des espaces clos ou semi-clos tels que la maison, le bureau, les centres commerciaux, les gymnases et le transport. Ce chapitre se concentre sur les bioaérosols et plus précisément sur les aérosols des virus responsables de pathologies respiratoires. Les virus représentent un réel problème de santé publique en raison de leur forte contagiosité. Ces virus peuvent persister dans les aérosols sous différentes conditions en fonction des variations de la température, l'humidité relative etc.... De nombreux bâtiments créent un climat artificiel en utilisant des systèmes de chauffage, de ventilation et de climatisation pour réduire la concentration des particules venant de l'air extérieur comme celles présentes dans l'air intérieur. Certaines études ont révélé qu'un système HVAC (heating, ventilation and air-conditioning) peut être une source de contamination de l'air intérieur en raison d'un dysfonctionnement (Goyal et al., 2011). Ce chapitre présente des études publiées sur le temps passé dans des environnements fermés et le risque de contamination avec des bioaérosols viraux. En outre, ces virus respiratoires sont associés directement et indirectement à la qualité de vie avec un impact majeur sur la morbidité, les problèmes de santé, la perte de productivité, la perte de temps au travail ou à l'école et le coût des soins médicaux. La dynamique et la caractéristique des bioaérosols intérieurs sont un sujet important à discuter et insuffisamment investigué. Afin d'étudier la qualité de l'air intérieur (QAI), il est important de définir dans ce chapitre les polluants présents dans l'air nécessitant d'être traités, les systèmes de ventilation possibles ainsi que les procédés de traitement pouvant être mis en œuvre.

## **I. La pollution atmosphérique des mégapoles**

La pollution atmosphérique des mégapoles est un sujet majeur qui préoccupe les autorités politiques, économiques et sanitaires. Il est possible de distinguer deux types de ville selon leur activité humaine : les villes industrialisées et les villes non industrialisées (Fenger, 1999). La qualité d'air dans les villes est le résultat de l'interaction entre les conditions de l'environnement naturel et les activités humaines (Mayer, 1999). Après la deuxième guerre mondiale, la pollution atmosphérique a augmenté proportionnellement à la population et à l'activité humaine (construction, évolution au niveau mécanique, énergétique et scientifique). En 50 ans, la population mondiale a doublé, et le nombre des citadins a augmenté d'un facteur quatre avec une augmentation d'un facteur cinq de la consommation d'énergie (Baklanov et al., 2016). Le nombre de véhicules à 4 ou 2 roues a augmenté d'un facteur 10 en 50 ans. La production industrielle augmente aussi d'un facteur 10. Ces chiffres montrent l'augmentation des activités humaines et de façon corrélée de la pollution atmosphérique urbaine due aux transports, à la production de l'énergie et aux activités industrielles (Fenger, 1999). L'Organisation des Nations Unies estime que la population urbaine atteindra 8,1 milliards d'habitants dans les villes en 2030. Il est possible de distinguer aussi certains polluants qui sont plus concentrés dans les villes non-industrialisées que dans les villes industrialisées (Mayer, 1999).

Un nouveau problème aussi important s'ajoute au problème de pollution atmosphérique, c'est la pollution de l'air intérieur causée par différentes sources comme par exemple les utilisations de la biomasse pour les systèmes de chauffage et la cuisine. Ces combustions produisent des particules en quantités supérieures aux normes préconisées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et peuvent nuire à la santé (Fenger, 2009).

La pollution de l'air est reliée à plusieurs problèmes de santé pour l'homme et à des dommages de matériels (changement de climat, les pluies acides ...). La pollution atmosphérique urbaine a un impact sur la santé humaine, les matériaux, la végétation et la visibilité. Par exemple, le dioxyde de soufre, l'oxyde d'azote, le protoxyde d'azote et le chlorofluorocarbone (CFC) sont présents dans l'atmosphère polluée et sont responsables de pluies acides (Fenger, 2009).

Dans l'air, il est possible de distinguer deux groupes de polluants: les polluants majeurs de l'air (dioxyde de soufre, dioxyde d'azote, monoxyde de carbone...) et les polluants aléatoires (les agents chimiques, physiques et biologiques) (Fenger, 1999). Ces molécules et particules peuvent être détectées ou pas selon leurs concentrations et différents caractéristiques (Fenger, 2009). Les « Particulate Matter » sont connus comme la pollution de particules ou PM,

qui sont un mélange complexe de particules extrêmement petites définies à différentes tailles. En général, les particules sont regroupées dans 3 catégories suivant leur granulométrie. Les particules ultrafines de diamètre inférieur à 1µm qui sont des particules chimiques formées ou condensées des vapeurs, les particules fines présentant un diamètre de 2.5µm et les particules grosses qui sont d'origine naturelle : poussières, pollens, spores, gouttelettes d'eau. Les particules ultrafines et fines sont les plus dangereuses car elles se déposent dans les alvéoles pulmonaires et ont un impact important sur la santé (Fenger, 2009, 1999). Des études épidémiologiques récentes ont montré l'association entre l'augmentation de l'exposition chronique à l'ozone et aux particules fines (PM 2.5) et l'augmentation de la mortalité et des admissions hospitalières liées aux maladies cardio-vasculaires et respiratoires. Par exemple, l'ozone est responsable de 21 000 admissions hospitalières pour causes respiratoires (en 2000 pour 25 villes américaines) et les PM 2.5 sont responsables de 348 000 décès prématurés et 100 000 admissions hospitalière respiratoires et cardio-vasculaires (Pascal et al., 2013).

C'est pourquoi des directives européennes sur la qualité d'air ont été mises en place pour limiter les particules fines par exemple le dioxyde de soufre pour protéger la santé des populations mais aussi l'environnement (Fenger, 2009). Il est possible de citer quelques projets pour améliorer la qualité de l'air :

- La nouvelle approche MPI (multi polluant index) est un concept simple pour évaluer l'émission atmosphérique et la qualité d'air dans les grandes villes (Gurjar et al., 2008).
- Le projet Aphekom a pour objet d'établir des données claires sur les effets de l'air pollué sur la santé en l'Europe (Pascal et al., 2013).
- Le programme « Air new Clean » pour l'Europe qui a pour objectif de veiller sur des objectifs existants à court terme et définir des nouveaux objectifs de qualité de l'air pour la période allant jusqu'à 2030. Ce programme propose une révision stricte pour les émissions des six principaux polluants (CO, SO<sub>2</sub>, PAH-BaP, NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub> et PM) (Guerreiro et al., 2014).

L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que la pollution de l'air est responsable de 3 millions de morts par an dans le monde (WHO, 2016). Les émissions de polluants dans l'atmosphère dues aux centrales électriques au charbon seraient responsables de 18 200 décès prématurés par an et le coût lié à la santé est estimé à 42.8 milliards d'euros d'où l'intervention des directives européennes pour maintenir une bonne qualité de l'air (The Lancet, 2013). Par exemple : avec les améliorations demandées à propos de l'ozone et les PM dans certains pays européens, il est possible d'estimer un gain de 31 milliards d'euros par année (bénéfice de 191€ à 397 € par personne et par an). Non seulement ces mesures sauvent des vies,

mais elles diminuent aussi l'absentéisme et favorisent une bonne qualité de vie (Pascal et al., 2013). L'étude effectuée par « Health and Environment Alliance » (HEAL) montre que les émissions des polluants et plus précisément la combustion du charbon dans les pays de l'Union Européenne (UE) sont responsables de 18200 morts par an avec un coût estimé entre 15.5 à 42.8 milliards Euros (Máca and Melichar, 2016).

En ce qui concerne les maladies virales, l'émergence du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) en 2002 à Hong Kong, la peur d'une pandémie de grippe hautement pathogène et la récente épidémie du virus Ebola en Guinée demeurent de sérieuses menaces pour la santé humaine et soulèvent la question de la transmission virale dans les espaces confinés. Au cours des 15 dernières années, différentes épidémies causées par ces maladies respiratoires peuvent être distinguées. 8096 infections et 774 décès ont été signalés entre novembre 2002 et décembre 2003 pour le SRAS en Chine. 1575 cas d'infection à MERS-COV, dont 404 décès, ont été signalés le 20 mars 2015 avec la majorité des cas en Arabie Saoudite. 571 infections de la grippe aviaire A, dont 212 décès, ont été confirmées le 23 février 2015 en provenance de Chine, de Taiwan et de Malaisie (Suwantarat and Apisarnthanarak, 2015). Enfin, l'épidémie causée par le virus Ebola, impliquant 28 616 cas et dont 11 310 morts, a été signalée en Guinée, au Libéria et en Sierra Leone le 26 mai 2016 par OMS ("Ebola Situation Report - 30 March 2016 | Ebola,").

Dans de nombreuses études épidémiologiques axées sur les maladies respiratoires, la mortalité et la morbidité se révèlent être le résultat d'une exposition à court et à long terme à la pollution atmosphérique.

## **II. La qualité de l'air intérieur**

Autant la pollution de l'air extérieur est un sujet important à analyser et à traiter, la pollution de l'air intérieur est aussi une nouvelle préoccupation importante pour la santé publique. La pollution intérieure concerne les milieux clos comme les habitations, les lieux de travail, les transports et les lieux de loisir etc... Dans ces milieux confinés, il est possible de trouver de nombreuses sources de polluants plus ou moins toxiques pouvant entraîner des effets délétères sur la santé à plus ou moins long terme. On distingue dans les milieux clos différents types de polluants avec différentes sources d'émission (Tableau 1).

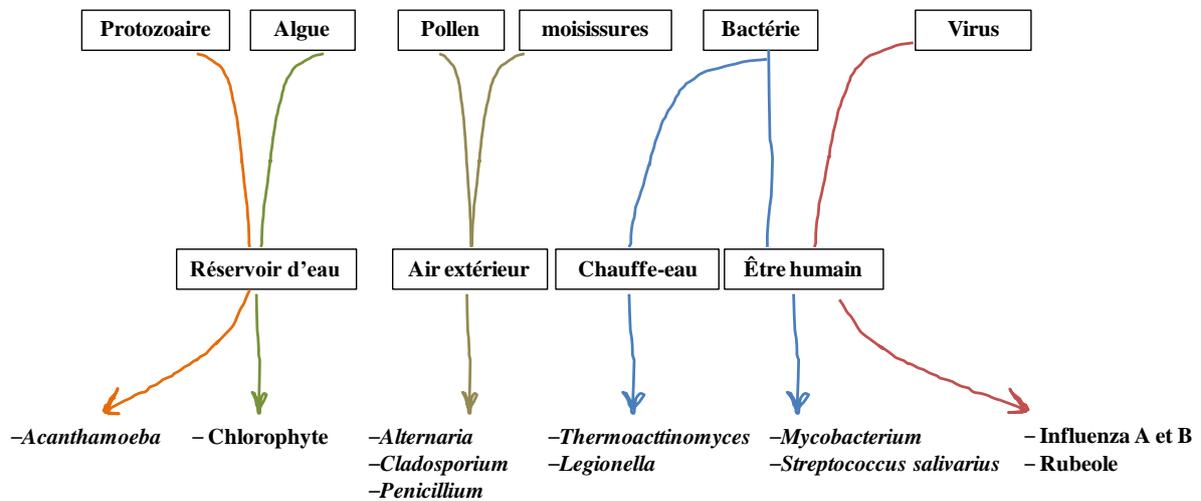
<b>Pollution non biologique</b>			
<b>Polluant</b>	<b>Description</b>	<b>Source</b>	<b>Effets sur la santé humaine</b>
<b>Amiante</b>	Groupe d'hydrates de silicate minéral non pur	Matériaux de bâtiments	Irritation des mucus, cancer poumon, asbestoses
<b>Dioxyde de carbone</b>	Gaz incolore et inodore	Respiration, combustion	Asphyxiant et irritation respiratoire, nausée, maux de tête
<b>Monoxyde de carbone</b>	Gaz toxique inodore	Combustion incomplète du fuel, chauffe-eau, fumé des cigarettes	Neuropsychologie, maux de tête, fatigue, nausée
<b>Formaldéhyde</b>	Composé volatile, très répandu dans l'environnement	Matériaux de bâtiments : résine, moquette, contreplaqué	Neuropsychologie, irritation des yeux, Œdème pulmonaire
<b>Dioxyde d'azote</b>	Gaz rouge-marron, soluble dans l'eau et odeur âcre acide	Combustion au kérosène et du bois, fumée de cigarettes	Augmente les infections respiratoires, affecte la fonction des poumons
<b>Dioxyde de sulfure</b>	Gaz incolore, soluble dans l'eau et odeur acre	Combustion du carbone et du fuel contenant du carbone	Réduction de fonction des poumons, complication chronique respiratoire
<b>Radon</b>	Gaz inerte radioactif	Différents minéraux	Leucémie et cancer de poumon
<b>Particules respiratoires</b>	Mixte de polluant toxique	Combustion du bois et du carburant	Réduction de fonction des poumons, asthme
<b>Composés organiques volatils</b>	Composé chimique avec atome Carbone et Hydrogène	Matériaux de bâtiments, combustion des appareils, peinture	Effets chronique (respiratoire, asthme, nerveux ...)
<b>Pollution biologique</b>			
<b>Polluant</b>	<b>Description</b>	<b>Source</b>	<b>Effets sur la santé humaine</b>
<b>Allergènes biologiques</b>	<i>Dermatophagoides</i> , <i>Euroglyphus</i> , <i>Malayoglyphus</i>	Moquette, sofa, chat, chien	Asthme, essoufflement nocturne
<b>Moisissures, bactéries et virus</b>		Bois, nourritures, vêtements	Allergie et différentes infections

Tableau 1 : Différents types de polluants avec différentes types d'émissions d'après (Jones, 1999)

Les polluants de l'air extérieur et leurs effets ont fait l'objet d'études approfondies depuis plusieurs décennies. Les connaissances sur la pollution de l'air dans les milieux fermés sont encore incomplètes et un sujet récent à découvrir. La « pollution de l'air intérieur » peut être d'origine endogène ou exogène. La plupart des études se sont intéressées à l'évaluation toxicologique et à mesurer les concentrations en produits chimiques, bio-contaminants, particules et fibres de l'air interne (Jones, 1999).

Plusieurs études ont été menées pour caractériser les différents bioaérosols présents dans les environnements intérieurs (Burge, 1990; Jones, 1999; Kalogerakis et al., 2005; Kampa and Castanas, 2008). L'écologie microbienne dans l'environnement externe ou interne peut être

constituée de différents types de micro-organismes comme les virus, les bactéries, les moisissures, les protozoaires, le pollen et les algues (Figure 1).

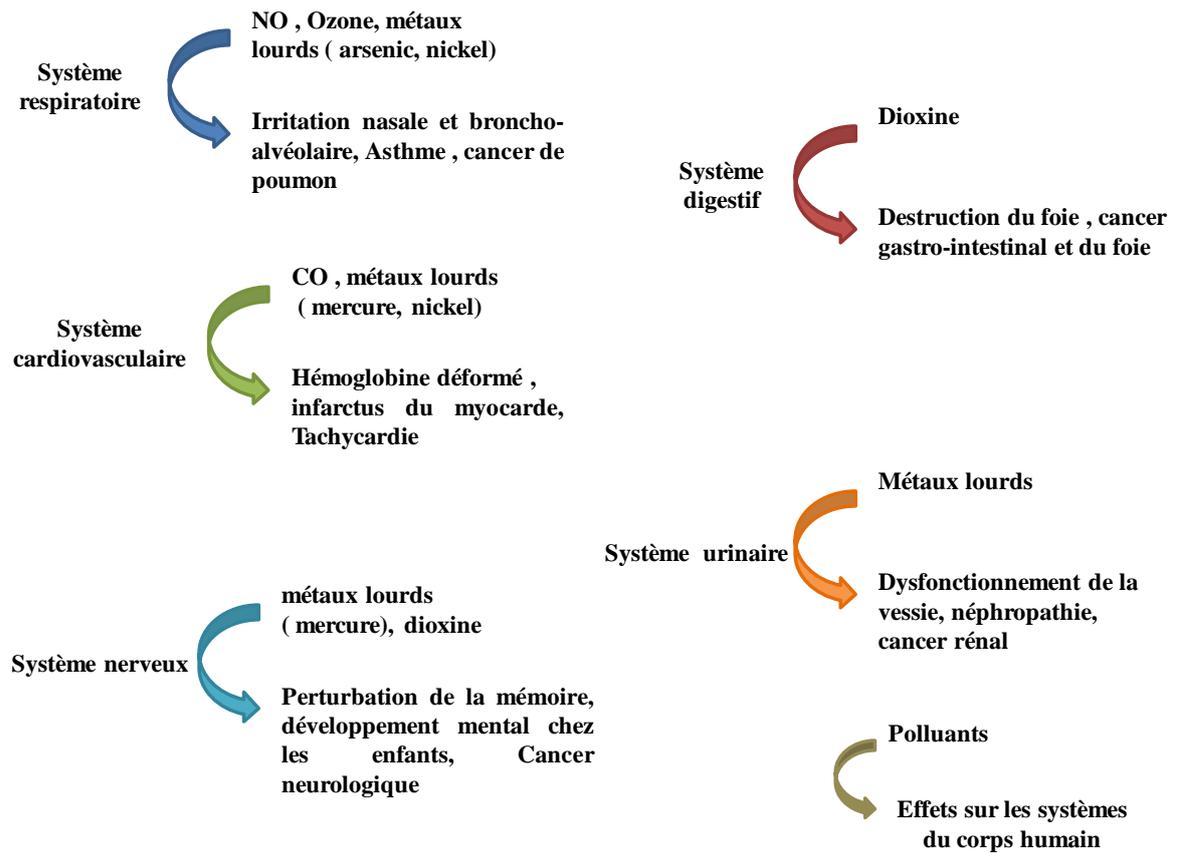


**Figure 1: Différents types de microorganismes présents dans l'environnement extérieur et intérieur (adapté de Burge, 1990; Jones, 1999; Kalogerakis et al., 2005; Kampa & Castanas, 2008)**

Ces microorganismes saprophytes sont capables de se multiplier dans différents réservoirs qui peuvent contaminer l'environnement intérieur. Certaines bactéries (*Bacillus* et *Thermoactinomyces*) ou moisissures peuvent produire des spores pour persister longtemps dans des milieux hostiles comme les chauffe-eaux par exemple. Certains microorganismes produisent des mycotoxines, des endotoxines et des composés organiques volatiles qui peuvent irriter les voies respiratoires ou bien peuvent être toxiques (Burge, 1990). Certaines bactéries s'aérosolisent et peuvent causer des maladies infectieuses chez l'homme. Par exemple *Legionella pneumophila* peut causer une pneumopathie avec une dose infectieuse à  $10^3$  UFC. L<sup>-1</sup> (Winn, 1996). Un moyen de survie pour ces micro-organismes est l'endosymbiose dans des protozoaires, qui sont des êtres unicellulaires souvent mobiles, et permet la persistance des légionelles dans les réservoirs d'eaux. Les microorganismes sont responsables d'infections mais peuvent aussi produire des métabolites toxiques. Par exemple, *Aspergillus fumigatus*, une moisissure qui contribue à la maladie pulmonaire causée par la production de mycotoxines (Swan, 2003). L'air extérieur est un milieu plus riche en moisissures qu'en bactéries. Les spores entrent par les fenêtres, par les systèmes de ventilation ou par les centrales de traitement d'air et vont être dispersées ensuite dans le milieu intérieur (Jones, 1999).

Plusieurs études ont été réalisées pour caractériser les niveaux de bioaérosols rencontrés dans les environnements intérieurs. Certaines études montrent que la ventilation de la pièce en ouvrant une fenêtre pour une période de temps permettrait de réduire la présence de bioaérosols (Kalogerakis et al., 2005). Le tabagisme, les matériaux de construction, les meubles, les produits d'entretien, les peintures, les acariens, les moisissures, les virus sont les sources de pollution de l'air à l'intérieur. Ces polluants s'accumulent dans les logements non aérés et non ventilés (Rengasamy et al., 2004).

La pollution intérieure peut être responsable de problèmes de santé comme le syndrome des bâtiments malsains ou Sick Building Syndrome (SBS). Ces syndromes sont non-spécifiques et dépendent de la concentration des particules et de composés organiques volatils générés par les microorganismes ou d'origine chimique dans les milieux d'occupation. Parmi les signes cliniques évocateurs de SBS, on distingue les maux de tête, nausée, l'éternuement, la fatigue, les problèmes de respiration, le vertige, les irritations des yeux et de peau, l'asthme ... (Jones, 1999). L'exposition à ces différents polluants d'origine biologique ou chimique se fait par inhalation, ingestion et même contact direct affectant différents systèmes et organes comme le système respiratoire, cardiovasculaire, nerveux, urinaire et digestif. La Figure 2 montre les effets des polluants chimiques sur la santé de l'homme (Kampa and Castanas, 2008).



**Figure 2 : Effets des polluants chimiques sur la santé de l'homme (adapté de (Kampa and Castanas, 2008))**

### III. Activités intérieures

La maison, le bureau, les magasins, les centres de loisir sont les endroits où on passe la plus grande partie de notre temps. Des études montrent que les milieux clos contiennent une qualité d'air 5 à 10 fois plus polluée qu'à l'extérieur (Jones, 1999). L'exposition à ce type de pollution représente une menace qui est devenue plus importante ces dernières années.

Peu d'études présentent des statistiques sur le nombre d'heures passées dans les milieux fermés.

« Export entreprises SA » ont publié en septembre et octobre 2014 des données qui représentent le nombre d'heures de travail par jour, par semaine ou par an dans différents pays du monde comme le montre le tableau 2. Après analyse de ces données, la moyenne d'heures de travail par jour est estimée à 8,1 h. J<sup>-1</sup>, et 43,59 h<sup>-1</sup> par semaine qui correspondent à 33,75% de la journée et à 33,32 % de la semaine (en considérant que la semaine de travail est de 5 à 6 jours selon le pays). Il est donc possible de déduire que les gens passent à peu près 34% de leur jour au travail (Export Entreprises SA, 2014) (Tableau 2).

Selon « Neuroscience Research et Scientific American », le nombre d'heures de sommeil change selon la taille et l'âge de la personne. Plus le corps augmente de taille plus il a besoin d'heures de sommeil et plus on est âgé moins on a besoin d'heures de sommeil. La moyenne d'heures de sommeil pour un être humain adulte est entre 7 et 8 heures qui correspondent à 29 ou 33% de notre journée (Aritake et al., 2004; Siegel, 2003).

Une autre étude sociologique effectuée en 2005 montre que les travailleurs passent à peu près 3,4 heures ou 206 minutes de leur temps avec la famille (télévision, devoir des enfants, épouse, ...) temps qui a diminué de 45 min de 1986 à 2005. Cette valeur est équivalente à 14,16% de la journée où on peut estimer qu'elle a diminué jusqu'à 14,12% à peu près (Turcotte, 2005).

Une étude générale sur le pourcentage de temps qu'on passe dans les milieux fermés était effectué par (Klepeis et al., 2001). Cette étude a été faite sur 9200 personnes qui montre que les gens passent à peu près 87% de leur temps dans des environnements fermés dont : 68,7% dans leur résidence, 5,4% dans leur bureau, 5,5% dans leur voiture et 1,8 dans les bars et les restaurants. La même étude montre un résumé de 22 microenvironnements d'endroits fermés où l'on peut passer notre temps durant une journée de 24h.

Ces données statistiques montrent que l'être humain passe à peu près 90% de son temps dans des lieux clos comme la maison, le bureau, les centres commerciaux, les centres de loisirs, les transports etc...

<b>Pays</b>	<b>Heures/ Jour</b>	<b>Heures /Semaine</b>	<b>% Jour</b>	<b>% Semaine</b>
France	7	35	0,29	0,29
Allemagne	8	48	0,33	0,33
Grèce	8	48	0,33	0,33
Espagne		40		0,30
Russie		40		0,33
Royaume Uni		48		0,33
Canada	8	40	0,33	0,33
Etats Unis	8	40	0,33	0,33
Brésil		44		0,37
Australie		38		0,32
Chine		40		0,28
Japon	8	40	0,33	0,28
Inde	9	48	0,38	0,40
Emirats Arabes Unis	9	48	0,38	0,33
Liban		48		0,36
Arabie Saoudite	8	48	0,33	0,33
Egypte	8	48	0,33	0,40
<b>Moyenne</b>	<b>8,10</b>	<b>43,59</b>	<b>0,34</b>	<b>0,33</b>

**Tableau 2: Nombre d'heures de travail par jour, par semaine dans différents pays (Export Entreprises SA, 2014) (<http://www.planet-expert.com/fr/pays>)**

#### **IV. Le système de ventilation et les centrales de traitement d'airs**

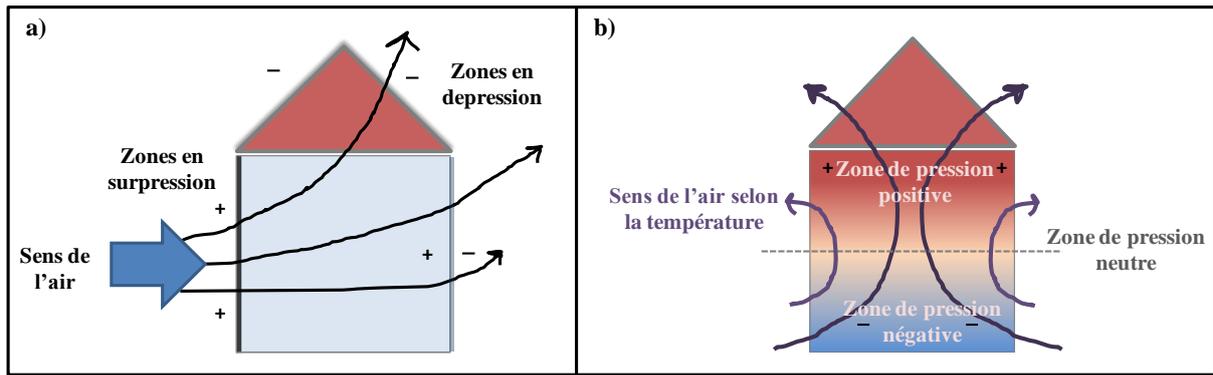
Le contact important entre les personnes dans un environnement fermé permet d'augmenter la concentration de particules polluantes l'air intérieur. À ce jour, il n'existe pas de données suffisantes qui précisent et quantifient les exigences minimales pour un renouvellement d'air dans un environnement fermé et la relation avec la propagation de particules infectieuses en suspension dans l'air (Li et al., 2007). En raison des problèmes de santé causés par la pollution de l'air intérieur, la ventilation mécanique a été imposée par la réglementation française dans les logements français collectifs ou individuels construits après 1982. De même, le code du travail définit un débit minimal d'air neuf de 25 m<sup>3</sup>. h<sup>-1</sup> par occupant pour les bureaux (Article R4222-6 du décret n°2008-244 du 7 mars 2008 - art. (V)).

Pour répondre à de nombreuses questions concernant l'air intérieur, la France a créé l'Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur (OQAI), organisme placé sous la tutelle des Ministères en charge du Logement, de la Santé, de l'Environnement, de l'Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (ADEME), de l'Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) et de l'Agence nationale d'amélioration de l'habitat (ANAH). Le Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB) est l'opérateur désigné pour la mise en œuvre de l'Observatoire.

##### **i. Ventilation naturelle**

La ventilation naturelle est due à la présence des portes, des fenêtres et des débouchés de conduit disposés stratégiquement dans les bâtiments qui induit un renouvellement de l'air sans besoin de l'intervention des procédés mécaniques. Deux principaux phénomènes sont liés à ce type de ventilation :

- L'effet du vent : le balayage de l'air dans les milieux clos se fait suite à la différence de pression sur la façade face au vent et la pression sur la façade sous le vent. Le flux d'air va des zones en surpression vers les zones en dépression (Russell et al., 2007). (Figure 3a)
- L'effet du gradient de température : cet effet est nommé tirage thermique. La différence de température entre l'extérieur et l'intérieur crée une différence de densité de l'air. Elle implique une différence de pression qui conduit à une circulation d'air de la partie basse du bâtiment vers les ouvertures de la partie haute (Concannon, 2002). (Figure 3b)



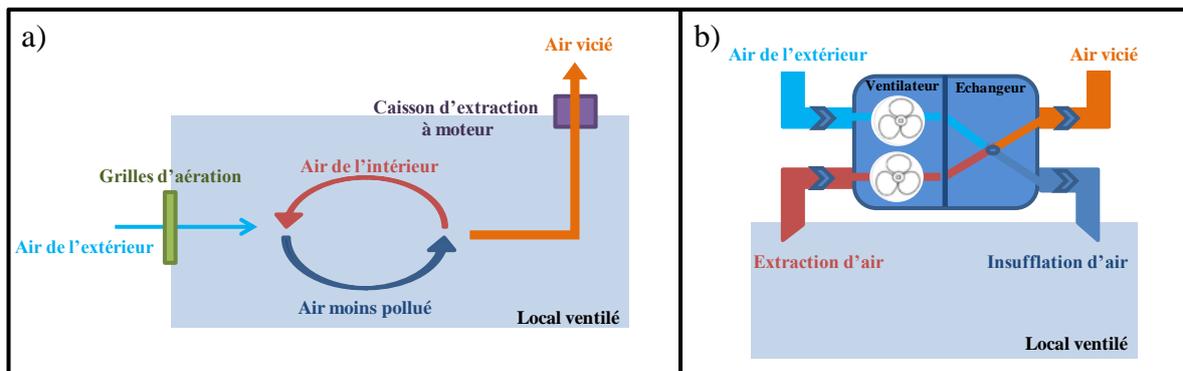
**Figure 3 : Sens de l'air en fonction de la pression (a) et la température (b)**

Ces deux forces motrices varient dans le temps et l'espace et peuvent effectuer des effets combinés ou opposés qui rendent difficile le contrôle des débits d'air. La ventilation naturelle dépend aussi des ouvertures présentes dans le bâtiment qui peuvent être « mono-façade » ou « traversant ».

## ii. Ventilation mécanique contrôlée

La ventilation mécanique contrôlée est une ventilation contrôlée par des systèmes de renouvellement de l'air. Il est possible de distinguer la ventilation à simple flux et la ventilation à double flux (Figure 4).

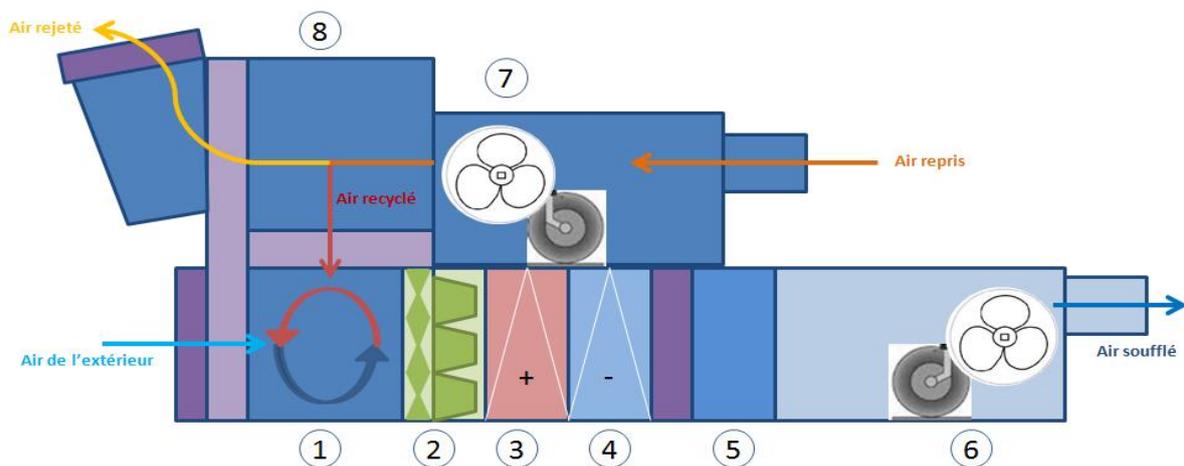
- La ventilation à simple flux consiste à aspirer l'air moins pollué de l'extérieur vers les pièces à aérer contenant de l'air pollué et humide. La présence des bouches d'extraction laisse sortir l'air pollué extrait par un ventilateur actionné par un moteur.
- La ventilation à double flux consiste à l'entrée de l'air de l'extérieur par des bouches d'insufflation après avoir été filtré. Cet air neuf va être réchauffé par la récupération de calories de l'air extrait et soufflé vers le local ventilé (ANAH, EDEME et Bailly, (2001)).



**Figure 4 : La ventilation à simple flux (a) et à double flux (b)**

### iii. Les centrales de Traitement d'air (CTA) :

De nombreux bâtiments du secteur tertiaire de taille conséquente sont équipés d'une Centrale de Traitement de l'Air (CTA) comprenant une étape de filtration, essentielle pour la capture des aérosols, ainsi que des étapes de climatisation et/ou chauffage et d'humidification pour le confort des occupants. La centrale de traitement d'air est un système qui délivre de l'air neuf à l'intérieur avec une température et une humidité bien contrôlée et avec une réduction de la concentration des particules de l'air extérieur (poussière, pollen, microorganismes ...) en créant un climat artificiel. La centrale de traitement d'air est composée de plusieurs sections : section de mélange (1), section de filtration (2), section de chauffage (3), section de refroidissement (4), section d'humidification (5) et section de soufflage (6) (Figure 5).



**Figure 5: Description de fonctionnement de la centrale de traitement d'air (Bailly, 2001)**

Le caisson de mélange air neuf et air recyclé (1) est la partie de la CTA où se mélange l'air de l'extérieur avec l'air recyclé si le système présente un recyclage d'une partie de l'air intérieur. A ce niveau l'air neuf va être réchauffé par la récupération de calories de l'air recyclé. Deux étages de filtration sont présents dans la section de filtration comprenant généralement une filtration grossière et une filtration fine (2). Ces filtres vont réduire la concentration des particules de l'air extérieur. Le réchauffement et le refroidissement de l'air entrant s'effectuent à l'aide de la batterie chaude (3) et la batterie froide (4) pour le cas où le système sert également à la climatisation et au chauffage des locaux. L'humidificateur (5) va régler l'humidité souhaitée si nécessaire. On distingue 2 ventilateurs de soufflage. Le premier qui va souffler l'air propre à une température et une humidité bien contrôlée vers le local ventilé (6) et l'autre qui

va extraire l'air repris du local ventilé vers l'extérieur (7). Un caisson va diriger l'air à recycler vers le caisson de l'air neuf et qui va rejeter l'air vicié à l'extérieur (8) (Bailly, 2001).

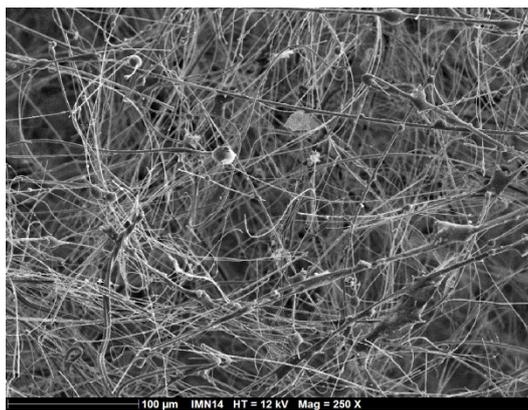
#### **iv. Recyclage de l'air**

Les CTA qui comportent un caisson de mélange ou les ventilations de type double flux sont les systèmes qui présentent la possibilité d'un recyclage de l'air (Bailly, 2001). Cette étape consiste à récupérer une partie de l'air intérieur extrait et de mélanger une fraction de cet air avec l'air neuf insufflé. Le recyclage est adapté en fonction de la qualité de l'air à recycler. Les caissons de mélange qui servent au recyclage doivent être correctement étanches pour éviter les contaminations par les polluants (Koffi, 2009). Le recyclage de l'air permet une économie d'énergie et un équilibre thermique dans le système de traitement d'air, étant donné que l'air extrait (température adaptée à la pièce) est partiellement mélangé à l'air insufflé. Un équilibre thermique se crée alors dans le caisson de mélange. Cela limite les risques de courants d'air froid sur le soufflage d'air neuf, et minimise les pertes de chaleur par ventilation (Dhalluin, 2012). La mauvaise élimination ou l'accumulation des polluants sont parmi les risques principaux de l'utilisation d'un système avec recyclage. Pour éviter les polluants, un système de traitement est nécessaire qui est présenté sous forme d'une filtration de l'air sur médias fibreux.

#### **V. Les médias fibreux commercialisés**

Du fait de ses performances, de son faible coût et de sa facilité d'adaptation à des problématiques différentes, la filtration sur média fibreux est le procédé le plus répandu pour la capture des particules en traitement de l'air. Les propriétés de structure du filtre, la taille des particules collectées et l'écoulement de l'air (vitesse, régime...) influent sur la capacité d'un média fibreux à collecter des particules. Un média fibreux filtrant est constitué d'un assemblage de fibres de différente nature : métallique, synthétique ou naturel. Selon les propriétés de l'effluent gazeux et les particules à traiter, le choix de matériau change.

Les filtres sont constitués d'amas de fibres sous différentes formes suivant les applications : les médias tissés, les feutres ou les non tissés ayant des fibres en vrac, et les papiers filtrants, type fibre de verre (Le coq, 2006). La Figure 6 présente une photo de microscopie électronique à balayage (MEB) de filtre à fibre de verre F7.



**Figure 6: Filtre F7 (EN779:2012 ) fibre de verre, observation des fibres au MEB**

**i. Les mécanismes de filtration et la performance du filtre**

Cinq mécanismes différents sont proposés selon différents paramètres appliqués sur le filtre : (Figure 7)

- Tamisage (7a) : Le diamètre de la particule est plus grand que l'espace entre 2 fibres ( $>1\mu\text{m}$ )
- Impaction inertielle (Figure 7b) : Les particules entrent en inertie et en collision avec les fibres. Ce phénomène a besoin d'une vitesse de  $1.5$  à  $3 \text{ m. s}^{-1}$  et un diamètre  $>1\mu\text{m}$ .
- Interception (Figure 7c) : Un passage trop près de la fibre avec une distance inférieure au rayon, les particules sont interceptées par les fibres. Plus la particule est grosse ( $\leq 1\mu\text{m}$ ) et les fibres sont fines plus la probabilité d'interception est grande.
- Diffusion brownienne (Figure 7d) : ce phénomène concerne les particules de taille  $< 1\mu\text{m}$  qui consiste à heurter les fibres suite à une animation de ces particules par un choc permanent de ces particules avec les molécules des gaz. Ces chocs permanents induisent un mouvement aléatoire des particules qui peuvent ainsi heurter les fibres. C'est plus efficace avec des particules ayant un diamètre plus petit que  $0.1\mu\text{m}$ .
- Mécanisme électrostatique (Figure 7e) : Ce phénomène intervient lorsque les particules et/ou le média possèdent une charge électrique avec 3 interactions : la force image, la force de polarisation et la force coulombienne. avec le colmatage des fibres, l'efficacité de ce phénomène décroît rapidement d'où la formation du gâteau de particules qui empêche l'interaction électrostatique (Le coq, 2006).

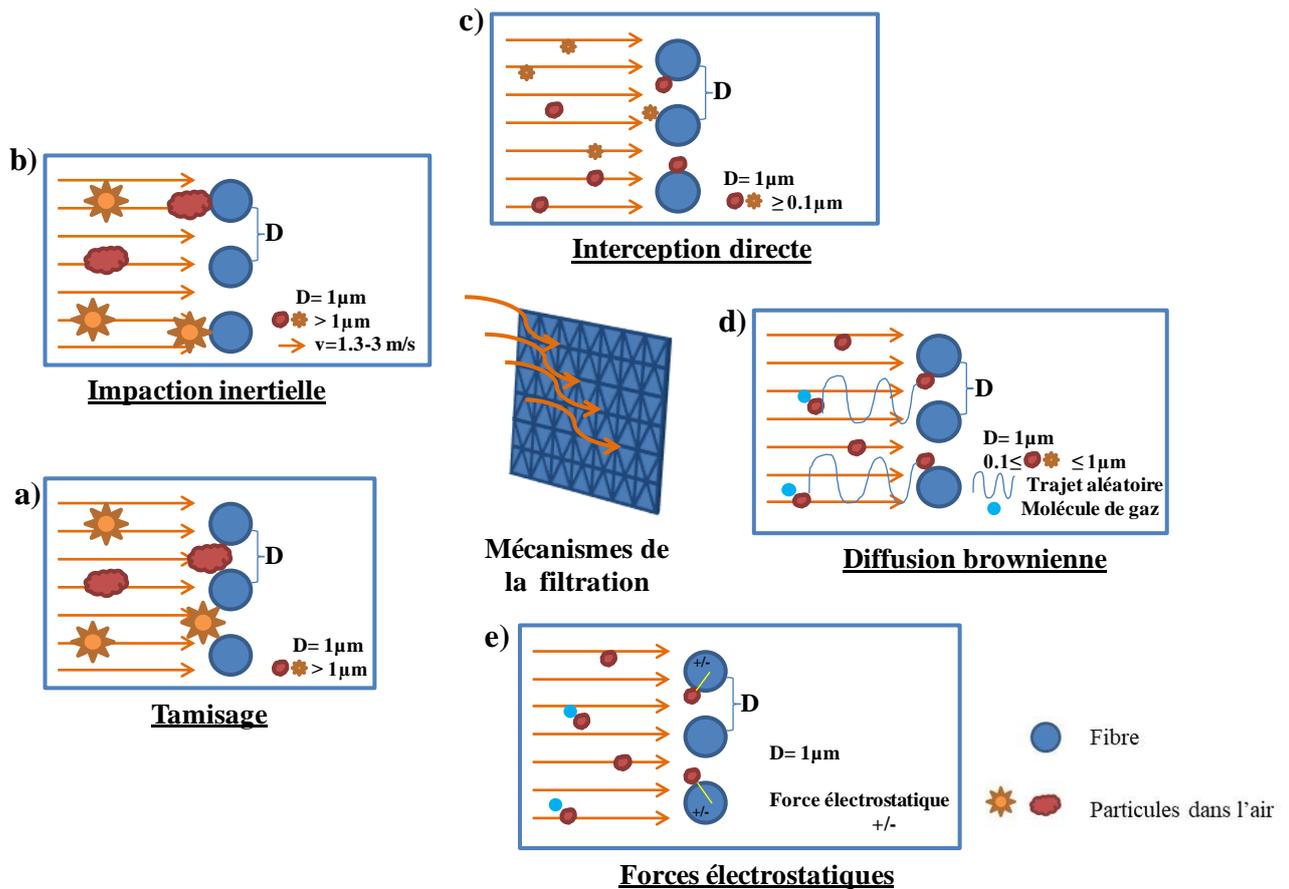


Figure 7: Les 5 mécanismes de filtration

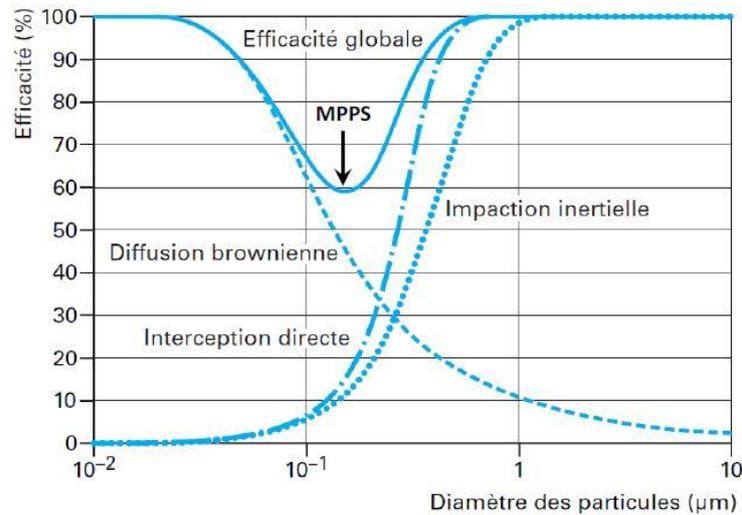
## ii. La performance des médias fibreux

La perte de charge et l'efficacité de collecte globale sont les paramètres qui définissent la performance d'un filtre. La perte de charge  $\Delta P$  caractérise la différence entre les pressions statiques en amont et en aval d'un filtre ( $\Delta P = P_{\text{amont}} - P_{\text{aval}}$ ).

Cette perte de charge traduit la résistance à l'écoulement du fluide qui traverse le filtre.

L'efficacité de collecte globale n'est pas linéaire en fonction du diamètre des particules traitées, elle est différente selon les cinq phénomènes de filtration décrits précédemment (Figure 7). Ces mécanismes interviennent à des tailles de particules différentes. Avec le changement de taille l'efficacité augmente ou diminue pour chaque mécanisme. Le mécanisme de diffusion brownienne intervient pour les particules dont la taille est inférieure à  $0.1 \mu\text{m}$ , puis le mécanisme d'interception intervient pour les particules de taille entre  $0.1$  et  $1 \mu\text{m}$ . Pour des tailles supérieures ce sont les mécanismes impaction inertielle et de tamisage qui prennent respectivement le relais (Le coq, 2006). La combinaison des mécanismes intervenant dans la collecte des particules permet de tracer l'efficacité globale (Figure 8). Elle présente un

minimum pour un certain diamètre aérodynamique de particule, appelé MPPS (Most Penetrating Particle Size) qui varie généralement entre 0,1 et 0,4  $\mu\text{m}$  (Bailly, 2001).



**Figure 8: Courbes d'efficacité des quatre phénomènes de filtration (Le Coq, 2006)**

### iii. Classification des Filtres

A partir de ces différents paramètres, il est possible de distinguer trois grandes familles de filtres pour différentes utilisations et efficacités (Figure 9) : G1 à G4 (faible efficacité), M5 à M6 ( $40 \leq$  efficacité moyenne  $< 80$ ), F7 à F9 ( $80 \leq$  efficacité haute  $< 95$ ) et E10 à E12 / H13 À H14 / U15 à U17 (efficacité très élevée  $> 95$ ) (EN779: 2012 , EN1822: 2009). Ces filtres sont constitués de différents médias, utilisés dans différents lieux et montrent différents mécanismes de filtration (Bailly, 2001). Les filtres à efficacité faible (Figure 9a) sont constitués généralement de médias épais en fibre de verre ou synthétique, qui sont efficaces pour les particules de plus de 5  $\mu\text{m}$  avec une vitesse de filtration entre 1,5 et 2,5  $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$  et qui sont présents dans les bureaux et les ateliers classiques. Les filtres à efficacité moyenne et haute (Figure 9b) sont constitués de feutre de fibre de verre en forme poche ou en papier plissé de verre. ces filtres sont utilisés comme première étape de filtration dans les CTA avec une vitesse de filtration entre 0,005 et 0,15  $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ . On trouve ces filtres dans les bureaux , industrie pharmaceutique et les milieux hospitaliers. Les filtres à efficacité très élevée (Figure 9c) sont utilisés dans les salles propres en écoulement laminaire et les blocs opératoires. Ils sont constitués de fibres de verre extrêmement fines et plissées avec une vitesse de filtration inférieure à 0,03  $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ .

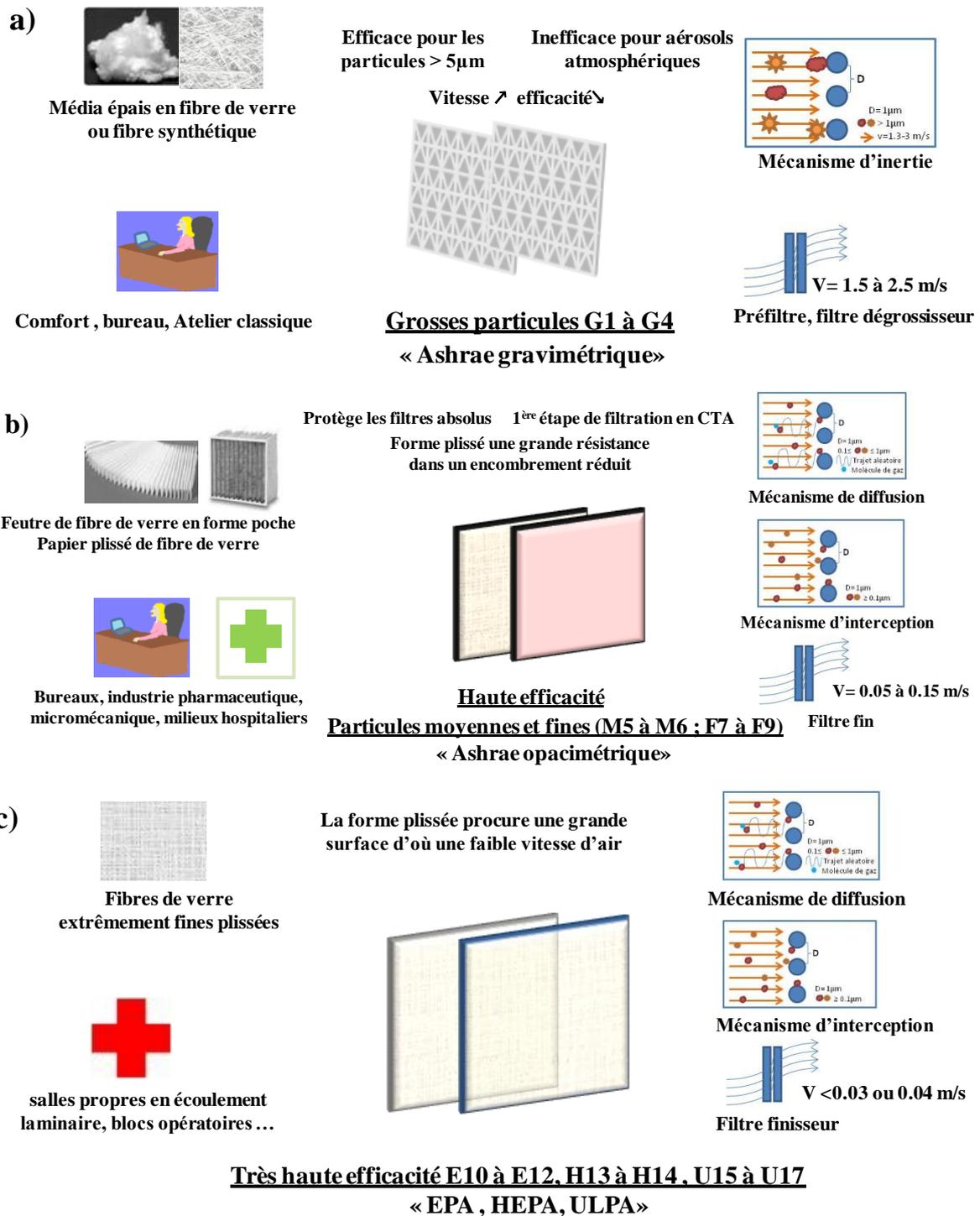


Figure 9: Les trois grandes familles de filtres (“EN779:2012”, “EN1822 : 2009”)

Le domaine d'efficacité des filtres est défini selon deux principales normes. La norme (EN779:2012) qui caractérise des filtres de moyenne et haute efficacité, et la norme (EN1822 :2009) pour les filtres très haute efficacité.

Dans les bureaux, les hôpitaux, les climatiseurs, les salles blanches, chaque lieu a son propre filtre avec une efficacité adaptée et qui collecte un ou des éléments spécifiques ( Tableau 3).

<b>Eléments à filtrer</b>	<b>Classe</b>	<b>Applications</b>
	<b>EN 779 (2012) / EN 1822 (2009)</b>	
Insectes, fibres textiles, cheveux, sable, cendres, pollen, ciment	G1, G2 G3, G4	Utilisations simples (protection contre les insectes) Préfiltre et filtre pour les installations de protection civile, évacuation de l'air des cabines de peinture, des cuisines, protection anti-pollution pour les climatiseurs (par exemple de fenêtre), préfiltre pour les classes de filtration F7 et F8
Pollen, ciment, particules salissantes (poussières), germes, poussières chargées de bactéries	M5 M6	Filtre sur l'air neuf des locaux à faible exigence (ateliers, garages, entrepôts) Préfiltre et filtre pour les centrales de traitements de l'air, filtre final dans les installations de climatisation pour magasins, bureaux et locaux de fabrication Préfiltre pour classes F9 à H12
Fumées d'huile et de suie agglomérées, fumée de tabac, fumée d'oxyde métallique	F7, F8, F9	Filtre final dans les installations de climatisation pour bureaux, locaux de fabrication, hôpitaux, centrales électriques, locaux ordinateurs,
Germes, Bactéries, virus, fumée de tabac, fumée d'oxyde métallique	E10, E11, E12 H13, H14 U15, U16, U17	Filtre final pour locaux à haute exigence, laboratoires, alimentation, pharmacies, mécanique de précision, industrie optique et électronique
Vapeur d'huile et suie en formation, particules radioactives	E11, E12 H13, H14 U15, U16, U17	Filtre final pour salles blanches Filtre final pour salles blanches, filtre final pour salle d'opération, filtre final pour évacuation d'air des installations nucléaires

**Tableau 3 : les différents filtres, les médias et leurs applications (Bailly, 2001; “EN779:2012” , “EN1822 : 2009”)**

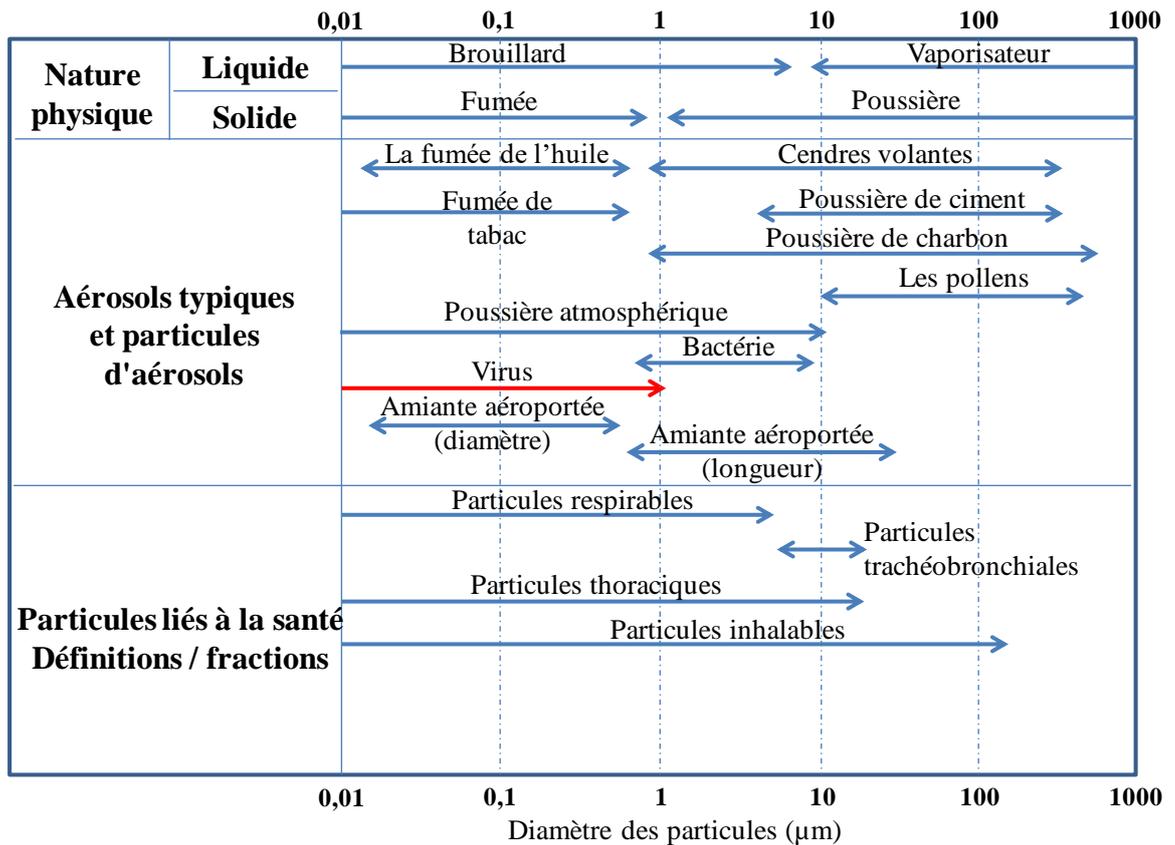
## **VI. Les aérosols**

Un aérosol est défini comme une suspension de liquide ou solide dans un gaz. Les aérosols sont au cœur de problèmes environnementaux tels que le réchauffement climatique, le smog photochimique, l'appauvrissement de la couche d'ozone stratosphérique et la mauvaise qualité de l'air. L'impact environnemental du transport à longue distance des particules atmosphériques a également été largement discuté (Stohl, 2004; Zhang, 2010). Les termes « aérosols » et « particules » sont souvent librement utilisés dans la littérature. Les aérosols varient dans la gamme de taille de 0,001  $\mu\text{m}$  à 100  $\mu\text{m}$ , de sorte que la taille des particules s'étend sur plusieurs ordres de grandeur, allant d'une taille presque macroscopique à presque moléculaire. Toutes les propriétés d'aérosol dépendent de la taille des particules. Les aérosols sont d'origine naturelle ou issus des activités humaines. Il existe différents types d'aérosols, qui sont classés selon la forme physique et la méthode de génération. Les termes couramment utilisés sont «poussière», «fumée», «brouillard» et «brume» (Kulkarni et al., 2011).

### **i. Taille et forme des aérosols**

La taille des particules est un élément important pour parler de son comportement en aérosol. Lorsque ses particules sont toutes de même taille, un aérosol est appelé «monodispersé» ce qui est extrêmement rare dans la nature. Généralement, les particules varient en taille, ce qui s'appelle «polydispersé». Lorsque ses particules sont chimiquement identiques, un aérosol est appelé «homogène» (Lazaridis and Colbeck, 2013).

Lorsque les particules sont sphériques, leur diamètre peut être utilisé pour décrire leur taille. Comme la plupart des particules ne sont pas sphériques, cependant, d'autres paramètres doivent être utilisés. Souvent, le diamètre est défini en termes de vitesse de décantation des particules. Toutes les particules ayant des vitesses de décantation similaires sont considérées comme ayant la même taille, quelles que soient leur taille, leur composition ou leur forme réelle (Lazaridis and Colbeck, 2013). Les particules peuvent être classées en fonction de leur taille. La Figure 10 représente certaines gammes de taille d'aérosol typiques et leurs propriétés.



**Figure 10: Taille d'aérosol et leurs propriétés adapté de Lazaridis and Colbeck, (2013)**

## ii. Distribution granulométrique

Tous les éléments polluants de l'atmosphère intérieure sont formés de particules qui sont des petites parties de matières solides ou liquides dans l'air ou déposées sur une surface et susceptibles de se mettre en suspension lors de mouvement d'air. Leur granulométrie varie de 0,005µm à environ 100 µm. Ces particules de différentes tailles en suspension dans l'air sont définies par les particules totales en suspension (TSP) qui peuvent être classées en différentes catégories représentées par leur « Particulate matter » (Figure 11).

- Les particules totales en suspension (TSP) : ce sont toutes les particules en suspension dans un volume d'air avec un diamètre aérodynamique inférieur à 40 à 50 µm (norme aux Etats Unis) ou inférieures à 100 µm (norme en Europe). Ces particules représentent une partie des fractions inhalables des particules de l'air et une partie représente des particules trop larges pour être inhalable par le système respiratoire humain.
- Les particulate matter 10 (PM10) : ces particules ont un diamètre aérodynamique  $\leq 10 \mu\text{m}$ . Cette classe de particules a été définie comme une mesure standard de la qualité de l'air

suite à leur capacité de pénétrer le système respiratoire humain. Les PM10 représentent 40 à 70 % en masse des TSP.

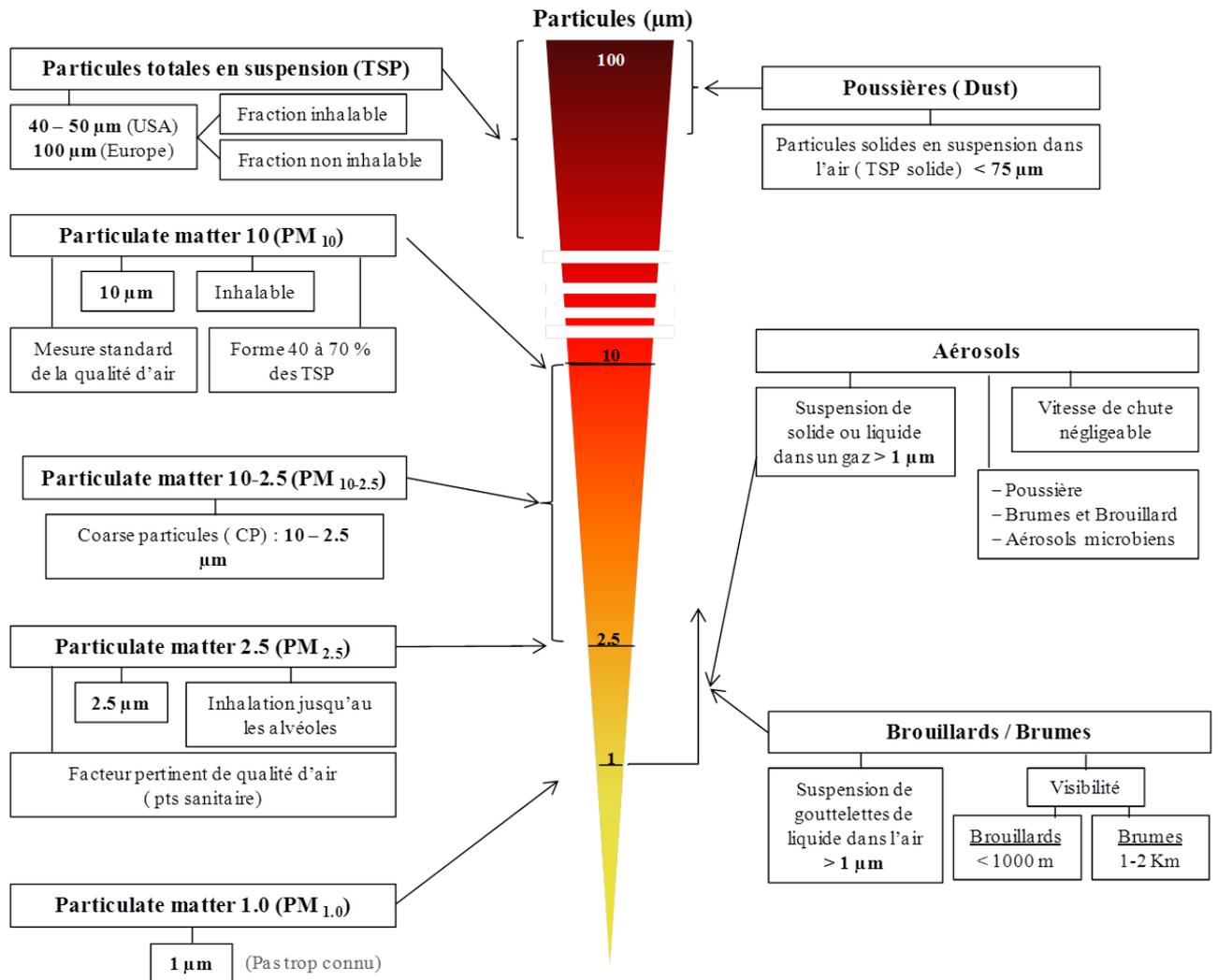
- Les particulate matter 2,5 (PM 2,5) : ces particules ont diamètre aérodynamique  $\leq 2,5 \mu\text{m}$ . Cette classe de particules présente un facteur pertinent pour qualifier la qualité de l'air du point de vue sanitaire puisqu'elles sont capables de pénétrer les alvéoles pulmonaires. Une sous-classe PM10-2,5, les « coarse particules » (CP), sont définies par des épidémiologistes comme une sous classe de particules de taille inférieure à  $10 \mu\text{m}$  et supérieure à  $2,5 \mu\text{m}$ .
- Les particulate matter 1,0 (PM 1,0) : ces particules ont diamètre aérodynamique  $\leq 1 \mu\text{m}$ . Cette classe de particules n'est pas encore trop définie et fait l'objet d'études spécifiques en termes d'échantillonnage et d'impact sur la santé (Le coq, 2006).

À la suite de ces classements des particules par leurs granulométries, on distingue différentes catégories de particules appartenant à ces classements par exemple les poussières, les aérosols et les brouillards ou brumes. Ces catégories sont distinguées par leurs tailles, leurs visibilitées et leurs vitesses de transport. Les poussières définissent l'ensemble des particules solides en suspension dans l'air. Les poussières regroupent les TSP solides issues d'un processus mécanique de diamètre aérodynamique  $< 75 \mu\text{m}$ . Les brumes sont des suspensions de gouttelettes liquides de taille supérieure à  $1 \mu\text{m}$  dans l'air avec une visibilité de 1 à 2 km. Les brouillards sont les brumes avec une visibilité inférieure à 1 000 m. Les aérosols sont des particules solides et/ou liquide présentes en suspension dans un gaz avec une vitesse de chute négligeable. Les aérosols contiennent les poussières, les brumes et brouillards, et les aérosols microbiens (bioaérosols) (Le coq, 2006).

Les particules dans l'atmosphère sont constituées d'un mélange de particules solides, de gouttelettes liquides et de composants liquides contenus dans les particules solides (Figure 11). Les aérosols sont présents dans l'air intérieur sous différents formes :

- Les *Droplet nuclei* qui sont des particules présentant un diamètre compris entre 1–10  $\mu\text{m}$ . Ils sont impliqués dans la propagation de l'infection dans l'air. Ces particules sont formées suite à une évaporation de gouttelettes de la toux ou éternuement dans l'atmosphère ou par aérosolisation de matériel infectieux.
- Les gouttelettes qui sont de petits volumes de liquide expulsés à l'occasion (toux, éternuement). Les grosses gouttelettes sédimentent rapidement et les autres plus petites s'évaporent pour former des *droplet nuclei*.

- Les aérosols qui sont des suspensions dans un milieu gazeux, de particules solides ou liquides avec une vitesse de chute négligeable ( $v \leq 25 \text{ cm. s}^{-1}$ ) avec différents diamètres aérodynamiques. (Burge, 1990; Lazaridis and Colbeck, 2013)



**Figure 11: Différentes granulométries des particules dans l'air**

### iii. Origine des aérosols

Les sources d'aérosols peuvent être soit naturelles (volcans, sols, océans, feux de forêt), soit dues aux activités humaines (gaz émis par la combustion, etc.). Ces aérosols peuvent transporter des composés polluants organiques, métalliques ou encore radioactifs sur de courtes comme de longues distances. Deux types d'aérosols ont été distingués : les aérosols primaires et les aérosols secondaires. Les aérosols primaires proviennent de la dispersion de substances à la surface de la Terre comme les substances organiques, les poussières minérales, les suies des

feux, les poussières et les gaz provenant d'éruptions volcaniques et les COV. Les aérosols secondaires sont créés par des réactions entre des gaz de l'atmosphère par exemple et des rejets industriels de poussières, gaz, spray aboutissant à la formation de fines particules en suspension dans l'air (Jones, 1999; Le coq, 2006).

Tableau 4 montre les principales origines des particules PM 2,5 et PM 10 dans l'air. Les PM 2,5 sont des particules fines formées par condensation de gaz et de vapeurs émises par des combustions incomplètes. Les PM10 proviennent de phénomènes mécaniques par exemple l'érosion et les activités humaines dans les milieux intérieurs (nettoyage) (Le coq, 2006).

Origines des particules de l'air		
	PM 2.5	PM 10
	 <ul style="list-style-type: none"> <li>- Condensation de gaz et de vapeurs</li> <li>- Combustion incomplète</li> </ul>	 <ul style="list-style-type: none"> <li>- Érosion</li> <li>- Activités humaines (nettoyage, poussière)</li> </ul>
	Trafic automobile (Urbain) Origine chimique et thermique (Industriel)	Origine mécanique (Industriel)
<b>Durée de vie</b>	Plusieurs mois	Quelques heures
<b>Distance de transport</b>	100 à 1000 Km	Sédimentation rapide

**Tableau 4: Origines des particules PM 2,5 et PM 10 dans l'air**

#### iv. Caractéristiques et phénomènes liées aux aérosols

Les aérosols ont une vitesse de chute négligeable qui résulte d'un équilibre entre deux forces : La force de la pesanteur ou force électrique et la résistance du milieu support. Un certain nombre de paramètres importants ont été définis pour la sédimentation des aérosols : Le coefficient de diffusion  $D$  ( $m^2 \cdot s^{-1}$ ), la mobilité dynamique  $B$  (m), le temps de relaxation  $\tau$  (s) et la vitesse limite  $Vl$  ( $m \cdot s^{-1}$ ) (Renoux, 2003).

La coagulation, les propriétés électrostatiques, l'adhérence sur une paroi, le réentraînement des particules et la condensation / l'évaporation sont les différents phénomènes qui peuvent s'appliquer aux aérosols.

- **Coagulation des aérosols** : c'est un processus d'adhésion ou de fusion d'une particule d'aérosol avec une autre. Mais un choc entre 2 particules n'entraîne pas nécessairement une coagulation (efficacité de collision).
- **Propriétés électrostatiques des aérosols** : la force exercée par un champ électrique peu élevé sur un aérosol possédant une charge électrique, même faible, peut être considérablement plus forte que la pesanteur.
- **Adhérence des aérosols sur une paroi** : un phénomène d'adhérence se crée suite à un contact entre les aérosols et des parois solides (forte fixation). On distingue différents types de forces : Van der Waals, électriques ou de capillarité.
- **Réentraînement des particules fixées sur une paroi** : On distingue les forces de traînée (pour le détachement, une force horizontale) et les forces de portance (pour le réentraînement, force verticale).
- **Condensation / évaporation des aérosols liquides** : le processus le plus important de formation des aérosols est la condensation de la vapeur sous forme de très petites particules liquides. Le processus opposé de la condensation est l'évaporation. (Effet de Kelvin et effet des particules étrangères) (Renoux, 2003).

#### v. **Aérosols et qualité d'air intérieur**

La pollution de l'air peut comprendre un mélange complexe de gaz et de particules de différente nature chimique, physique, biologique. Ces aérosols sont responsables de la dégradation de la qualité de l'air intérieur et sont susceptibles d'engendrer des problèmes sanitaires. L'étude de Pope et Dockery, (2006) rapporte que la grande majorité de la littérature suggère que les particules de PM 10 et PM 2,5 sont les plus associées aux effets néfastes sur la santé. Les particules montrent deux effets sur la santé liée à leurs effets de taille ou à leurs caractéristiques toxicologique, physiologique et microbien (Figure 12). Selon la taille des particules, ils peuvent atteindre différents étages du système respiratoire humain. Les particules  $>10 \mu\text{m}$  sont retenues et rejetées par les voies respiratoires supérieures alors que les particules de diamètre entre 3 et  $10 \mu\text{m}$  accèdent au segment trachéo-bronchique et les particules compris entre 0,01 à  $3 \mu\text{m}$  atteignent les alvéoles pulmonaires. Les particules de taille inférieure à  $0,001 \mu\text{m}$  ressortent après exhalation. Les aérosols peuvent avoir des caractéristiques toxicologiques en contenant des produits nocifs. Leurs nocivités changent avec leurs caractéristiques physicochimiques. Les aérosols peuvent aussi être transportés par des microorganismes comme les bactéries, spores, virus etc. ce qui les place dans la catégorie des bioaérosols.

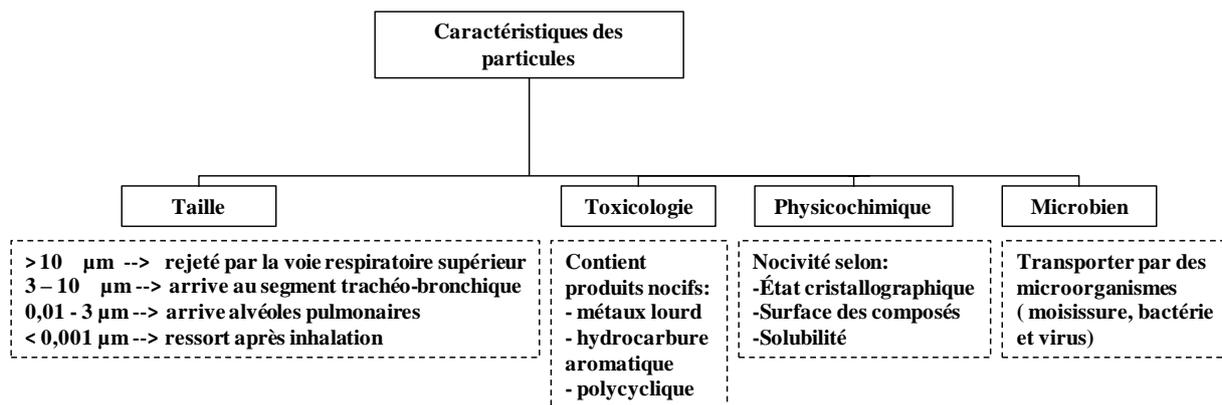


Figure 12: Caractéristiques des aérosols

## VII. Les bioaérosols et les maladies respiratoires

### i. Bioaérosols et classification

Les bioaérosols sont des particules aéroportées constituées d'organismes vivants tels que les bactéries, les virus, les pollens, les levures et les moisissures ou provenant d'organismes vivants par exemple des toxines, des microorganismes morts ou des fragments de microorganismes (Després et al., 2012). Les connaissances actuelles sur la diversité microbienne dans les installations de compostage sous forme d'aérosol sont largement axées sur les bactéries et les moisissures. Depuis plus d'une décennie, les actinomycètes, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp.* ont été reconnus comme les microorganismes cultivables dominants dans les bioaérosols (Fischer et al., 1999; Hryhorczuk et al., 2001; Kämpfer et al., 2002; Millner et al., 1980; Ryckeboer et al., 2003). Les bioaérosols proviennent de toute surface naturelle ou artificielle et chaque source donne naissance à un assemblage entièrement unique de bioaérosols. L'air contient un nombre significatif de microorganismes, agissant comme un moyen pour leur transmission ou leur dispersion. L'inhalation, l'ingestion et le contact dermique sont les voies de l'exposition humaine aux microorganismes. L'exposition aux bioaérosols, contrairement à l'exposition aux produits chimiques, n'a pas de limites ou de seuil pour évaluer l'impact sur la santé (Srikanth et al., 2008).

### ii. Les bioaérosols viraux et les infections respiratoires

Parmi les bioaérosols, les virus sont d'intérêt particulier. Ces microorganismes de taille variant entre 17 nm et 1  $\mu\text{m}$  (Legendre et al., 2014; Tischer et al., 1986) peuvent être aérosolisés. Il est distingué différents types de virus responsables de pathologies diverses chez l'homme. La

Figure 13 montre un exemple des virus qui peuvent causer différents types d'infections (respiratoires, neurologiques, gastro-entérites...) (Segondy, 2007).

**Infections respiratoires:**

**Rhinite, rhinopharyngite, pharyngite**  
Rhinovirus, coronavirus, VRS, adénovirus, virus parainfluenza

**Trachéo-bronchite**  
VRS, Virus parainfluenza, virus influenza

**Otite moyenne aiguë**  
VRS, rhinovirus, adénovirus, entérovirus, virus influenza

**Bronchiolite**  
VRS, metapneumovirus, Virus parainfluenza, virus influenza

**Angine**  
EBV, HSV, adénovirus, coxsackie A

**Pneumonie**  
VRS, metapneumovirus, virus influenza, adénovirus, morbillivirus, CMV, VZV

**Laryngite**  
VRS, Virus parainfluenza, virus influenza

**Atteintes neurologiques:**

**Méningites**  
Entérovirus ( coxsackie A, B, echovirus), virus ourlien

**Encéphalites**  
HSV-1, rougeole, rubéole, oreillons, varicelle, arbovirus

**Myélites**  
Poliovirus, VZV, CMV, EBV, rubéole

**Polyradiculonévrite aiguë**  
CMV, EBV, VZV

**Gastro-entérites:**

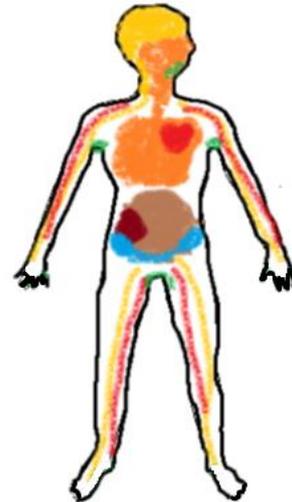
Rotavirus, adénovirus, norovirus, astrovirus

**Hépatites virales:**

Hépatite A, B, C, D, E, CMV, EBV, HSV

**Atteintes rénales:**

Virus Hantaan, fièvre jaune, HBV, HCV



**Atteintes cardiaques:**

Entérovirus ( coxsackie B), adénovirus, grippe, EBV

**Atteintes hématologiques:**

Parvovirus B19

**Atteintes vasculaires:**

HBV

**Atteintes glandulaires:**

Grippe, EBV, oreillon, coxsackie B

**SIDA:**

HIV-1, HIV-2

**Fœtal et néonatal:**

CMV, VZV, rubéoles, parvovirus B19

**Virus et cancer:**

HPV, EBV, HHV-8

**Syndromes fébriles:**

**Syndrome mononucléosique**  
EBV, CMV, VIH, HSV, varicelle, adénovirus, rubéole

**Syndrome fébrile et algique**  
Grippe et arbovirus  
Fièvres éruptives

**Fièvres hémorragiques**  
Ebola, virus de la fièvre de Lassa, virus Haantan

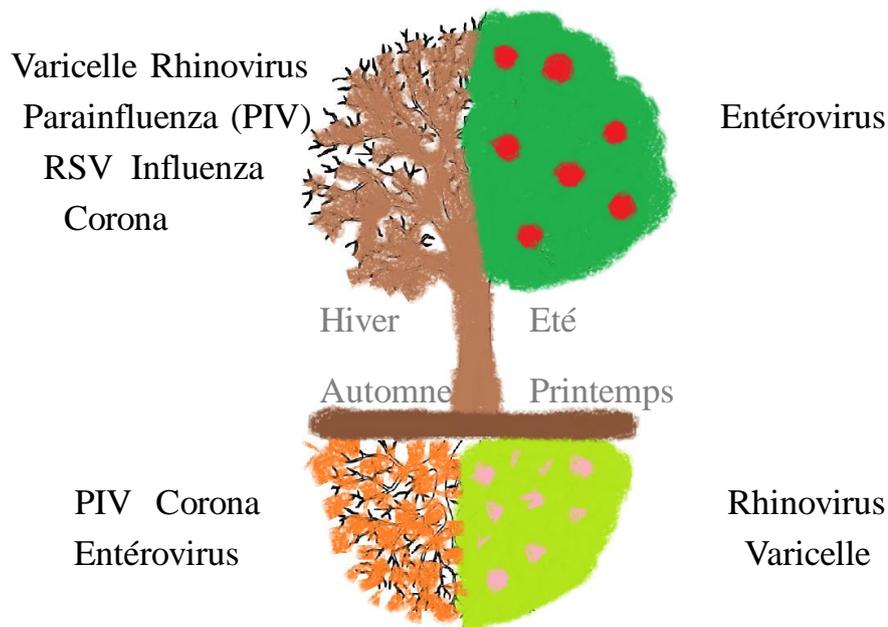
**Éruption maculo-papuleuses**  
Rougeole, rubéole, Parvovirus, HHV-6

**Éruption vésiculeuses**  
HSV-1, HSV-2, VZV

**Éruption pustuleuses**  
HSV-1, HSV-2, VZV

**Figure 13: Différent types de virus avec différents types d'infections (adapté de (Segondy, 2007)**

Les infections respiratoires d'origine virale représentent un enjeu majeur de santé publique en raison de leur contagiosité. La mortalité est rare dans les pays développés alors que pour les pays moins développés la mortalité peut atteindre jusqu'à 5 millions d'enfants de moins de 5 ans par an (Kesson, 2007). Les infections virales respiratoires sont les infections les plus courantes rencontrées chez les enfants. Ces maladies entraînent souvent un absentéisme de l'école et un coût socio-économique important pour la société (visites médicales, médicaments, absentéisme des parents, ...). Les infections respiratoires sont rythmées par les saisons. La Figure 14 montre les répartitions de certains virus respiratoires selon les 4 saisons de l'année (Kesson, 2007; Treanor and Falsey, 1999).



**Figure 14: Répartitions des virus respiratoires selon les saisons (adapté de Kesson, 2007; Treanor and Falsey, 1999))**

### iii. Les virus respiratoires

On distingue différents virus respiratoires qui touchent différentes parties de l'appareil respiratoire et leurs infections peuvent varier d'une infection virale banale vers une infection virale grave et peuvent aussi conduire à des épidémies. La Figure 15 montre la description de quelques virus respiratoires comme le virus influenza, parainfluenzavirus, adénovirus, rhinovirus etc. (Kesson, 2007; Treanor and Falsey, 1999). Ces virus respiratoires sont classés selon une taxonomie bien définie avec des caractéristiques différentes au niveau de la capsid, de la nature du génome (ARN / ADN) et leurs techniques de détection ... Ces virus peuvent conduire à des maladies respiratoires différentes qui peuvent varier entre maladies respiratoires des voies supérieures, inférieures, pneumonie et bronchite.

Nom du virus	Classification	Capside	ADN/ARN	Caractéristique	Detection	Maladie
Parainfluenzavirus (PIV)				4 types: PIV1,2,3,4	DIF, RT-PCR	PIV3: Bronchite, pneumonie PIV4: maladie respiratoire supérieure
Respiratory Syncytial virus (RSV)	Famille : Paramyxoviridae Genre: Pneumovirus	Enveloppé	ARN SB - non segmenté	2 sous-groupe: RSV-A,B	IF, EIA	Maladie respiratoire inférieure, bronchites pneumonie
Influenza Virus	Famille : Orthomyxoviridae genre: influenza virus	Enveloppé 16 Hémagglutinine 9 Neuraminidase	ARN segmenté	3 type : A, B, C	RT-PCR, ELISA	Maladie respiratoire supérieure, bronchites pneumonie
Adenovirus		non enveloppé icosaèdre avec fibre projeté verticalement	ADN DB linéaire	52 sérotypes	IF, PCR, ELISA, immunochromatographie	Maladie respiratoire supérieure et inférieure
Rhinovirus	Famille: Picornaviridae	non enveloppé	ARN SB +	100 sérotypes	DIF, RT-PCR, EIA	Rhume, otite, média, pneumonie
Coronavirus	Famille: Coronaviridae Genre: Coronavirus	Enveloppé Nudéocapside hélicoïdal	ARN SB +		IF, ELISA, RT-PCR	Rhume, maladie respiratoire supérieure
Human metapneumovirus (hMPV)	Famille: Paramyxoviridae Genre: Metapneumovirus			Filamenteux	DIF, RT-PCR	Maladie respiratoire inférieure



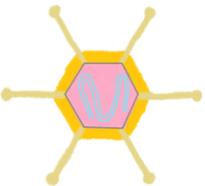
**Virus Influenza**



**Parainfluenzavirus (PIV)**



**Respiratory syncytial virus (RSV)**



**Adénovirus**



**Rhinovirus**



**Coronavirus**



**Human metapneumovirus (hMPV)**

**Figure 15 : Description de quelques virus respiratoires**

#### iv. Mode de transmission des virus respiratoires

Une étude publiée par l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (AFSSET, 2009) ayant pour objet « Évaluation du risque sanitaire pour l'homme lié à la présence de virus Influenza pandémique dans l'air des bâtiments et à sa propagation éventuelle par les dispositifs de ventilation » montre différents modes de transmission des virus grippaux.

Selon l'étude, la plupart des virus respiratoires sont facilement transmissibles, par un contact direct, par gouttelettes ou par aérosolisation. Par exemple, la Figure 16 regroupe les principaux modes de transmission des virus grippaux.

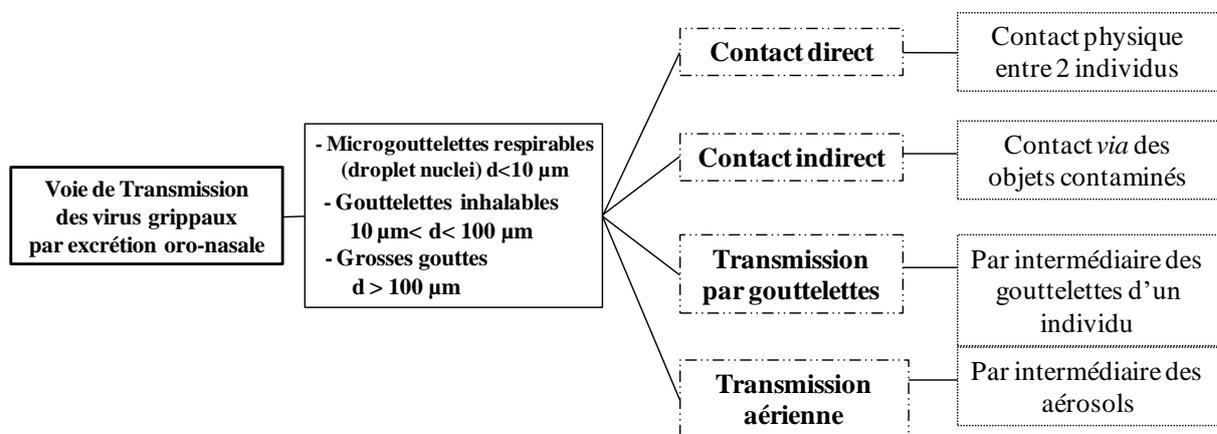
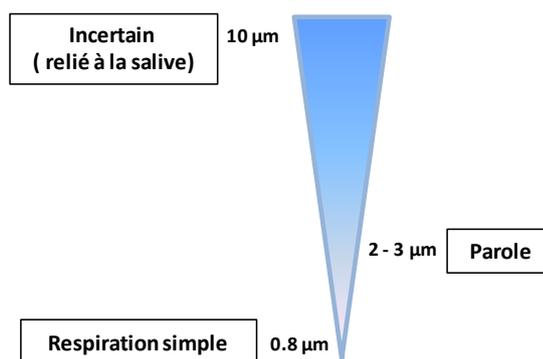


Figure 16: Mode de transmission des virus grippaux

Notre sphère oro-pharyngée émet trois différentes tailles de particules (Figure 17). La vitesse moyenne des particules expectorées lors d'une toux est de  $11 \text{ m. sec}^{-1}$  (soit  $40 \text{ km. h}^{-1}$ ) et peut atteindre un max de  $22 \text{ m. sec}^{-1}$  (soit  $80 \text{ km. h}^{-1}$ ). Plus les particules expulsées sont petites (diamètre inférieur à  $30 \mu\text{m}$ ) plus elles envahissent rapidement la pièce. Les particules supérieures ou égales à  $200 \mu\text{m}$  se déposent sur un rayon de 2m. Avec une taille inférieure à  $1 \mu\text{m}$ , l'évaporation est rapide. Une toux émet à peu près 7 mg de particules inférieures à  $2 \mu\text{m}$  dont 3% submicroniques et l'air expiré contient 95% de particules submicroniques (AFSSET, 2009). La figure 17 montre la granulométrie des particules expulsées de la sphère oro-pharyngée. Elle varie entre  $0,8 \mu\text{m}$  pour une simple respiration à 2 à  $3 \mu\text{m}$  lors de la parole et peut atteindre une taille de  $10 \mu\text{m}$  suite à la présence de la salive expectorée. Les caractéristiques des particules émises par les voies respiratoires sont définies par leur **concentration** et leur **granulométrie** telles que montrées dans le Tableau 5.



**Figure 17: Granulométrie des particules expulsés de la sphère oro-pharyngée**

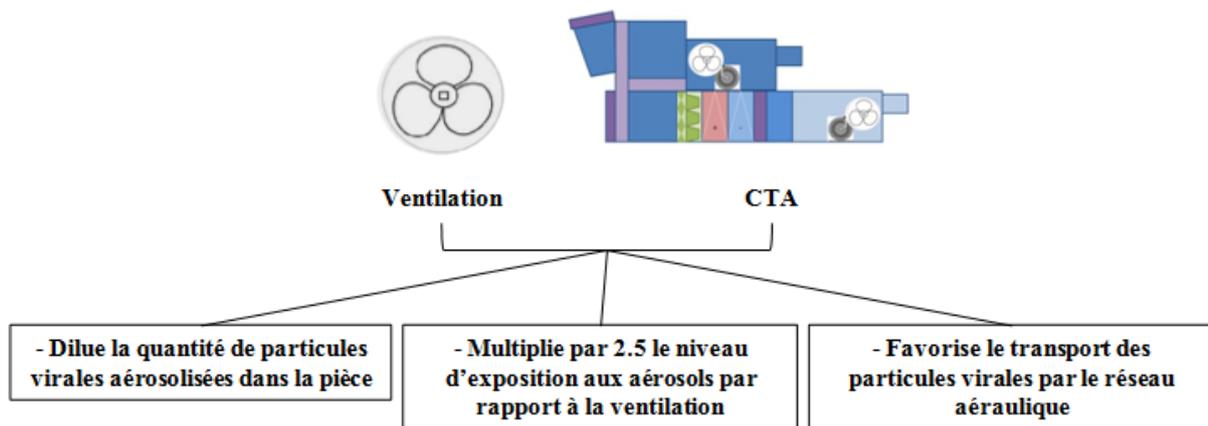
Concentration des particules émises		
	Nb de particules	Diamètre des particules
<b>Respiration simple</b>	10 à 10 <sup>4</sup> / litre d'air	< 1 µm (prédominant)
<b>Parole</b>	1 à 5000 min <sup>-1</sup>	≤ 60 µm
<b>Toux générée</b>	10 <sup>3</sup> à 10 <sup>4</sup>	0.5 – 30 µm
<b>Éternuement générée</b>	10 <sup>6</sup>	0.5 – 16 µm

**Tableau 5: Concentration et granulométrie des particules émises par les voies respiratoires (Fabian et al., 2008; Morawska, 2006; Tang et al., 2006)**

Lors d'une respiration normale un individu infecté expire de 3 à 20 génomes de virus grippaux par minute (Fabian et al., 2008). Le nombre de génomes augmente lors de toux et d'éternuements si la proportion de particules infectées reste constante. Avec le virus coxsackie, une émission pouvant atteindre jusqu'à 160 particules virales lors d'une toux ou d'éternuement a été observée. Des personnes infectées génèrent de l'ordre de 0,1 à 10 virus par litre d'air par heure dans une pièce de quelques dizaines de m<sup>3</sup>. Dans 2 études, il a été montré qu'une simple respiration de 2 individus infectés dans un bureau de 40 m<sup>3</sup> sans éternuement ou toux, émet 20 virus par minute. Si on calcule pour 4 heures dans cette pièce, on trouve une concentration de  $(2 \times 240 \times 20) / 40 \times 1000 = 0,24$  virus par litre d'air (sans renouvellement d'air) (Couch et al., 1966; Downie et al., 1965).

**v. Rôle des HVAC dans la propagation des particules virales.**

Les systèmes de ventilation et les centrales de traitement d'air peuvent conduire à la propagation et au transport des particules virales à l'intérieur des bâtiments (Figure 18) (AFSSET, 2009). Dans cette étude, il a été montré que ces 2 systèmes ont la capacité de favoriser le transport des bioaérosols et de diluer la quantité des particules virales (influenza virus) dans la pièce.



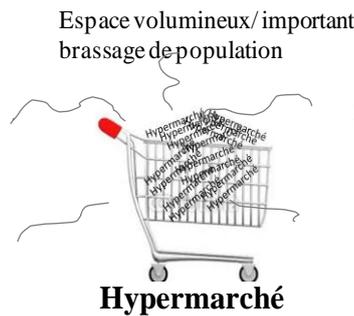
**Figure 18: Rôle de la ventilation et les centrales de traitements d'air à propagation des particules virales**

L'étude effectuée par AFSSET, (2009) a évalué le risque de transmission du virus *Influenza* pandémique par les systèmes de ventilation dans les hypermarchés, les immeubles de bureaux et les habitats collectifs. Elle montre l'influence de différents types de ventilation sur le risque de transmission du virus influenza (Figure 19). L'hypermarché est un espace volumineux avec un important brassage de population sans aucune restriction d'accès des personnes infectées. Les zones de risques ont été identifiées aux files d'attente et aux caisses. Une suppression du recyclage d'air induit une diminution de la concentration des particules virales mais entraîne aussi une diminution de la température et de l'humidité. Cela favorise la transmission virale (Figure 19a). Au sein des immeubles de bureaux il a été observé qu'une faible présence humaine engendre moins de risque de contamination. Une ventilation mécanique à flux simple ou double conduit à une minimisation du risque de transmission virale alors que l'absence de ventilation mécanique conduit à une augmentation de risque qui peut être compensée par une ventilation naturelle. En présence des centrales de traitement d'air le risque de transmission diminue mais varie avec la présence ou l'absence du recyclage de l'air (Figure 19b). En ce qui concerne les habitats collectifs, une ventilation mécanique à simple ou double flux est conseillée pour diminuer le risque de transmission virale (Figure 19c).

a)

Emissions virales certaines (pas de restriction d'accès des personnes infectées)

Favorise le transport et la propagation potentielle du virus



Zone de risque

File d'attente et postes de caisse

Suppression du recyclage d'air →

Diminution de concentration des particules virales

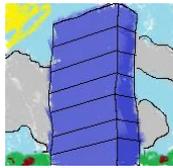
↳ Temperature et humidité → Transmission virale ↗

b)

Risque moins important dans immeubles bureaux (faible concentration humaine)

Ventilation mécanique simple flux:

- Minimisation du risque de transmission de proximité
- Dilution des particules virales



**Immeuble de bureaux**

Absence de ventilation mécanique:

Recommandation d'ouvrir les fenêtres et fermer les portes → dilution virale ↗ et limite de propagation

Centre de traitement d'air:

-Avec recyclage: ↳ de transmission à proximité

- Sans recyclage: ↳ débit d'air renouvelé ↗ risque de transmission

Ventilation mécanique double flux:

- ↳ de transmission à proximité
- Pas de dispersion virale autres lieux

c)

Ventilation naturelle:

Ouverture des fenêtres

→risque de transmission positive



**Habitat collectif**

VMC simple flux:

↳ risque de transmission

VMC double flux:

↳ risque de transmission

Attention au obstruction des orifices

d'évacuation → déséquilibre

**Figure 19: Influence de différents types de ventilations sur le risque de transmission du virus influenza d'après AFSSET (2009)**

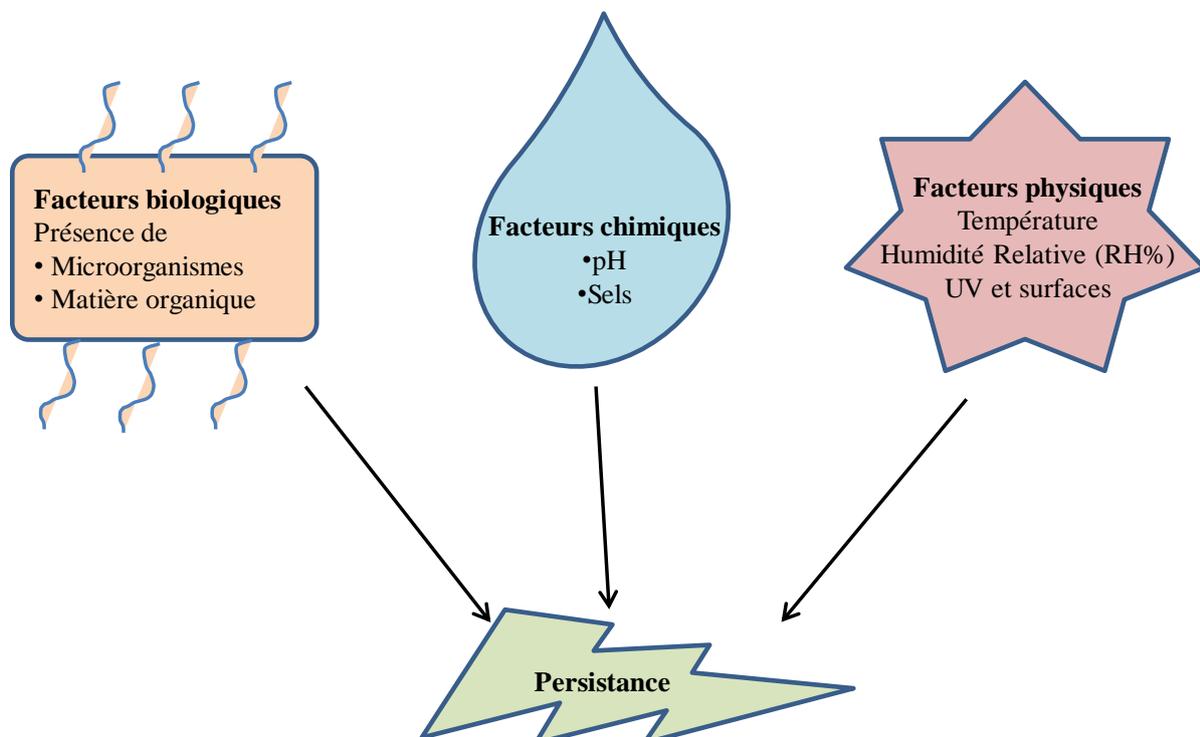
Dans l'étude de Theodore A. Myatt et al., (2004) l'air dans les bureaux a été échantillonné durant une journée de travail (9 heures à 17 heures). Ces auteurs ont montré que les occupants de bâtiments à faible apport d'air extérieur peuvent présenter un risque accru d'exposition à des gouttelettes infectieuses émanant d'un collègue occupant le bâtiment. De plus, 212 filtres ont été collectés en 47h. Sur 181 filtres analysés, 58 sont contaminés par des picornavirus. Les picornavirus étaient les virus le plus couramment détectés (59 % d'échantillons positifs), suivis par les coronavirus (24 %) et les virus para-influenza (< 17%). La revue de Li et al., (2007) décrit différentes études sur la détection de fragments d'ARN de rhinovirus dans le système de ventilation des immeubles de bureaux et sur l'épidémie de SRAS et le lien entre la ventilation et les particules infectieuses en suspension dans l'air. Certaines études récentes ont révélé la détection de bactéries aéroportées et de certains virus spécifiques sur les filtres HVAC dans une garderie (Prussin et al., 2016) et dans de grands bâtiments publics (Goyal et al., 2011).

La morbidité imputable aux infections respiratoires virales est énorme avec une estimation de 500 millions d'épisodes médicaux survenant aux États-Unis chaque année, résultant en 20 millions de journées de travail perdues chez les adultes et 22 millions de jours d'école manqués par les enfants. Les écoles sont la principale source des épidémies communautaires d'infections respiratoires (T. A. Myatt et al., 2004).

## VIII. Les conditions de persistance des virus respiratoires

Les virus, au contraire de la plupart des autres agents infectieux, n'ont pas de potentiel propre de multiplication. Ils constituent une forme très élaborée de parasitisme et ne peuvent se reproduire qu'au sein de cellules vivantes et ne peuvent persister que dans des conditions bien précises et propres à chaque virus.

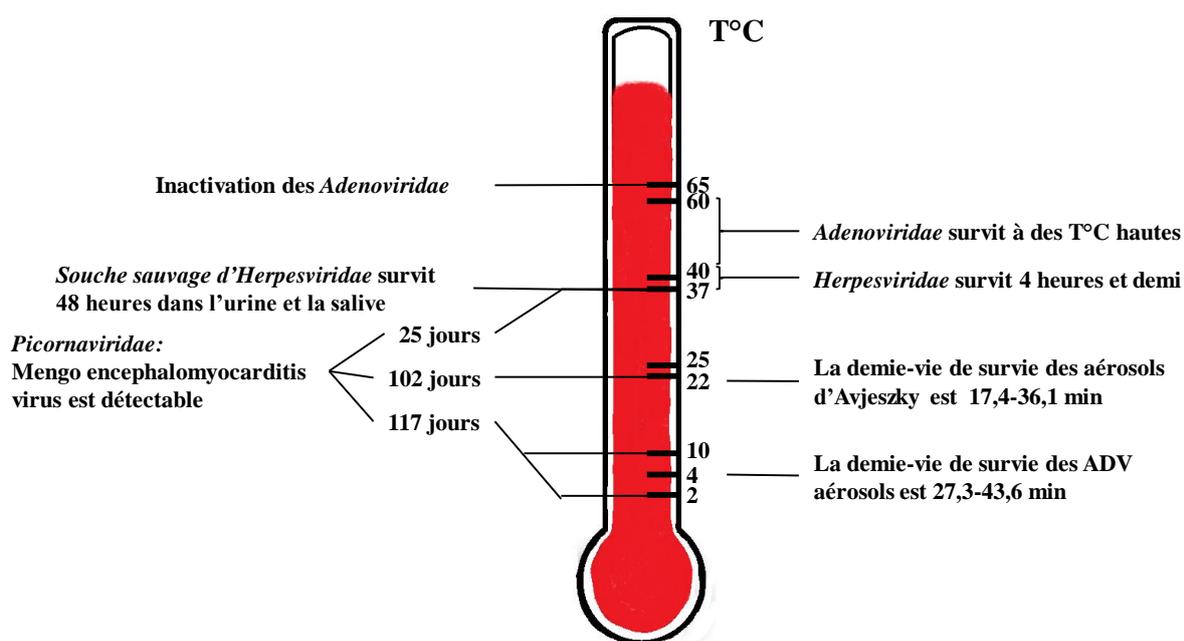
Plusieurs études ont été réalisées sur les conditions de persistance des virus dans l'air mais ces études remontent aux années 1970 et 1990. Il a été identifié différentes conditions qui influent sur le devenir des virus comme par exemple la température, l'humidité relative (RH), le pH, des facteurs biologiques ... (Figure 20)



**Figure 20: Facteurs généraux affectant la persistance du virus dans l'environnement adapté de Vasickova and Kovarcik, (2013)**

### **i. Effet de la température et l'humidité relative (RH)**

Selon l'étude de l'AFFSET (2009), plus la température et l'humidité diminuent plus la persistance des virus grippaux augmente. Par exemple pour une température comprise entre 20 et 25°C et 20% de RH, on observe une persistance plus grande qu'à 50 % RH. La persistance diminue avec une augmentation d'humidité jusqu'à 80%. Pour les virus de la grippe A, du point de vue quantitatif, à une température fixe de 21°C et 20% RH après 1 h, on a une perte de pouvoir infectieux inférieur à 1 log alors qu'elle est de 2 logs à 50% de RH (Schaffer et al., 1976). L'étude de Harper, (1961) montre qu'à 30-40% de RH et à 20-24°C, il n'est trouvé que 14% des particules virales présentant un pouvoir infectieux après 23h d'aérosolisation. Avec une humidité de 50%, les particules virales sont plus résistantes à 5°C qu'à 20°C. Le mengovirus présente une inactivation rapide à un taux de RH compris entre 40 et 60 % (Songer, 1967). Le polio, l'influenza et virus de l'encéphalite équine du Venezuela (VEE) résistent mieux aux basses températures. Le virus de la grippe et le VEE survit à une RH de 20% alors que le virus polio survit à 70% entre 10 et 30°C. Le virus de la maladie de Newcastle (NDV) et le virus de la stomatite vésiculaire (VSV) survivent mieux à 10% RH à 23°C. Pour le virus de la rhinotrachéite bovine infectieuse (IBR) et les bactériophages, la survie est meilleure à 90% de RH et à 23°C (Akers et al., 1966). Les aérosols des picornavirus sont rapidement inactivés à un RH entre 40 et 60 %. Le virus de la leucémie Rausher (RLV) est rapidement inactivé à 24°C et 35% RH mais ces virus restent infectants jusqu'à 35 min. La stabilité des aérosols du virus du sarcome de Rous (RSV) dépend fortement de la présence de divers composés tels que des sels, des protéines, ou des glucides utilisés dans des milieux de suspension de virus. Le virus de la rhinotrachéite bovine infectieuse survit généralement mieux dans une solution de viscosité élevée, ce qui pourrait réduire le taux d'évaporation et de la haute teneur en protéines (Akers et al., 1973; Elazhary and Derbyshire, 1979). La Figure 21 montre l'effet de la température sur la persistance et l'inactivation des virus de famille *Adenoviridae*, *Herpesviridae* et *Picornaviridae* (Akers et al., 1966; Pirtle and Beran, 1991).



**Figure 21: l'effet de la température sur la persistance et l'inactivation des virus**

Le Tableau 6 montre la persistance et la durée de pouvoir infectieux des virus grippaux en fonction de la température et l'humidité relative (Weber and Stilianakis, 2008).

Humidité relative	Température	Taux d'inactivation (par jour)
50		96 – 312
70		62 – 166
20		20
80 – 90		400
23 – 25	7 - 8	0,34
51	7 - 8	1,25
82	7 - 8	3,6
20 – 22	20,5 - 24	1,22
50 – 51	20,5 - 24	13,9
81	20,5 - 24	19
20	32	4,1
49 – 50	32	17,3
81	32	60,7
50, 65, 80	21 - 24	16,85
20, 35	21 - 24	1,58 – 2,05

**Tableau 6: Estimation de l'inactivation du virus influenza en fonction de la température et RH (adapté de (Weber and Stilianakis, 2008))**

Comme on peut le voir au travers de ces différentes études ci-dessus, la résistance des virus en fonction de la température et l'humidité relative est très variable entre espèces.

## ii. Effet de la surface et l'Ultra-violet (UV)

Les différents types de surfaces solides peuvent également jouer un rôle sur la persistance des virus. Une étude a montré la survie du virus de la grippe sur les billets de banque (Thomas et al., 2008). La principale matière brute des billets de banque est le coton recouvert d'une résine qui les rend inhospitaliers pour les agents biologiques mais ils peuvent être un vecteur d'infection. La durée de l'infectiosité de l'influenza A sans mucus est comprise entre 1 heure avec une faible concentration de virus ( $1,1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>. ml<sup>-1</sup>) et peut atteindre jusqu'à 2 jours avec une concentration élevée ( $8,9 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>. ml<sup>-1</sup>) (Thomas et al., 2008). L'étude de Pirtle and Beran, (1991) a suivi la survie des virus dans l'environnement (

Tableau 7). Ils ont montré que les *Orthomyxoviridae* (influenza A et B) peuvent survivre sur une surface dure pendant 24 à 48h alors qu'ils ne peuvent survivre qu'entre 8 et 12h une surface poreuse. La même étude a montré que les *Paramyxoviridae* comme le virus respiratoire syncytial (RSV), peuvent survivre une heure et demie sur des gants en caoutchouc, 6h sur des comptoirs, 30 à 45 min sur des papiers et des vêtements et 20 min sur la peau. Les virus parainfluenza de type 1, 2 et 3 peuvent survivre 10h sur des surfaces nanoabsorbantes et 4h sur des surfaces absorbantes (Pirtle and Beran, 1991). Cette étude a démontré que la surface à un effet sur la persistance des virus.

Virus	Type de supports	Temps de conservation du pouvoir infectieux
	(A 28°C et 35% à 49% d'humidité relative)	
<i>Orthomyxoviridae</i>	Surfaces non poreuses	24 à 48 h
	Surfaces poreuses	8 à 12 h
<i>Paramyxoviridae</i>	Gants en caoutchouc	30 min
	Comptoir	6 h
	Papier et vêtement	30 à 45 min
	Peau	20 min
Parainfluenza de types 1, 2 et 3	Surface nanoabsorbante	10 h
	Surface absorbante	4 h

Tableau 7: Temps de conservation du pouvoir infectieux virale sur différent support d'après (Pirtle and Beran, 1991)

La revue de Gerba, (2013) révèle qu'il existe un comportement d'inactivation différent entre les virus respiratoires et les virus entériques sur les surfaces. Les principaux résultats de l'étude montrent que les virus respiratoires non enveloppés peuvent survivre plus longtemps que les virus enveloppés. Par exemple, le rhinovirus (virus non enveloppé) montre un taux d'inactivation de 0,25 log<sub>10</sub> h<sup>-1</sup> alors qu'il est de 0,625 log<sub>10</sub> h<sup>-1</sup> pour le virus respiratoire syncytial (virus enveloppé). Le

Tableau 8: Taux d'inactivation des virus sur les surfaces adapté de Gerba, (2013) montre le taux d'inactivation des virus respiratoires et entériques sur les surfaces selon l'étude de Gerba, (2013).

<b>Virus</b>	<b>Inactivation rate (log 10 /hour)</b>
<b><i>Respiratory viruses</i></b>	
<b>Avian influenza</b>	0.0138
<b>Influenza A</b>	0.0278
<b>Influenza B</b>	0.0417
<b>Cornavirus-229E</b>	0.167
<b>Cornavirus-OC43</b>	0.2
<b>Rhinovirus 14</b>	0.25
<b>Parainfl uenza</b>	0.5
<b>Respiratory syncytial virus (RSV)</b>	0.625
<b><i>Enteric viruses</i></b>	
<b>Astrovirus 4</b>	0.0025
<b>Hepatitis A virus</b>	0.00278
<b>Adenovirus 40</b>	0.011
<b>Poliovirus type 1</b>	0.01
<b><i>Coliphage</i></b>	
<b>P22</b>	0.0379
<b>MS-2</b>	0.0062

**Tableau 8: Taux d'inactivation des virus sur les surfaces adapté de Gerba, (2013)**

L'étude de Pyankov et al., (2012) a évalué que l'inactivation de 60% du virus de la grippe (H1N1 et H5N1) en suspension dans de l'air ambiant se produisait pendant les 30 premières minutes de l'aérosolisation. La même étude démontre l'effet inactivateur des rayons ultraviolets sur H3N1 influençant la survie et donc l'infectiosité du virus (Pyankov et al., 2012). Cependant certains virus sont moins sensibles aux UV, c'est le cas des adénovirus (Vasickova et al., 2010). Les conditions climatiques rencontrées en hiver, telles que la faible humidité relative, due au chauffage artificiel qui sèche l'air, à une température moyenne de 20°C et à un appauvrissement des rayons UV, expliqueraient l'impact des infections grippales d'hiver. Ainsi, la période pendant laquelle la survie du virus dans l'air est optimale correspond à une plus grande période de morbidité grippale (Sagripanti and Lytle, 2007). Lors de la présence des virus sur les surfaces, ils peuvent avoir une certaine interaction avec d'autres microorganismes qui peuvent être attaqués et inactivés ou peuvent les protéger de la dessiccation et de la désinfection (Vasickova et al., 2010).

### **iii. Effet biologique**

Selon l'étude bibliographique de Vasickova and Kovarcik, (2013), il existe des facteurs biologiques affectant la persistance virale impliquant également d'autres microorganismes présents dans l'environnement. Les bactéries ou les champignons microscopiques peuvent attaquer et inactiver les particules virales par des actions directes ou indirectes. Par exemple, les microorganismes produisent des métabolites tels que les enzymes protéolytiques, qui affectent négativement les virus. En fait, certains isolats environnementaux de bactéries peuvent utiliser des protéines virales et des acides nucléiques comme source nutritive. En outre, certaines bactéries peuvent produire des substances avec une activité antivirale, mais dont le poids moléculaire est si faible qu'ils ne peuvent pas agir enzymatiquement.

## **IX. Coût et contexte en santé publique**

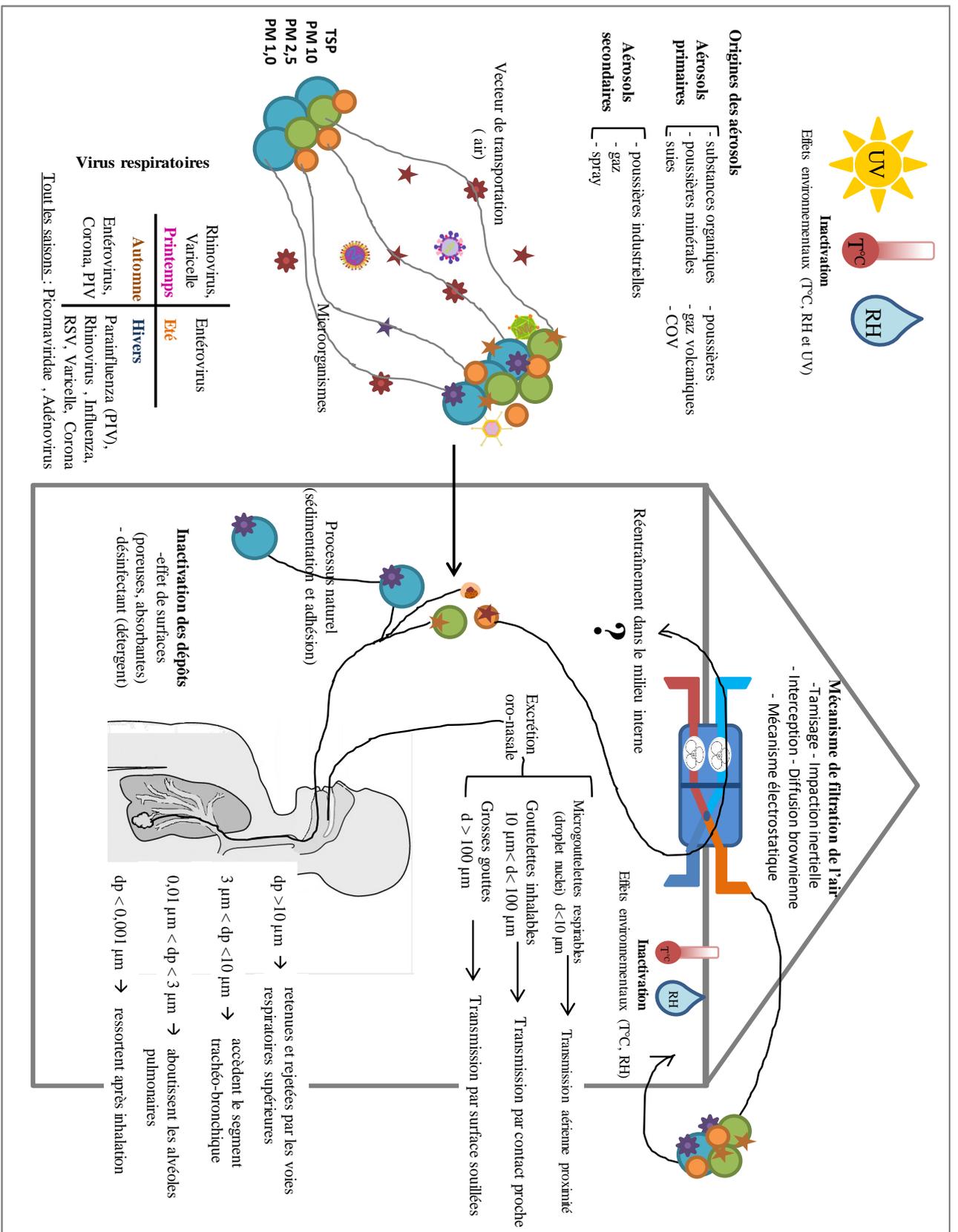
Les infections respiratoires virales (VRI) représentent les maladies infectieuses les plus répandues aux Etats-Unis et sont associés à des coûts directs et indirects considérables, ainsi qu'à une altération de la qualité de la vie. Les maladies virales exercent leur impact majeur sur la morbidité, les troubles de la santé, la baisse de productivité, la perte de temps au travail et à l'école, et le coût des soins médicaux. La durée médiane de la maladie est de 7 jours, mais les symptômes durent jusqu'à deux semaines dans 25 % des cas. Des données récentes ont suggéré que le coût total des infections respiratoires aux États-Unis est, de façon conservatrice, de 25 milliards de dollars pour les coûts directs et indirects (Bauman, 2000; Bertino, 2003). Environ 500 millions d'épisodes de VRI se produisent chaque année aux États-Unis, dont 84 millions de visites ambulatoires pour les infections respiratoires aiguës. Sur les 76 millions qui sont gérés par des prestataires de soins de santé primaires (90%) : 25 millions de visites interviennent pour une infection des voies respiratoires supérieures (URI), 13 millions pour l'otite moyenne, 14 millions pour la pharyngite, 13 millions pour la bronchite, et 11 millions pour la sinusite. En outre, les données d'une enquête menée en 1996 par le Center for Disease Control and Prevention (CDC) / National Center for Health Statistics ont montré que les infections virales ont entraîné 148 millions de jours d'activité restreinte, près de 23 millions de journées de travail perdues, 26 millions de jours d'école perdus et 45 millions de jours avec morbidité (arrêt maladie). Aux États-Unis, les rhumes représentent 21 millions de visites et 12 millions de prescriptions médicales par an, pour un coût estimé en 1994 de 37,5 millions de dollars pour les médicaments contre le rhume seul. Le coût personnel pour le patient représente

la diminution de la qualité de la vie pour la durée du rhume et d'inquiétude pour les parents de l'enfant malade. Les VRI ont un effet significatif tout au long de l'année en termes de perte de temps de travail, d'absentéisme à l'école, d'augmentation des visites au cabinet du médecin, et d'impact sur la santé et sur le coût de la thérapie médicamenteuse (Bauman, 2000; Bertino, 2003). Des données récentes (avril 2015) ont suggéré que le coût des principales maladies respiratoires pour le système de santé français (maladie pulmonaire obstructive chronique, bronchite chronique ...) et les hospitalisations inhérentes à la pollution atmosphérique se situent entre 0,9 et 1,8 milliard €. an<sup>-1</sup>. Par exemple, le coût total des infections respiratoires en France pour la maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC) est compris entre 3861,5 et 7914,3€. patient<sup>-1</sup>. an<sup>-1</sup> (Rafenberg, 2015).

## **X. Conclusion**

Dans ce chapitre bibliographique, les définitions et les généralités concernant les aérosols à partir de la pollution atmosphérique de la mégapole jusqu'aux aérosols viraux ont été présentées. De plus, la synthèse de quelques études concernant la qualité de l'air intérieur, les bioaérosols plus précisément les aérosols viraux avec leur détection, leurs conditions de survie et leurs effets sur la santé publique et leurs coûts engendrés ont été discutés. Enfin, une synthèse a décrit la théorie de la filtration, les systèmes de ventilation et la problématique associée à la présence des aérosols viraux dans ces systèmes.

Cet état de l'art est illustré par un schéma descriptif qui montre les principaux points du cycle de vie d'un (bio)aérosol dès sa formation jusqu'au son trajet pour atteindre l'organisme humain en passant par les effets d'inactivation et les mécanismes de filtration (Schéma 1).



**Schéma 1 : Illustration descriptif du cycle de vie des (bio)aérosols**

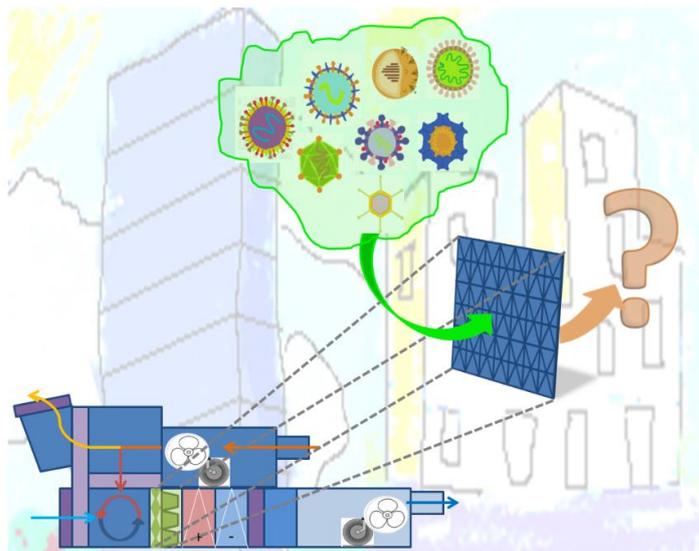


## Les objectifs

Ces dernières années, nous avons vu les avantages des efforts déployés dans le développement de techniques de traitement de l'air intérieur et de l'évolution de la connaissance de l'écologie microbienne des bioaérosols, qui peuvent jouer un rôle important dans la santé humaine. L'écart entre ce que nous savons et ce que nous aimerions savoir dans ce domaine de recherche reste assez important. Peu d'études ont été effectuées sur les aérosols viraux et on ne trouve pas une bibliographie complète sur ce sujet qui reste un des sujets importants préoccupant les autorités de la santé publique. L'objet principal de ce travail est d'essayer d'explorer le domaine de bioaérosols viraux et de présenter de nouvelles informations sur la survie des virus dans les environnements intérieurs et leur devenir dans les centrales de traitement de l'air.

Les travaux au cours de cette thèse ont été menés avec diverses approches, ayant pour objectifs :

- Elaboration d'une revue bibliographique pour recadrer cette thèse dans le contexte de l'effet des bioaérosols viraux dans les environnements intérieurs sur la santé publique (Chapitre 2)
- Description et proposition d'une démarche scientifique pour répondre à l'objectif principal de la thèse qui est de comprendre le devenir et la persistance des virus respiratoires ARN/ADN dans les centrales de traitement d'air au niveau des médias de filtration (Chapitre 3)
- Etudier la caractérisation et la survie des 2 virus ARN et ADN, mengovirus et adénovirus, sur les filtres F7 employé dans les CTA (Chapitre 4 et chapitre 5),





***Chapitre 2 : Effet des bioaérosols viraux dans les environnements intérieurs sur la santé publique (Revue bibliographique)***

---



## **Chapitre 2 : Effet des bioaérosols viraux dans les environnements intérieurs sur la santé publique (Revue bibliographique)**

Les bioaérosols viraux forment une partie moins explorée dans le domaine des bioaérosols. Il n'est pas trouvé beaucoup d'études qui ont travaillé sur les virus comme bioaérosols dans les milieux intérieurs. Le chapitre 2 de ce travail est consacré à un aperçu des principales études publiées sur la relation entre les bioaérosols viraux et la pollution de l'air intérieur/extérieur et leurs effets sur la santé publique.

En tant que contaminants de l'environnement extérieur et intérieur, les bioaérosols sont constitués de différents types de microorganismes tels que les virus, les bactéries et les champignons. Cette étude de la littérature se concentre sur les aérosols des virus respiratoires qui conduisent à des maladies et représentent un réel défi pour un avenir proche. De nombreux bâtiments créent un climat artificiel en utilisant des systèmes de chauffage, de ventilation et de climatisation pour réduire la concentration des particules de l'air extérieur et de l'intérieur. Certaines données recueillies montrent la relation entre la ventilation dans les environnements clos et la propagation des agents infectieux aéroportés. Certaines études ont révélé que ces systèmes peuvent être une source de contamination de l'air intérieur en raison d'un dysfonctionnement. Cette revue regroupe des études publiées sur le temps consacré par les humains dans des environnements confinés et le risque d'inter-contamination avec des bioaérosols viraux du fait de leur grande infectiosité. Ces problèmes d'inter-contamination sont associés directement et indirectement à la qualité de vie avec un impact majeur sur la morbidité, les problèmes de santé, la perte de productivité et le temps au travail et à l'école. Au cours des dernières années, le développement des techniques de traitement de l'air intérieur a été très avantageux pour la santé publique. À partir de l'analyse des données de la littérature, on peut révéler que quelques études ont travaillé sur la détection des bioaérosols viraux par les techniques moléculaires et sur leur inactivation selon différentes conditions comme la température, l'humidité relative et le support.

L'écart entre ce que nous savons et ce que nous aimerions savoir dans ce domaine reste cependant assez important. Le défi de s'informer sur les virus respiratoires dans les CTA révèle plusieurs idées à traiter :

- Etudier la persistance des virus eucaryotes sur les filtres des CTA
- Enquêter sur le devenir des virus après aérosolation selon leurs structures et l'espèce
- Trouver des solutions pour réduire le risque de transmission virale dans des environnements fermés

- Développer et normaliser un banc expérimental plus proche de la réalité pour étudier la propagation des virus eucaryotes dans des environnements fermés
- Améliorer les systèmes de ventilation et les CTA en réduisant la propagation des microorganismes infectieux dans l'air, ce qui aurait un impact important sur la santé publique et diminuerait la perte de temps et le coût du traitement médicamenteux.

# International Journal of Occupational and Environmental Health

## Review of indoor environments viral bioaerosols and public health effects

--Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	
<b>Full Title:</b>	Review of indoor environments viral bioaerosols and public health effects
<b>Article Type:</b>	Review
<b>Keywords:</b>	Urban air quality; bioaerosols; outdoor air; indoor air; respiratory viruses
<b>Corresponding Author:</b>	Victor BANDALY, PhD student IMT atlantique NANTES, Pays de loire FRANCE
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	IMT atlantique
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	Victor BANDALY, PhD student
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	Victor BANDALY, PhD student Yves ANDRES, Pr. Pierre LE CANN
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Abstract:</b>	<p>The megalopolis, urban air quality and the indoor pollution can lead to human health problems which are the most important topics that occupy health authorities. As potential contaminants, bioaerosols in the outdoor and indoor environment may consist of different types of micro -organisms such as viruses, bacteria, fungi ... People spend 90% of their time in enclosed spaces such as home, office, shopping centers, gymnasiums and transport. Aerosol virus transmission can be significant as respiratory viral infections which are one of the major public health with high infectivity. These viruses can persist in aerosols in different conditions; in addition, these respiratory viruses are associated direct and indirect to the quality of life with a major impact on morbidity, health problems, loss of productivity, loss of time at work and at school (148 million days of restricted activity, nearly 23 million lost working days in the United States), and the cost of medical care (25 billion dollars in direct and indirect costs in the US).The dynamic and the characteristic of the indoor bioaerosols is an important subject to discuss. This literature review gives an overview of main published studies on the association of indoor and outdoor air pollution with bioaerosols, more specifically viruses, which lead to respiratory diseases and presents the challenges for the near future on this topic.</p>

# Review of indoor environments viral bioaerosols and public health effects

Victor Bandaly<sup>1,2,3,\*</sup>, Yves Andres<sup>1</sup> and Pierre Le Cann<sup>2,3</sup>

*1 GEPEA- CNRS UMR 6144, IMT Atlantique, Nantes, 44000, France*

*2 EHESP, Rennes, 35000, France*

*3 IRSET- INSERM UMR 1085, Rennes, 35000, France*

## Abstract

The megalopolis, urban air quality and the indoor pollution can lead to human health problems which are the most important topics that occupy health authorities. As potential contaminants, bioaerosols in the outdoor and indoor environment may consist of different types of micro-organisms such as viruses, bacteria, fungi ... People spend 90% of their time in enclosed spaces such as home, office, shopping centers, gymnasiums and transport. Aerosol virus transmission can be significant as respiratory viral infections which are one of the major public health with high infectivity. These viruses can persist in aerosols in different conditions; in addition, these respiratory viruses are associated direct and indirect to the quality of life with a major impact on morbidity, health problems, loss of productivity, loss of time at work and at school (148 million days of restricted activity, nearly 23 million lost working days in the United States), and the cost of medical care (25 billion dollars in direct and indirect costs in the US). The dynamic and the characteristic of the indoor bioaerosols is an important subject to discuss. This literature review gives an overview of main published studies on the association of indoor and outdoor air pollution with bioaerosols, more specifically viruses, which lead to respiratory diseases and presents the challenges for the near future on this topic.

**Key words:** *Urban air quality; bioaerosols; outdoor air; indoor air; respiratory viruses*

---

\* Corresponding author. Tel. +33251858289, fax. +33251858199  
E-mail address: victor.bandaly@mines-nantes.fr

## 29 **Introduction**

30 An overview of main published studies on the relation between bioaerosols and indoor / outdoor  
31 air pollution was given in this literature review. As bioaerosols contaminants in the outdoor and  
32 indoor environment, different types of micro –organisms were distinguished such as viruses,  
33 bacteria, and fungi. This literature study focuses on respiratory viruses’ aerosols which lead to  
34 diseases and present a real challenge for the near future. Many buildings create an artificial  
35 climate using heating, ventilation and air-conditioning (HVAC) systems to reduce the  
36 concentration of the particles from the outside and inside air. Some studies revealed that HVAC  
37 can be a source of contamination of the indoor air due to a malfunction. This review shows  
38 published studies about time spends in closed environment and the risk of inter-contamination  
39 with viral bioaerosols with their high infectiveness. These problems of inter-contamination are  
40 associated directly and indirectly to the quality of life with a major impact on morbidity, health  
41 problems, and loss of productivity and time at work and at school. From the literature data  
42 analysis it could be revealed that the few studies concerning the detection of the viral bioaerosols  
43 and their inactivation depending on different conditions like the temperature, the relative  
44 humidity and the support. The gap between what we know and what we would like to know in  
45 this domain remains quite large.

### 46 ***1. Megalopolis pollution from 50 years ago to today***

47 Megalopolis pollution and urban air quality are two of the most important topics of concern to the  
48 sociological, economic and health authorities (Fenger, 1999). After the Second World War, an  
49 increase in the megalopolis pollution level was proportional to the increase in the population and  
50 in human activities. Recent epidemiological studies have shown that there is a relationship  
51 between particle exposure and the increase in mortality and hospital admissions for  
52 cardiovascular and respiratory diseases. The World Health Organization (WHO) estimates that air  
53 pollution is responsible for 3 million deaths per year in the world (WHO, 2016). The European  
54 directives on air quality (DIRECTIVE, 2008/50/EC) were set up to limit the amount of small  
55 particles in the air in order to protect human beings and the environment (Fenger, 2009). These  
56 European directives enable improvements in air quality. Concerning viral diseases, the  
57 emergence of the severe acute respiratory syndrome (SARS) in 2002 in Hong Kong, the fear of a  
58 highly global pathogenic flu pandemic and the recent outbreak of the Ebola virus in Guinea  
59 remain serious threats for human health and raise the question of viral transmission indoors  
60 (Suwantararat and Apisarnthanarak, 2015). Over the last 15 years, various epidemics caused by  
61 these respiratory diseases can be distinguished. 8,096 infections and 774 deaths were reported  
62 between November 2002 and December 2003 for the SARS in China. 1,075 cases of MERS-  
63 COV infection, including 404 deaths, were reported on 20<sup>th</sup> March 2015 with the majority of  
64 cases in the Kingdom of Saudi Arabia (KSA). 571 infections of avian influenza A, including 212  
65 deaths, were confirmed on 23<sup>rd</sup> February 2015 from China, Taiwan, and Malaysia. Lastly, the  
66 epidemic caused by the Ebola virus, involving 24,666 cases and including 10,179 deaths, was

67 reported in Guinea, Liberia and Sierra Leone on 18<sup>th</sup> March 2015 (Suwantararat and  
68 Apisarnthanarak, 2015). In numerous epidemiological studies focusing on respiratory diseases,  
69 mortality and morbidity are found to be the result of short- and long-term exposure to air  
70 pollution.

## 71 **2. Indoor pollution**

72 Indoor pollution concerns all closed environments such as homes, workplaces, transport and  
73 gyms. In these closed environments, many sources of toxic pollutants causing harmful long- or  
74 short-term effects on human health can be found. Different types of indoor pollutants with  
75 different emission sources can be distinguished, including volatile organic compounds (VOCs)  
76 such as formaldehyde, and bioaerosols (Jones, 1999). Several studies have been conducted to  
77 characterize the different bioaerosols found in indoor environments (Burge, 1990; Jones, 1999;  
78 Kalogerakis *et al.*, 2005; Kampa and Castanas, 2008). The ventilation and airflow play a role in  
79 the transmission of infectious airborne particles in the closed environment (Li *et al.*, 2007). In  
80 fact, ventilation of the room with an open window can reduce the presence of bioaerosols  
81 (Kalogerakis *et al.*, 2005). Knowledge about air pollution in closed environments is still  
82 incomplete and a subject to be investigated further. Indoor air pollution can be of endogenous or  
83 exogenous origin. Most studies have focused on the toxicological assessment and measured the  
84 concentrations of chemicals, bio-contaminants, particles and fibers in indoor air (Jones, 1999).

85 Microbial ecology in outdoor or indoor environments consists of different types of  
86 microorganisms such as viruses, bacteria, fungi, protozoa, pollen and algae (Fig 1). These  
87 saprophyte microorganisms can multiply in different reservoirs and contaminate the indoor  
88 environment. In introduction section the viruses' epidemics of the last years was described. In  
89 addition, some bacteria and fungi can produce spores able to persist in hostile environments like  
90 water heaters. Others are aerosolized and can cause human infectious diseases e.g. *Legionella*  
91 *pneumophila* which can lead to a severe pneumonia called Legionnaire's disease. Some  
92 microorganisms can produce toxic metabolites; for example, *Aspergillus fumigatus*, a fungus that  
93 contributes to occupational lung disease caused by the production of mycotoxins (Swan, 2003).  
94 Fungi are more common than bacteria in outdoor air. They can enter through windows,  
95 ventilation systems and air treatment units and are then dispersed in the domestic environment  
96 (Burge, 1990). Indoor air pollution may be responsible for various health problems such as Sick  
97 Building Syndrome (SBS). This is a non-specific syndrome that depends on the concentration of  
98 particulate matter and volatile organic compounds generated by microorganisms or chemicals in  
99 the areas of occupation. Clinical signs of SBS are: headache, nausea, sneezing, tiredness,  
100 breathing problems, dizziness, eye and skin irritation and asthma or poisoning (Jones, 1999).  
101 Exposure to these different biological or non-biological pollutants affects the health of humans,  
102 especially their respiratory, cardiovascular, nervous, urinary and digestive systems (Kampa and  
103 Castanas, 2008).

### 104        3. *Time spent indoors*

105        Homes, offices, shops, and gyms are the places where we spend most of our time. Studies show  
106        that air in closed environments is 5-10 times more polluted than outside (Jones, 1999). A few  
107        studies provide statistics on the number of hours that we spend in closed environments. In  
108        September and October 2014, Export Entreprises SA published the number of working hours per  
109        day and per week in different countries in the world. After analyzing these data, the average  
110        working hours are estimated at 8.12 h per day and 43.59 h per week. It is then possible to deduce  
111        that people spend approximately 34 % of their day at work (Export Entreprises SA, 2014).  
112        According to neuroscience research, the number of hours of sleep varies from one person to  
113        another, depending on the size and age of the person. The more the body increases in size, the  
114        more hours of sleep it needs while the older person needs fewer hours of sleep. The average  
115        number of hours of sleep for a human adult is between 7 and 8, corresponding to 29 to 33% of  
116        our day (Aritake *et al.*, 2004; Siegel, 2003). Another sociological study carried out in 2005  
117        showed that workers spend approximately 3.4 hours or 206 minutes of their time with the family  
118        (television, homework with children). This time decreased by 45 minutes from 1986 to 2005 and  
119        is equivalent to 14 % of the day (Turcotte, 2005). According to these statistics, people in  
120        developed countries spend more than 81 % of their time at work and home. The percentage of  
121        indoor time may increase to 90 % because people also spend time in other enclosed spaces such  
122        as shopping centers, gyms and transport. Contact and significant mixing with people in a closed

123 environment enable the transmission of diseases via infectious air, which has become more  
124 significant. To date, there are insufficient data that specify and quantify the minimum  
125 requirements for ventilation in a closed environment and the relationship with the spread of  
126 infectious airborne particles including the nosocomial environment (Li *et al.*, 2007).

#### 127 **4. Bioaerosols: microbial particulate matter**

128 It is possible to distinguish different types of elements in indoor air environments, like chemical,  
129 physical and biological, as well as different forms such as droplet nuclei, droplets and aerosols.  
130 Droplet nuclei are particles of 1-10  $\mu\text{m}$  in diameter. They are involved in the spread of infection  
131 in the air. These particles are formed after evaporation of cough or sneeze droplets into the  
132 atmosphere or by aerosolization of infective material. Droplets are small volumes of liquid  $< 500$   
133  $\mu\text{m}$  expelled during coughing and sneezing. Large droplets settle quickly and smaller ones  
134 evaporate to form droplet nuclei. Aerosols are suspensions of solid or liquid particles with a  
135 negligible speed ( $\leq 25 \text{ cm s}^{-1}$ ) with different aerodynamic diameters in a gaseous medium  
136 (Renoux, 2003; LE COQ, 2006; Tellier, 2006; Li *et al.*, 2007; Nazaroff, 2016). Particles are  
137 disseminated in the air or deposited on a surface and can be suspended. These particles can be  
138 classified according to a scale of 0.005  $\mu\text{m}$  to 100  $\mu\text{m}$  (Fig 2). Bioaerosols are present in the air as  
139 individualized biological elements (spores, bacterial cells and isolated viruses), aggregates or  
140 products of particles of non-biological origin. Bioaerosols such as bacteria, viruses, fungi and  
141 pollens can cause health problems. Different particle sizes of bioaerosols can be distinguished

142 according to their origin (Fig 2) (Gonzalez, 2014; Le Coq, 2006). Bioaerosols have a speed limit  
143 according to the result of the balance between two forces: the force of gravity or electrical force  
144 and the resistance of the carrier. Some parameters have been defined for the sedimentation of  
145 bioaerosols: the diffusion coefficient, the dynamic mobility, the relaxation time and the speed  
146 limit (Renoux, 2003). Coagulation, electrostatic properties, adhesion to a wall, the re-entrainment  
147 of the particles and condensation/evaporation are various phenomena that can be applied to  
148 bioaerosols with different physical states (Renoux, 2003). Coagulation of bioaerosols is a process  
149 of adherence or merging of one bioaerosol particle with another. However, a collision between  
150 two particles does not necessarily lead to coagulation (efficiency of collision). Electrostatic  
151 properties of bioaerosols are the force of a low electric field on a bioaerosol with an electric  
152 charge. Even if it is small, it can be significantly stronger than gravity. An adhesion phenomenon  
153 is created upon contact between the bioaerosol and solid walls (strong fixation). There are  
154 different types of forces: van der Waals, electrical and capillarity. Re-entrainment of debris on a  
155 wall is drag forces (for the detachment, a horizontal force) and lift forces (for re-entrainment,  
156 vertical force). Condensation/evaporation reactions of liquid bioaerosols are the most important  
157 process of aerosol formation is the condensation of vapor in the form of very small liquid  
158 particles. The opposite process is evaporation (Kelvin effect and the effect of foreign particles)  
159 (Renoux, 2003). These phenomena will have an impact on the behavior of bioaerosols.  
160 Bioaerosols are typically classified by their size, including the geometric diameter (particle  
161 morphology), volume diameter (diameter of a sphere), optical diameter (refractive index), electric

162 diameter (electric mobility) and stokes diameter (diameter of a sphere with the same  
163 sedimentation speed) (Gonzalez, 2014).

#### 164 ***5. The respiratory viruses: infection, detection and fate in bioaerosols***

165 Viruses between 17 nm and 1  $\mu\text{m}$  (Milo and Phillips 2015) can be aerosolized. Different types of  
166 viruses are responsible for various diseases in humans. Fig 3 shows an example of the viruses that  
167 can cause different types of infections (respiratory, neurological, gastroenteritis) (Segondy,  
168 2007). Respiratory viral infections are a major public health issue because of their  
169 contagiousness, health problems, loss of productivity and loss of time at work/school. Mortality  
170 is rare in developed countries whereas in the less developed countries, the mortality can reach up  
171 to 5 million children under 5 each year. Respiratory viral infections are the most common  
172 infections that can affect children's health. These diseases often lead to absenteeism at school and  
173 an important socio-economic cost to society (medical visits, medicines). Respiratory infections  
174 are related to the different seasons. Fig 4 shows the distribution of some respiratory viruses  
175 according to the four seasons of the year (Kesson, 2007; Treanor and Falsey, 1999). There are  
176 different respiratory viruses that affect different parts of the respiratory system. Infections can  
177 vary from an ordinary to a serious viral infection and can also lead to epidemics. Table 1  
178 presents the description of some respiratory viruses (Kesson, 2007; Treanor and Falsey, 1999).  
179 Most of them are easily transmitted by direct contact, droplets or aerosolization. For example, Fig  
180 5 shows the mode of transmission of influenza viruses. Our oropharyngeal tracts transmit three

181 different particle sizes. The average speed of particles expectorated during coughing is  $11 \text{ m s}^{-1}$ .  
182 Particles with a diameter smaller than  $30 \text{ }\mu\text{m}$  more rapidly invade the room. Those that are bigger  
183 than or equal to  $200 \text{ }\mu\text{m}$  settle at a radius of  $2 \text{ m}$ . Particles smaller than  $1 \text{ }\mu\text{m}$  are quickly  
184 evaporated (Morawska, 2006). Coughing emits approximately  $7 \text{ mg}$  of particles less than  $2 \text{ }\mu\text{m}$   
185 in size,  $3 \%$  of which are submicron while expired air contains  $95 \%$  of submicron particles (Zhu  
186 *et al.* 2006). The characteristics of the particles from the airways are defined by their  
187 concentration and particle size as shown in Table 2. Influenza-infected people exhale 3 to 20  
188 influenza viruses per minute during normal breathing (Fabian and al., 2011). The number of  
189 particles increases during coughing and sneezing. With the coxsackie virus, an emission of 160  
190 viral particles was observed during a cough or a sneeze (Couch and al., 1966; Downie and al.,  
191 1965). Infected people generate of the order of 0.1 to 10 viruses per liter of air per hour in a room  
192 of  $10 \text{ m}^3$ . Considering, for example, an office of  $40 \text{ m}^3$  occupied by 2 people simply breathing  
193 (without coughing or sneezing) and emitting  $20 \text{ viruses min}^{-1}$  for 4 hours (240 minutes), the  
194 calculation gives a concentration of  $(2 \times 240 \times 20) / 40.10^3 = 0.24 \text{ viruses L}^{-1}$  of air (with no  
195 renewal of air) (Couch and al., 1966; Downie and al., 1965). Ventilation systems and air handling  
196 units (AHU) allow the spread and transport of viral particles inside buildings (Ezratty and  
197 Squinazi, 2008; Fabian and al., 2008; Tang and al., 2006). The review of Li *et al.* (2007) showed  
198 that of 40 studies, 22 proved that the ventilation and airflow contribute directly to the spread of  
199 infectious airborne particles in a closed environment. An air sampling each working day from  
200 9:00 to 5:00 p.m. has shown that occupants of buildings with low external air renewal are at

201 increased risk of exposure to infectious droplets from a colleague occupying the building. In the  
202 study of Myatt *et al.* (2004), 212 filters of air handling units were collected in 47 h. Of the 181  
203 filters analyzed, 58 were contaminated with picornavirus. Picornaviruses (rhinoviruses and  
204 enteroviruses) were those most commonly detected (59% positive samples), followed by corona  
205 virus (24%) and parainfluenza virus (< 17%). The review of Li *et al.* (2007) described different  
206 studies about the detection of rhinovirus RNA fragments in the ventilation system of office  
207 buildings and about the SARS outbreak and the link between ventilation and infectious airborne  
208 particles. Some recent studies revealed the detection of airborne bacteria and some specific  
209 viruses on HVAC filters in a daycare center (Prussin *et al.*, 2016) and in large public buildings  
210 (Goyal *et al.*, 2011). Morbidity due to viral respiratory infections is very high with an estimated  
211 500 million episodes occurring in the United States each year, resulting in 20 million lost  
212 working days in adults and 22 million missed school days among children. Schools are the main  
213 source of community outbreaks of respiratory infections (Myatt and al., 2004). Since 1970 till  
214 today, few studies have focused on the conditions of persistence of the virus. Various conditions  
215 have been identified that affect the fate of viruses such as the temperature, relative humidity  
216 (RH), pH, and time. As the temperature and humidity decrease, the persistence of influenza  
217 viruses increases. For example, the study of Harper, (1961), Schaffer *et al.*, (1976) and Lowen *et*  
218 *al.*, (2007) demonstrated that the influenza virus is more persistent at a temperature of 20-25°C  
219 and 20 % RH than at 50 % RH. The persistence decreases while humidity increases to 80 %. At a  
220 temperature of 21 °C and 20 % RH after 1 h, a loss of infectivity of less than 1 log is observed

221 while this becomes 2 log at 50 % RH. These studies showed that at 30-40 % RH and 20-24 °C,  
222 14 % of the viral particles are infective after 23 h of aerosolization. With a humidity level of 50  
223 %, the viral particles are more resistant at 5 °C than at 20 °C. In the study of Grinshpun et al.,  
224 (2010) postulate that the high temperature attribute an effect on the denaturation of the coat  
225 proteins of the virus which can deactivate the virus. The stability of the aerosolized Rous sarcoma  
226 virus (RSV) depends on the salt, protein, or polyhydroxyl-type compounds used in the virus  
227 suspension medium. Infectious bovine rhinotracheitis virus usually survives better in a high  
228 viscosity, which could reduce the rate of evaporation and high protein content (Akers *et al.*, 1973;  
229 Elazhary and Derbyshire, 1979). Different types of solid surfaces also play a role in the  
230 persistence of viruses. The majority of respiratory viruses, with the exception of adenovirus,  
231 remain viable for long periods on non-porous material (Vasickova and al., 2010). The main  
232 material of banknotes is cotton covered by a resin, which makes them inhospitable for biological  
233 agents but they can be a vector of infection. A study investigating the survival of influenza on  
234 banknotes showed that the duration of influenza A infection without mucus is between 1 hour for  
235 a low concentration of virus ( $1.1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub> ml<sup>-1</sup>) and can reach 2 days for a high  
236 concentration ( $8.9 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub> ml<sup>-1</sup>) (Thomas *et al.*, 2008). The study of Pyankov and al.  
237 (2012) evaluated the inactivation of airborne influenza virus (H1N1 and H5N1) at approximately  
238 60 % in the ambient air over the first 30 min of aerosolization and demonstrated the greater  
239 robustness of H3N2 with an inactivation of 50 % of viral particles occur after 90 min of  
240 aerosolization. Ultraviolet rays also can reduce infectivity; for example, the study of Mirshafiee

241 et al., (2015) indicated that UV light inactivate non enveloped virus like Polio virus and  
242 enveloped virus like Herpes Simplex Virus (HSV). Respiratory viruses like adenovirus are  
243 resistant to UV (Vasickova *et al.*, 2010). Environmental conditions encountered in winter, such as  
244 low relative humidity due to the artificial heating that dries the air, an average temperature of 20  
245 °C and an impoverishment of UV radiation, account for the impact of winter influenza infections.  
246 Thus, the period during which the survival of the virus in the air is optimal corresponds to a  
247 greater period of influenza morbidity (Sagripanti and Lytle, 2007). During their presence on  
248 surfaces, viruses may interact with other microorganisms, which may be attacked and inactivated  
249 or can protect them from desiccation and disinfection (Vasickova et al., 2010). The review of  
250 Gerba (2013) reveal that there is a different inactivation behavior between respiratory viruses  
251 and enteric viruses. The main results of the study show that non-enveloped respiratory viruses  
252 can survive longer than enveloped viruses. For example rhinovirus (no-enveloped virus) shows  
253 an inactivation rate  $0.25 \log_{10} \text{ h}^{-1}$  while  $0.625 \log_{10} \text{ h}^{-1}$  for the RSV (enveloped virus).

254 **6. *What are the costs and the effects on public health caused by indoor pollution?***

255 Viral respiratory infections (VRI) are the most common infectious diseases in developed  
256 countries and are associated with direct and indirect costs, and changes in the quality of life. Viral  
257 diseases exert their major impact on morbidity, health problems, loss of productivity, loss of time  
258 at work and at school, and the cost of medical care. The median duration of the diseases is 7 days,  
259 but the symptoms remain for two weeks in 25 % of cases. Recent data (April 2015) have

260 suggested that the cost of the main respiratory diseases to the French health care system (chronic  
261 obstructive pulmonary disease, chronic bronchitis) and hospitalizations inherent in air pollution is  
262 between 0.9 billion and 1.8 billion € year<sup>-1</sup>. For example, the total cost in France for chronic  
263 obstructive pulmonary disease (COPD) is between 3860 and 7915 € patient<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup> (Rafenberg,  
264 2015). Other data about respiratory infections in the United States suggest that the total cost is 25  
265 billion dollars in direct and indirect costs (Bauman, 2000; Bertino, 2003). About 500 million VRI  
266 episodes occur annually in the US, resulting in 84 million ambulatory visits for acute respiratory  
267 infections. In addition, the data of the Center for Disease Control and Prevention (CDC)/National  
268 Center for Health Statistics following an investigation in 1996 showed that 148 million days of  
269 restricted activity, nearly 23 million lost working days, 26 million lost school days and 45 million  
270 bedridden days were taken following these respiratory infections. VRI have a significant effect  
271 throughout the year in terms of loss of time at work and at school, more visits to the doctor, and  
272 impacts on health and the cost of drug therapy (Bauman, 2000; Bertino, 2003).

273

274 **Conclusion**

275 Air is a vector transporting microbial aerosols from outdoors to indoors and also between people  
276 in closed environments. These microorganisms in air, such as viruses, bacteria, and fungi, can  
277 lead to health problems, which is one of the most important topics of concern to health  
278 authorities. Moreover, the respiratory viruses are highly contagious (i.e. according to INRES data  
279 of 2015, the infective dose of Respiratory Syncytial Virus is 100 to 600 viral particles when  
280 administered intra-nasally) and significant mixing and contact with people enable greater  
281 transmission of microorganisms. Some data collected in the review show the relationship  
282 between the ventilation in closed environments and the spread of airborne infectious agents. In  
283 recent years, the development of indoor air treatment techniques has been of great benefit to  
284 public health.

285 There are few studies concerning this subject and so the gap between what we know and what we  
286 would like to know remains quite large. A major challenge is investigating respiratory viruses in  
287 AHUs.

- 288 - Studying the eukaryotic virus's persistence on used filters of AHUs.
- 289 - Investigating the fate of viruses after aerosolization according to the structure and the  
290 species.
- 291 - Reducing the risk of viral transmission in closed environments.

- 292 - Developing and standardizing an experimental set-up closer to reality to study the spread  
293 of eukaryotic viruses in closed environments.
- 294 - Improving ventilation systems and AHUs would reduce the spread of infectious airborne  
295 microorganisms, which would have a significant impact on public health and decrease the  
296 loss of time and the cost of drug therapy.

297 **REFERENCES**

- 298 Akers, T.G., Prato, C.M., Dubovi, E.J., 1973. Airborne stability of simian virus 40. *Appl. Microbiol.* 26, 146–  
 299 8.
- 300 Aritake, S., Uchiyama, M., Tagaya, H., Suzuki, H., Kuriyama, K., Ozaki, A., Tan, X., Shibui, K., Kamei, Y.,  
 301 Okubo, Y., Takahashi, K., 2004. Time estimation during nocturnal sleep in human subjects.  
 302 *Neurosci. Res.* 49, 387–393. doi:10.1016/j.neures.2004.04.006
- 303 Bauman, K.A., 2000. The family physician’s reasonable approach to upper respiratory tract infection care  
 304 for this century. *Arch. Fam. Med.* 9, 596–597. doi:10.1001/archfami.9.7.596
- 305 Bertino, J.S., 2003. Cost burden of viral respiratory infections: Issues for formulary decision makers  
 306 (Reprinted from *Am J Med* 2002, vol 112(Suppl 6A), pg 42S-49S). *Dm Dis.--Mon.* 49, 225–239.  
 307 doi:10.1067/mda.2003.22
- 308 Bourdillon, R.B., Lidwell, O.M., 1941. SNEEZING AND THE SPREAD OF INFECTION. *The Lancet*, Originally  
 309 published as Volume 2, Issue 6161 238, 365–367. doi:10.1016/S0140-6736(00)76567-6
- 310 Burge, H., 1990. Bioaerosols - Prevalence and Health-Effects in the Indoor Environment. *J. Allergy Clin.*  
 311 *Immunol.* 86, 687–701. doi:10.1016/S0091-6749(05)80170-8
- 312 Couch, R.B., Cate, T.R., Douglas, R.G.J., Gerone, P.J., Knight, V., 1966. Effect of route of inoculation on  
 313 experimental respiratory viral disease in volunteers and evidence for airborne transmission.  
 314 *Bacteriol. Rev.* 30, 517–29.
- 315 Downie, A.W., Meiklejohn, M., St Vincent, L., Rao, A.R., Sundara Babu, B.V., Kempe, C.H., 1965. The  
 316 recovery of smallpox virus from patients and their environment in a smallpox hospital. *Bull.*  
 317 *World Health Organ.* 33, 615–22.
- 318 Duguid, J.P., 1946. The size and the duration of air-carriage of respiratory droplets and droplet-nuclei. *J.*  
 319 *Hyg. (Lond.)* 44, 471–479.
- 320 Edwards, D.A., Man, J.C., Brand, P., Katstra, J.P., Sommerer, K., Stone, H.A., Nardell, E., Scheuch, G., 2004.  
 321 Inhaling to mitigate exhaled bioaerosols. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 17383–17388.  
 322 doi:10.1073/pnas.0408159101
- 323 Elazhary, M., Derbyshire, J., 1979. Aerosol Stability of Bovine Adenovirus Type-3. *Can. J. Comp. Med.-Rev.*  
 324 *Can. Med. Comp.* 43, 305–312.
- 325 Ezratty, V., Squinazi, F., 2008. Pandemic influenza virus inside buildings: Is there a risk of transmission by  
 326 ventilation or air conditioning systems? *Environ. Risques Santé* 7, 255–263.  
 327 doi:10.1684/ers.2008.0157
- 328 Fabian, P., McDevitt, J.J., DeHaan, W.H., Fung, R.O.P., Cowling, B.J., Chan, K.H., Leung, G.M., Milton, D.K.,  
 329 2008. Influenza Virus in Human Exhaled Breath: An Observational Study. *Plos One* 3, e2691.  
 330 doi:10.1371/journal.pone.0002691
- 331 Fabian, P., Milton, D., Angel, M., Perez, D., McDevitt, J., 2011. Influenza Virus Aerosols in Human Exhaled  
 332 Breath: Particle Size, Culturability, and Effect of Surgical Masks. *Epidemiology* 22, S51–S51.  
 333 doi:10.1097/01.ede.0000391818.35353.36
- 334 Fairchild, C.I., Stampfer, J.F., 1987. Particle concentration in exhaled breath. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 48,  
 335 948–949. doi:10.1080/15298668791385868
- 336 Fenger, J., 2009. Air pollution in the last 50 years - From local to global. *Atmos. Environ.* 43, 13–22.  
 337 doi:10.1016/j.atmosenv.2008.09.061
- 338 Fenger, J., 1999. Urban air quality. *Atmos. Environ.* 33, 4877–4900. doi:10.1016/S1352-2310(99)00290-3
- 339 Gerba, C.P., 2013. Occurrence and transmission of food- and waterborne viruses by fomites.  
 340 doi:10.1533/9780857098870.3.205
- 341 Gerone, P.J., Couch, R.B., Keefer, G.V., Douglas, R.G., Derrenbacher, E.B., Knight, V., 1966. Assessment of  
 342 experimental and natural viral aerosols. *Bacteriol. Rev.* 30, 576–588.

343 Gonzalez, L.F., 2014. Influence de la gestion des centrales de traitement d'air des réseaux de ventilation  
344 de bâtiments sur le développement d'aérosols microbien. Ecole des mines, Nantes, France.

345 Goyal, S.M., Anantharaman, S., Ramakrishnan, M.A., Sajja, S., Kim, S.W., Stanley, N.J., Farnsworth, J.E.,  
346 Kuehn, T.H., Raynor, P.C., 2011. Detection of viruses in used ventilation filters from two large  
347 public buildings. *Am. J. Infect. Control* 39, e30-38. doi:10.1016/j.ajic.2010.10.036

348 Greene, V.W., Vesley, D., Keenan, K.M., 1962. NEW METHOD FOR MICROBIOLOGICAL SAMPLING OF  
349 SURFACES. *J. Bacteriol.* 84, 188-189.

350 Grinshpun, S.A., Adhikari, A., Li, C., Yermakov, M., Reponen, L., Johansson, E., Trunov, M., 2010.  
351 Inactivation of Aerosolized Viruses in Continuous Air Flow with Axial Heating. *Aerosol Sci.*  
352 *Technol.* 44, 1042-1048. doi:10.1080/02786826.2010.509119

353 Harper, G.J., 1961. Airborne micro-organisms: survival tests with four viruses. *J. Hyg. (Lond.)* 59, 479-86.

354 Jones, A., 1999. Indoor air quality and health. *Atmos. Environ.* 33, 4535-4564. doi:10.1016/S1352-  
355 2310(99)00272-1

356 Kalogerakis, N., Paschali, D., Lekaditis, V., Pantidou, A., Eleftheriadis, K., Lazaridis, M., 2005. Indoor air  
357 quality - bioaerosol measurements in domestic and office premises. *J. Aerosol Sci.* 36, 751-761.  
358 doi:10.1016/j.jaerosci.2005.02.004

359 Kampa, M., Castanas, E., 2008. Human health effects of air pollution. *Environ. Pollut.* 151, 362-367.  
360 doi:10.1016/j.envpol.2007.06.012

361 Kesson, A.M., 2007. Respiratory virus infections. *Paediatr. Respir. Rev.* 8, 240-248.  
362 doi:10.1016/j.prrv.2007.07.003

363 LE COQ, L., 2006. Élimination des particules. *Tech. Ing.*

364 Li, Y., Leung, G.M., Tang, J.W., Yang, X., Chao, C.Y.H., Lin, J.Z., Lu, J.W., Nielsen, P.V., Niu, J., Qian, H.,  
365 Sleigh, A.C., Su, H.-J.J., Sundell, J., Wong, T.W., Yuen, P.L., 2007. Role of ventilation in airborne  
366 transmission of infectious agents in the built environment - a multidisciplinary systematic review.  
367 *Indoor Air* 17, 2-18. doi:10.1111/j.1600-0668.2006.00445.x

368 Loudon, R.G., Roberts, R.M., 1967. Droplet expulsion from the respiratory tract. *Am. Rev. Respir. Dis.* 95,  
369 435-442. doi:10.1164/arrd.1967.95.3.435

370 Lowen, A.C., Mubareka, S., Steel, J., Palese, P., 2007. Influenza virus transmission is dependent on  
371 relative humidity and temperature. *Plos Pathog.* 3, 1470-1476.  
372 doi:10.1371/journal.ppat.0030151

373 Milo, R., Phillips, R., 2015. *Cell Biology by the Numbers*. Garland Science.

374 Mirshafiee, H., Sharifi, Z., Hosseini, S.M., Yari, F., Nikbakht, H., Latifi, H., 2015. The Effects of Ultraviolet  
375 Light and Riboflavin on Inactivation of Viruses and the Quality of Platelet Concentrates at  
376 Laboratory Scale. *Avicenna J. Med. Biotechnol.* 7, 57-63.

377 Morawska, L., 2006. Droplet fate in indoor environments, or can we prevent the spread of infection?  
378 *Indoor Air* 16, 335-347. doi:10.1111/j.1600-0668.2006.00432.x

379 Myatt, T.A., Johnston, S.L., Zuo, Z.F., Wand, M., Keadze, T., Rudnick, S., Milton, D.K., 2004. Detection of  
380 airborne rhinovirus and its relation to outdoor air supply in office environments. *Am. J. Respir.*  
381 *Crit. Care Med.* 169, 1187-1190. doi:10.1164/rccm.200306-760OC

382 Nazaroff, W.W., 2016. Indoor bioaerosol dynamics. *Indoor Air* 26, 61-78. doi:10.1111/ina.12174

383 Papineni, R.S., Rosenthal, F.S., 1997. The size distribution of droplets in the exhaled breath of healthy  
384 human subjects. *J. Aerosol Med. Off. J. Int. Soc. Aerosols Med.* 10, 105-116.  
385 doi:10.1089/jam.1997.10.105

386 Prussin, A.J., Vikram, A., Bibby, K.J., Marr, L.C., 2016. Seasonal Dynamics of the Airborne Bacterial  
387 Community and Selected Viruses in a Children's Daycare Center. *PloS One* 11, e0151004.  
388 doi:10.1371/journal.pone.0151004

389 Pyankov, O.V., Pyankova, O.G., Agranovski, I.E., 2012. Inactivation of airborne influenza virus in the  
390 ambient air. *J. Aerosol Sci.* 53, 21-28. doi:10.1016/j.jaerosci.2012.05.011

391 Rafenberg, C., 2015. Estimation des coûts pour le système de soin français de cinq maladies respiratoires  
392 et des hospitalisations attribuables à la pollution de l'air.

393 Renoux, A., 2003. Physique des aérosols - partie2. Tech. Ing.  
394 Sagripanti, J.-L., Lytle, C.D., 2007. Inactivation of influenza virus by solar radiation. Photochem. Photobiol.  
395 83, 1278–1282. doi:10.1111/j.1751-1097.2007.00177.x  
396 Schaffer, F., Soergel, M., Straube, D., 1976. Survival of Airborne Influenza-Virus - Effects of Propagating  
397 Host, Relative Humidity, and Composition of Spray Fluids. Arch. Virol. 51, 263–273.  
398 doi:10.1007/BF01317930  
399 Segondy, 2007. Infections virales: Grands syndromes et virus responsable.  
400 Siegel, J.M., 2003. Why we sleep. Sci. Am. 289, 92–97.  
401 Suwantararat, N., Apisarnthanarak, A., 2015. Risks to healthcare workers with emerging diseases: lessons  
402 from MERS-CoV, Ebola, SARS, and avian flu. Curr. Opin. Infect. Dis. 28, 349–361.  
403 doi:10.1097/QCO.000000000000183  
404 Swan, J.R.M., 2003. Occupational and environmental exposure to bioaerosols from composts and  
405 potential health effects A critical review of published data : final report [WWW Document].  
406 Tang, J.W., Li, Y., Eames, I., Chan, P.K.S., Ridgway, G.L., 2006. Factors involved in the aerosol transmission  
407 of infection and control of ventilation in healthcare premises. J. Hosp. Infect. 64, 100–114.  
408 doi:10.1016/j.jhin.2006.05.022  
409 Tellier, R., 2006. Review of Aerosol Transmission of Influenza A Virus. Emerg. Infect. Dis. 12, 1657–1662.  
410 doi:10.3201/eid1211.060426  
411 Thomas, Y., Vogel, G., Wunderli, W., Suter, P., Witschi, M., Koch, D., Tapparel, C., Kaiser, L., 2008. Survival  
412 of Influenza Virus on Banknotes. Appl. Environ. Microbiol. 74, 3002–3007.  
413 doi:10.1128/AEM.00076-08  
414 Treanor, J., Falsey, A., 1999. Respiratory viral infections in the elderly. Antiviral Res. 44, 79–102.  
415 doi:10.1016/S0166-3542(99)00062-5  
416 Turcotte, M., 2005. Time spent with family during a typical workday, 1986 to 2005. Can. Soc. Trends.  
417 Vasickova, P., Pavlik, I., Verani, M., Carducci, A., 2010. Issues Concerning Survival of Viruses on Surfaces.  
418 Food Environ. Virol. 2, 24–34. doi:10.1007/s12560-010-9025-6  
419 WHO, 2016. WHO | Ambient (outdoor) air quality and health [WWW Document]. WHO. URL  
420 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs313/en/> (accessed 10.4.16).  
421 Zhu, S., Kato, S., Yang, J.-H., 2006. Study on transport characteristics of saliva droplets produced by  
422 coughing in a calm indoor environment. Build. Environ. 41, 1691–1702.  
423 doi:10.1016/j.buildenv.2005.06.024

424

425

	Virus name	Classification	Capsid	DNA/RNA	Characteristic	Detection	Disease
	Parainfluenzavirus (PIV)				4 Types: PIV1,2,3,4	DIF , RT-PCR	PIV3: Bronchitis, pneumonia PIV4: upper respiratory disease
	Respiratory Syncytial Virus (RSV)	Family: Paramyxoviridae Genus: Pneumovirus	Enveloped	RNA SB - not segmented	2 Subgroups: RSV-A,B	IF, EIA	Lower respiratory disease, bronchitis, pneumonia
	Influenza Virus	Family: Orthomyxoviridae Genus: Influenza Virus	Enveloped  16 Hemagglutinins 9 Neuraminidases	RNA segmented	3 Types: A,B,C	RT-PCR , ELISA	Upper respiratory disease, bronchitis, pneumonia
	Adenovirus		Not enveloped  Icosahedrom with fiber Projected vertically	DNA DB linear	52 Serotypes	IF, PCR, ELISA, immunochromatography	Upper respiratory disease
	Rhinovirus	Family: Picornaviridae	Not enveloped	RNA SB +	100 Serotypes	DIF , RT-PCR, EIA	Cold illness, otis, media, pneumonia
	Coronavirus	Family: Coronaviridae Genus: Coronavirus	Enveloped  Helical nucleocapsid	RNA SB +		IF, ELISA, RT-PCR	Cold illness, Upper respiratory illness

426

427 **Table 1: Description of some respiratory viruses**

428

429

430

431

432

433

434

435

436

<b>Concentration of emitted particles</b>		
	<b>No. of particles</b>	<b>Diameter of particles</b>
<b>Simple breathing</b>	10 to $10^4$ per liter of air	< 1 $\mu\text{m}$ (predominating)
<b>Talking</b>	1 to 5000 per min	$\leq 60 \mu\text{m}$
<b>Cough-generated</b>	$10^3$ to $10^4$	0.5 – 30 $\mu\text{m}$
<b>Sneeze-generated</b>	$10^6$	0.5 – 16 $\mu\text{m}$

437

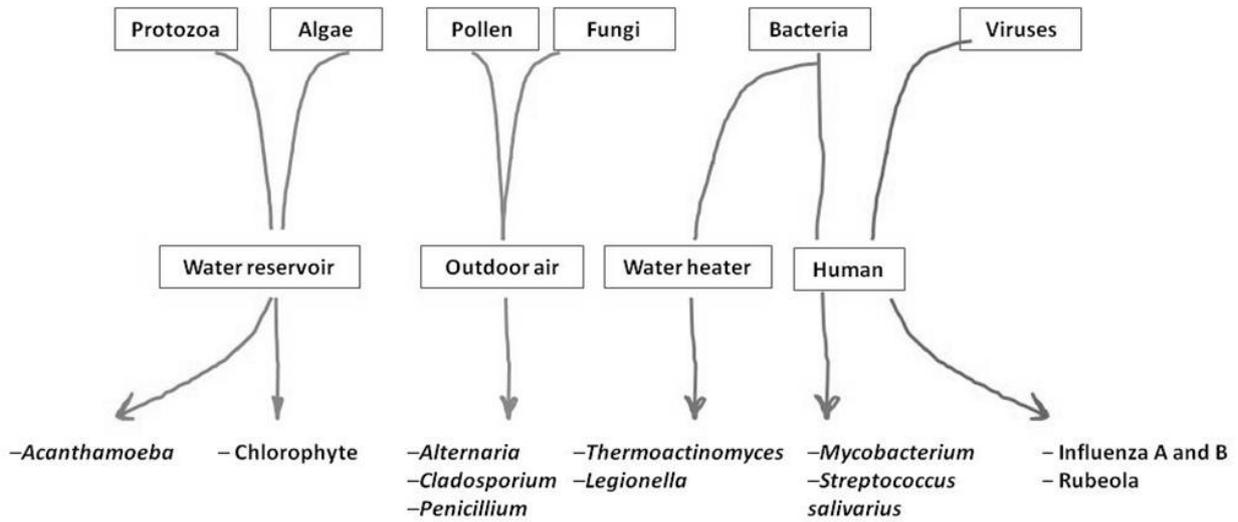
438

439

440

**Table 2: Characteristics of the particles from the airways** (adapted from Bourdillon and Lidwell, 1941; Duguid, 1946; Edwards et al., 2004; Fabian et al., 2008; Fairchild and Stampfer, 1987; Gerone et al., 1966; Greene et al., 1962; Loudon and Roberts, 1967; Morawska, 2006; Papineni and Rosenthal, 1997; Tang et al., 2006)

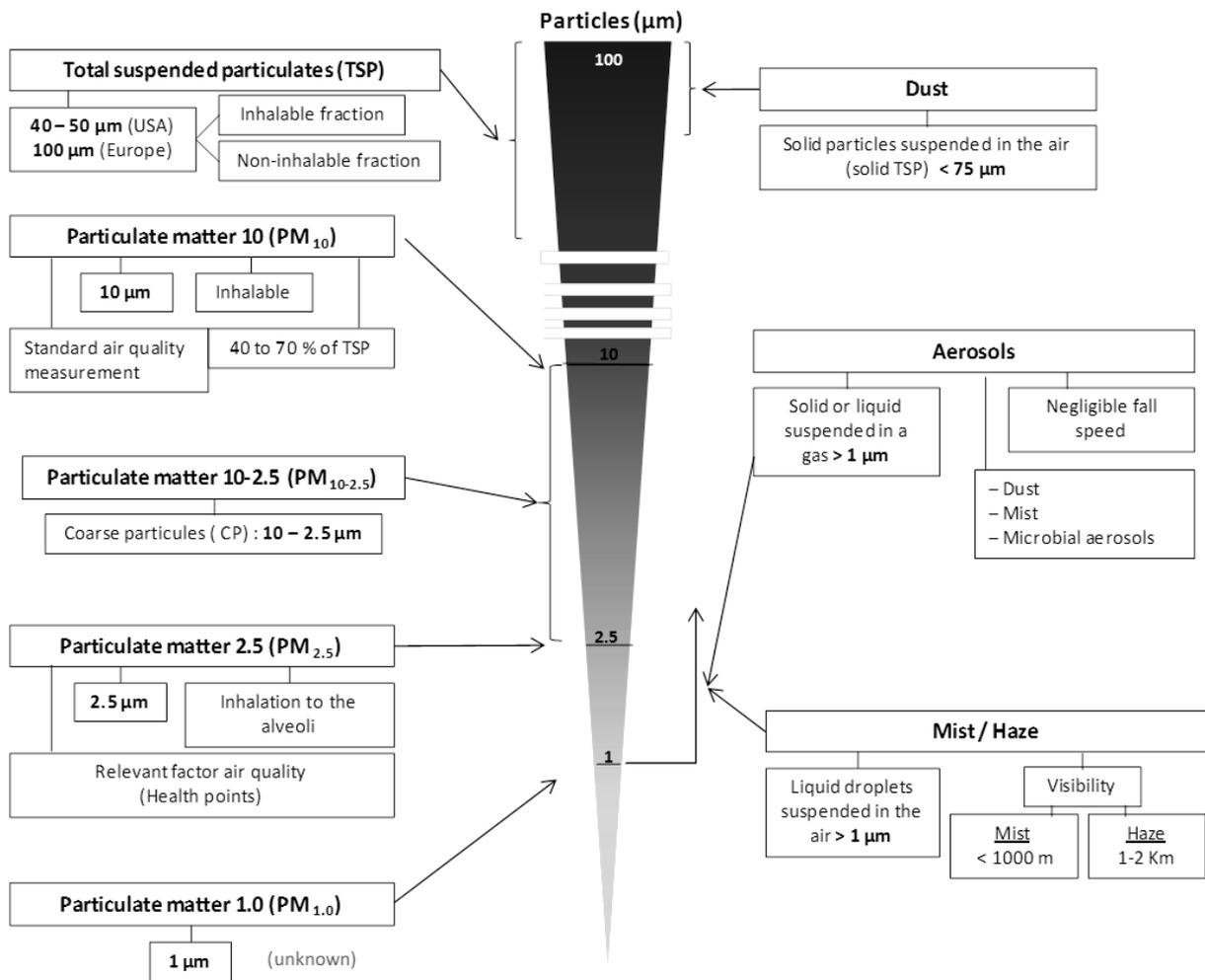
441



442

443

**Fig. 1 : Different types of microorganisms present in external and internal environments**



444

445

**Fig. 2: Different sizes of the particles in the air**

**Respiratory infections**

**Rhinitis, rhinopharyngitis, pharyngitis**

Rhinovirus, coronavirus, RSV, adenovirus, parainfluenza virus

**Tracheobronchitis**

RSV, parainfluenza virus, influenza virus

**Acute otitis media**

RSV, rhinovirus, adenovirus, enterovirus, influenza virus

**Bronchiolitis**

RSV, metapneumovirus, parainfluenza virus, influenza virus

**Angina**

EBV, HSV, coxsackie A, adenovirus

**Pneumonia**

RSV, metapneumovirus, influenza virus, adenovirus, morbillivirus, CMV, VZV

**Laryngitis**

RSV, parainfluenza virus, influenza virus

**Neurological damage**

**Meningitis**

Enterovirus ( coxsackie A, B, echovirus), mumps

**Encephalitis**

HSV-1, measles, rubella, mumps, chicken pox, arbovirus

**Myelitis**

Poliovirus, VZV, CMV, EBV, rubella

**Acute polyradiculoneuropathy**

CMV, EBV, VZV

**Gastroenteritis**

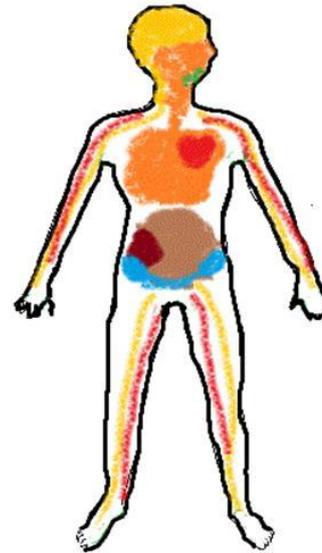
Rotavirus, adenovirus, norovirus, astrovirus

**Viral hepatitis**

Hepatite A, B, C, D, E, CMV, EBV, HSV

**Kidney problems**

Hantaan Virus, yellow fever, HBV, HCV



**Heart damage**

Enterovirus ( coxsackie B), adenovirus, flu, EBV

**Hematologic violations**

Parvovirus B19

**Vascular involvement**

HBV

**Glandular violations**

Flu, EBV, mumps

**HIV**

HIV-1, HIV-2

**Fetal and neonatal**

CMV, VZV, rubella, parvovirus B19

**Virus and cancer**

HPV, EBV, HHV-8

**Febrile syndromes**

**Fever and pain syndrome**

Flu and arbovirus

**Hemorrhagic fevers**

Ebola, virus Lassa fever, Haantan virus

**Mononucleosis**

EBV, CMV, VIH, HSV, chicken pox, adenovirus, rubella

**Eruptive fevers**

**Rash maculopapular**

Measles, rubella, Parvovirus, HHV-6

**Vesicular eruption**

HSV-1, HSV-2, VZV

**Rash pustular**

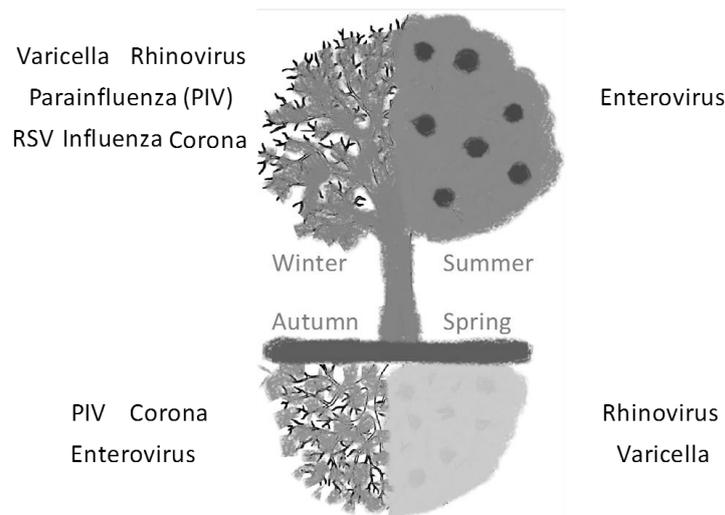
HSV-1, HSV-2, VZV

446

447

448

**Fig. 3: Different types of viruses with the corresponding types of infections**

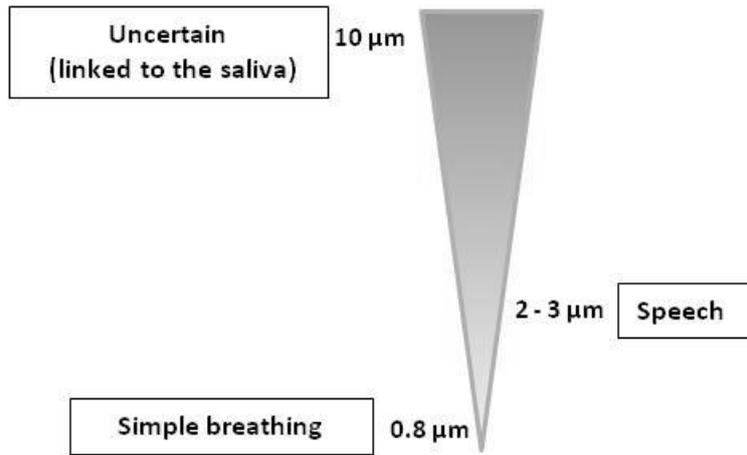


All seasons: Picornaviridae, Adenovirus (Herpes)

449

450

**Fig. 4: Distribution of respiratory viruses according to the season**



451

452

**Fig. 5: Size of the particles expelled from the oropharyngeal sphere**



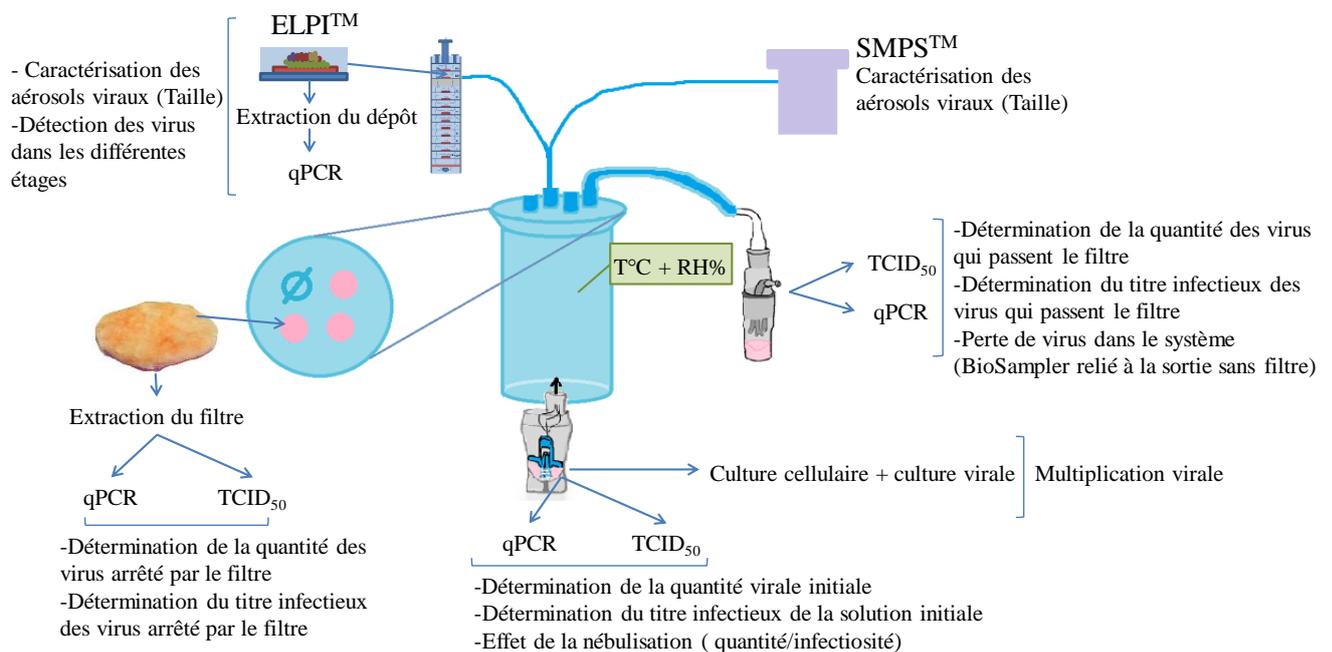
### *Chapitre 3 : Les démarches scientifiques*

---



## Chapitre 3 : Les démarches scientifiques

Afin d'étudier le comportement des virus sur un filtre dans une CTA, il a tout d'abord été nécessaire de développer une approche méthodologique. Ce troisième chapitre de thèse consiste à exploiter la méthodologie générale de l'étude visant à étudier le devenir des virus respiratoires dans les systèmes de traitement d'air au niveau des fibres de verre – F7 utilisés dans les milieux internes. Durant ce travail, des méthodes de caractérisation des aérosols (ELPI, SMPS), des techniques de biologie moléculaire (qPCR) et des techniques de biologie cellulaire (culture cellulaire et TCID<sub>50</sub>) ont été employées pour étudier le devenir de ces virus dans un système expérimental qui représente un modèle réel d'une centrale de traitement de l'air. Le schéma ci-dessous montre les moyens expérimentaux utilisés pour répondre aux questions scientifiques de ce travail (Schéma 2).



**Schéma 2: Illustration des démarches scientifiques utilisées durant ce travail**

## I. Description et validation du système expérimental :

Le système expérimental utilisé dans cette étude est adapté d'une étude précédente (Forthomme et al., 2012). Ce système montre une vitesse frontale de filtration, au niveau de chaque filtre, de  $0.16 \text{ m. s}^{-1}$  qui est représentative des vitesses observables dans les CTA sur un filtre F7 plissé. Il est constitué d'une colonne verticale en polyméthacrylate de méthyle. Une aérosolisation des particules virales a été réalisée par un nébuliseur médical (Omron C29 – CompAir pro) à l'aide d'un débit d'air de  $4.5 \text{ L. min}^{-1}$  grâce à une alimentation en air comprimé. Au bout du cylindre, quatre emplacements circulaires de 4 cm diamètre sont présents pour recevoir les filtres de l'étude. Ces derniers sont disposés perpendiculairement à l'écoulement de l'air. Trois emplacements sur 4 ont été équipés du filtre F7 à étudier. En aval des quatre sorties du cylindre, des BioSampler ont été placés pour effectuer l'échantillonnage des particules virales. Le débit d'échantillonnage a été fixé à  $13 \text{ L. min}^{-1}$  à l'entrée de chaque BioSampler. Deux pompes volumétriques ont été placées en aval du dispositif pour assurer le débit d'air à traiter au travers des filtres. Le dispositif a été positionné sous une hotte à flux laminaire avec de l'air propre et stérile (Figure 22).

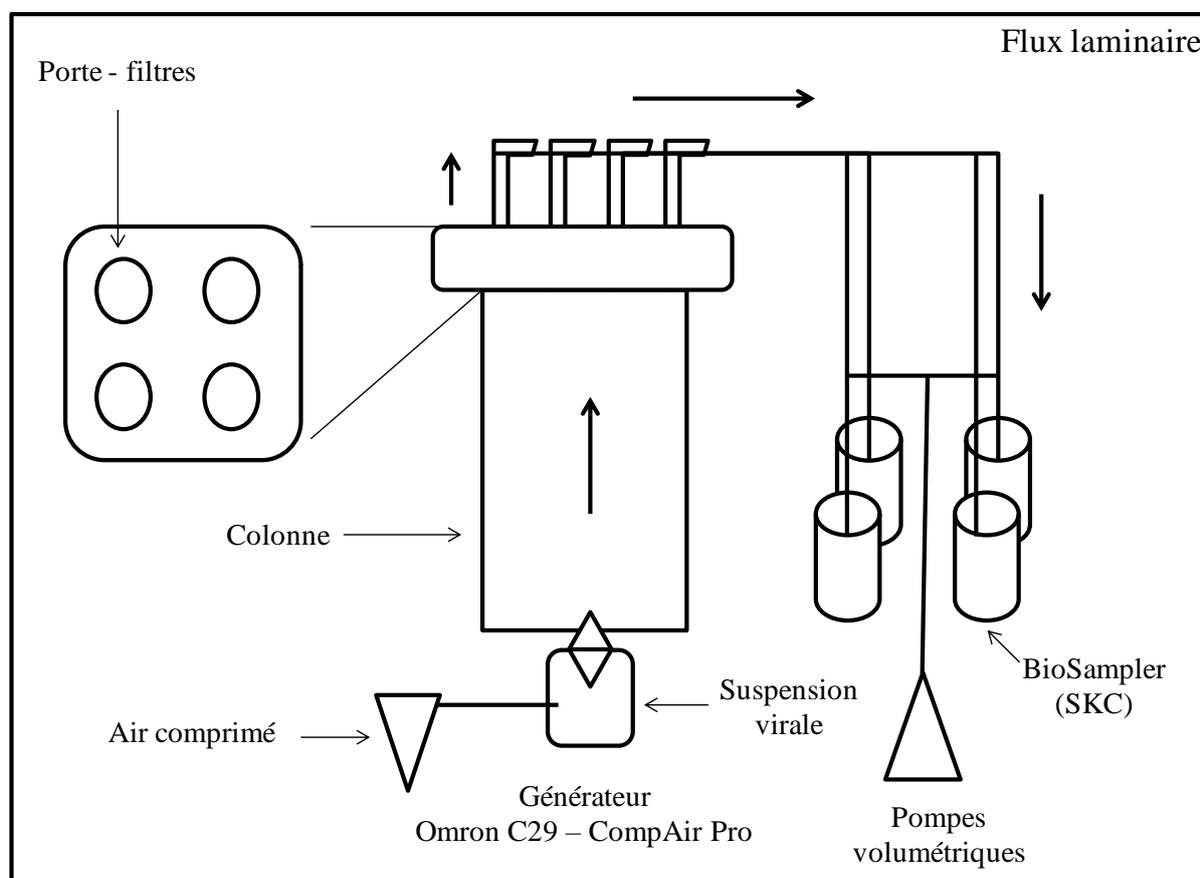
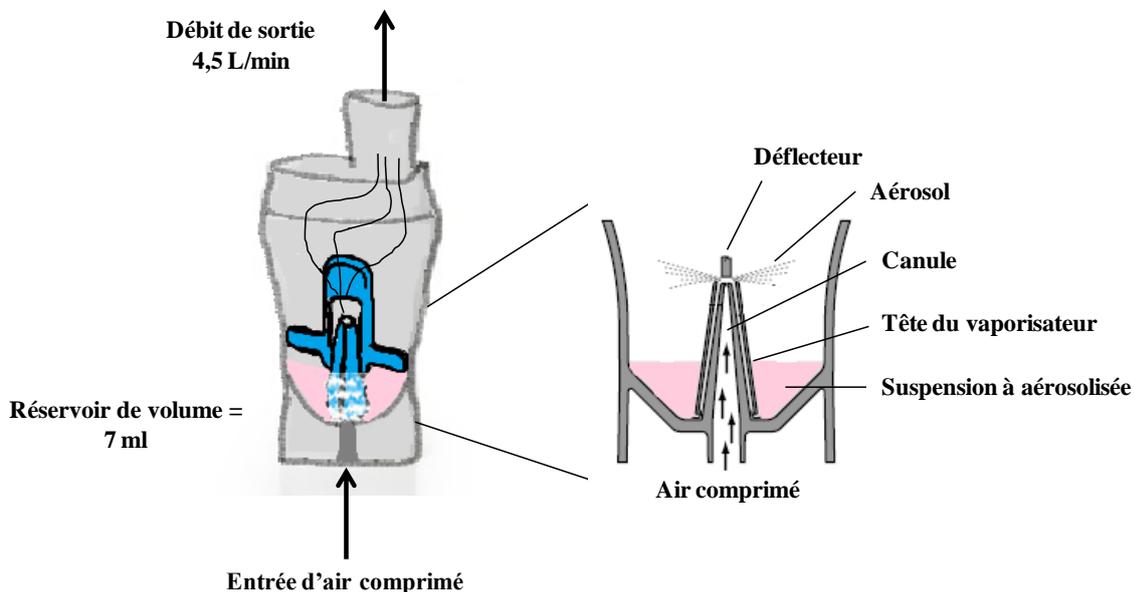


Figure 22 : Description du dispositif expérimental

Pour valider le système et afin de suivre la quantité de particules générées au niveau de chacun des quatre portes filtres, une solution de fluorescéine a été générée par le nébuliseur médical à travers le dispositif de filtration, avec ou sans filtre à un débit de  $4,5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ . Les avantages de cette molécule sont sa taille entre 10 et 15 nm (Raghavachari, 2000), la facilité de l'extraction par l'eau grâce à son caractère hydrophile et la facilité de la détection par une mesure d'absorbance à la longueur d'onde  $\lambda = 470 \text{ nm}$ . Ainsi, la quantité de fluoresceine a été mesurée au niveau des filtres et des BioSamplers. Un bilan massique a été établi (voir chapitre 4).

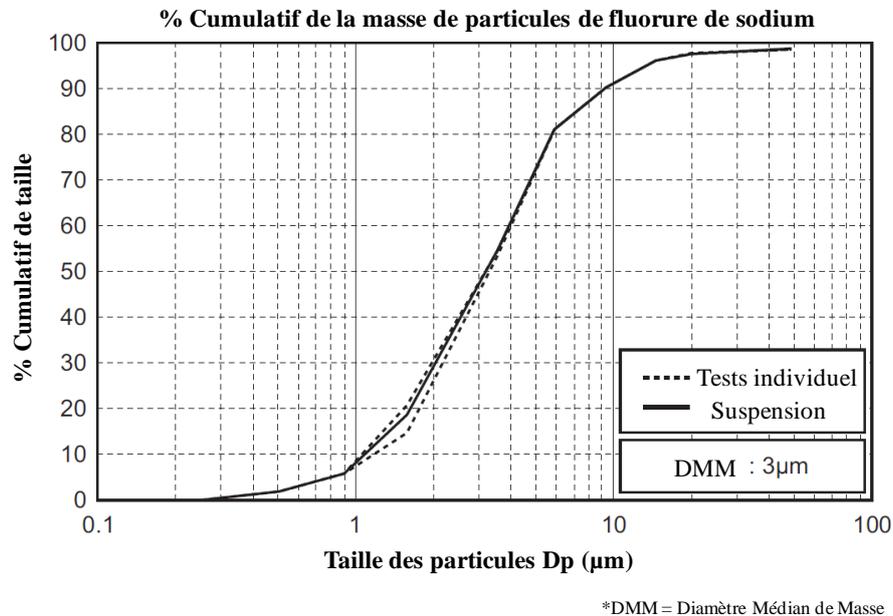
**i. Nébuliseur médical (Omron C29 – CompAir pro)**

Ce nébuliseur permet de générer des concentrations importantes d'aérosols. C'est la solution la plus employée pour l'aérosolisation de microorganismes (Chen et al., 1994; Jensen et al., 1992). L'air comprimé généré par le compresseur est projeté à travers la canule où il est mélangé avec la suspension se trouvant dans la tête du vaporisateur, puis il est emporté vers le haut. La suspension est ensuite transformée en aérosol fin et est entraînée vers le haut par le déflecteur, où elle est décomposée en nombreuses particules d'aérosol plus petites (Figure 23).



**Figure 23 : Description du nébuliseur médical (Omron C29- CompAir pro) adapté du**  
 (“Omron NE-C29-E Manuals,” )

D'après le manuel Omron NE-C29-E, une étude a été effectuée sur la caractérisation des aérosols formés par ce nébuliseur à l'aide d'un impacteur en cascade. Les mesures montrent une variation de taille d'aérosols comprise entre 0,1 et 50  $\mu\text{m}$  dont la grande majorité des aérosols sont de diamètre compris entre 1 et 10  $\mu\text{m}$  avec un diamètre médian de 3 $\mu\text{m}$  (Figure 24).



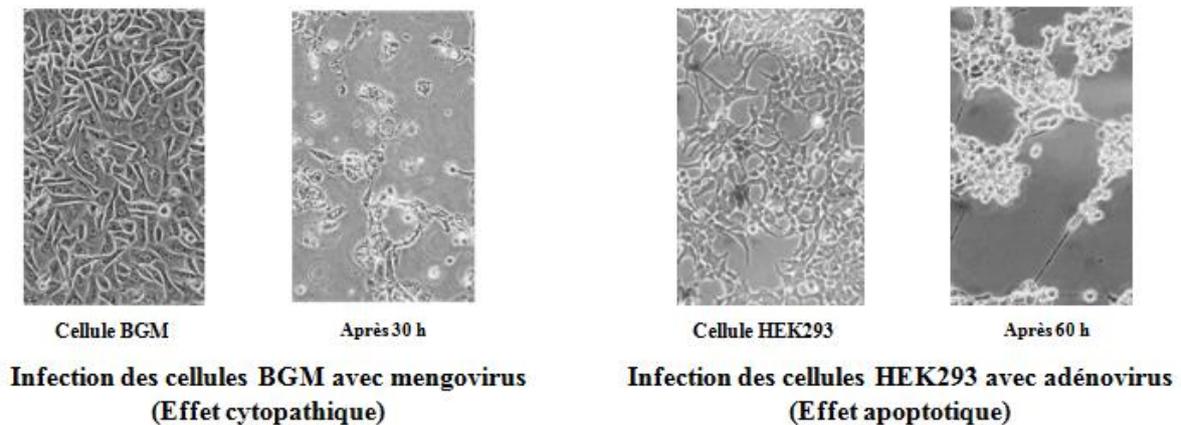
**Figure 24 : La caractérisation des aérosols formés par Omron C29 – CompAir pro à l'aide d'un impacteur en cascade adapté du "Omron NE-C29-E Manuals,"**

## II. Virus et support cellulaire

Durant cette étude, on a choisi de travailler sur les virus respiratoires en utilisant deux modèles types de virus nus à ADN et à ARN. Le mengovirus MC0 (ATCC VR-1957) est un virus modèle à ARN de la famille des *picornaviridae*. Ce virus présente des caractéristiques similaires au rhinovirus responsable du rhume avec une taille d'environ 30 nm. L'adénovirus humain de type 2 est un virus respiratoire à ADN de taille comprise entre 70-90 nm. Ce virus est responsable de pharyngites et de pneumonies et parfois de conjonctivites.

La multiplication de ces deux virus s'effectue sur deux différents types de cellules avec différentes formes de multiplication. Le mengovirus se propage dans les cellules épithéliales rénales de BGM (Buffalo Monkey African green, Monkey kidney cells). Sa multiplication se manifeste par un effet cytopathique des cellules. Elles s'arrondissent puis finissent par se lyser. L'adénovirus se multiplie dans les cellules épithéliales rénales HEK 293 (Human Embryonic

Kidney cells). La multiplication d'adénovirus s'exprime par un effet apoptotique qui se manifeste par un arrondissement des cellules mais pas de lyse. (Figure 25)

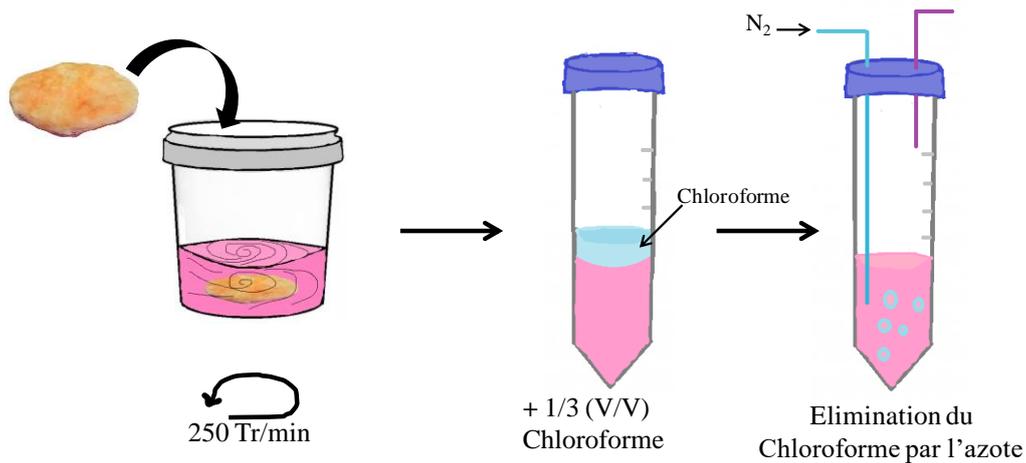


**Figure 25 : La multiplication virale du mengovirus et de l'adénovirus**

La quantité de mengovirus produite était plus importante que celle d'adénovirus. Cette différence est due aux types de multiplication où le mengovirus est plus facilement libéré suite à l'éclatement des cellules BGM mais l'adénovirus est moins libéré suite à l'apoptose des cellules HEK 293.

### **III. Extraction des virus du filtre**

Pour étudier la quantité de virus arrêtés par le filtre et leur infectiosité, une méthode d'extraction a été employée. Après 25 minutes d'aérosolisation, les filtres ont été rincés dans du milieu de culture préchauffé (37°C). Le rinçage des filtres se fait sous agitation à 250 Tr. min<sup>-1</sup>. Ce rinçage a été effectué deux fois sur chaque filtre pour extraire le maximum des virus du filtre. Comme les filtres ne sont pas stériles, ils peuvent contenir d'autres microorganismes entraînant la contamination des cellules et leur dégradation. C'est pourquoi le milieu de l'extrait récupéré a été traité avec 1/3 (V/V) de chloroforme (Figure 26). Le chloroforme a ensuite été éliminé par un bullage d'azote.



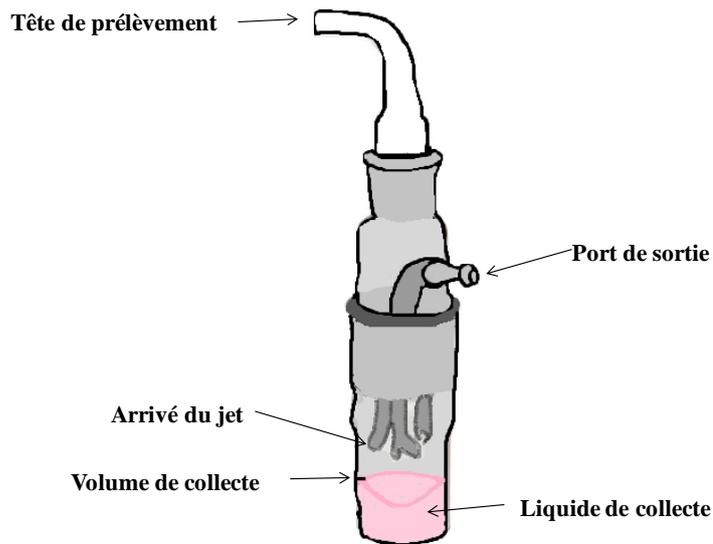
**Figure 26 : Extraction des virus du filtre et traitement par chloroforme**

#### **IV. Mesure de l'aérosol**

La collecte de l'aérosol a été réalisée à l'aide d'un « impinger » : le BioSampler SKC et la caractérisation des aérosols a été réalisée par deux dispositifs : Electrical Low Pressure Impactor (ELPI™) et Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS™).

##### **i. Biosampler SKC Inc**

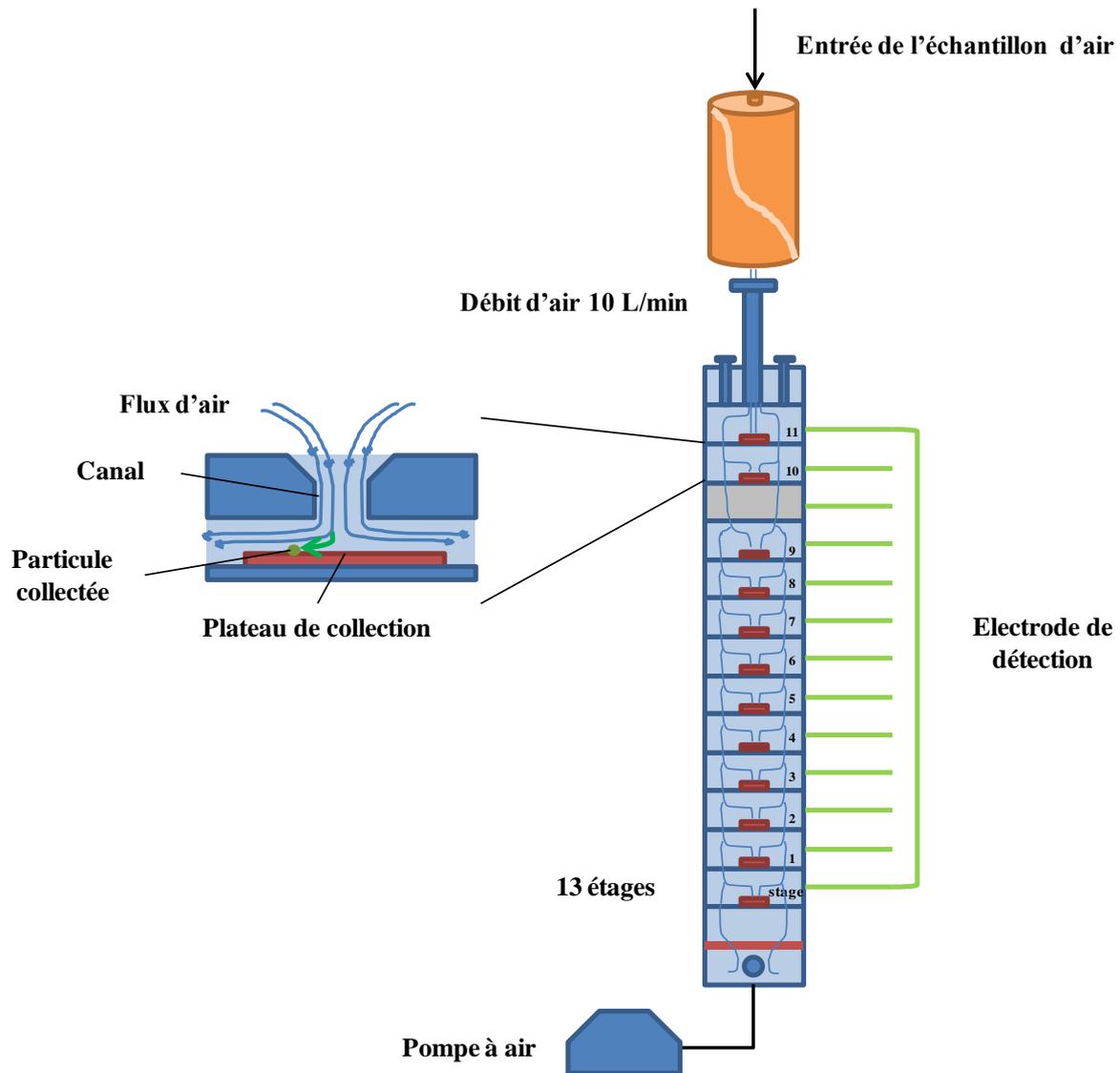
Le BioSampler (SKC Inc., Pennsylvanie, Etats Unis) est basé sur le principe de l'échantillonnage des particules. Avec un tube d'entrée courbé, il simule l'entrée d'air dans le passage nasal en séparant les particules respirables des particules non respirables. Les échantillons d'air sont prélevés sur 20 ml d'une solution isotonique à 13 L. min<sup>-1</sup> pendant 15 ou 20 minutes car les liquides sont évaporables (Figure 27). Le BioSampler montre une efficacité comprise entre 55 et 67% pour les particules de taille inférieure à 0,5 µm, plus de 80% pour les particules d'une taille comprise entre 0,5 et 1 µm et plus de 95% pour les particules supérieures à 1 µm. Dans cette étude avec une taille de virus de 27 nm et 90 nm, l'efficacité du BioSampler a été estimée à 65% (Zheng and Yao, 2017).



**Figure 27 : Schéma descriptif du BioSampler (SKC inc.) adapté de Lin et al., (1999)**

**ii. Electrical Low Pressure Impactor (ELPI™)**

L'ELPI est un impacteur basse pression à détection électrique constitué de 13 étages de collecte avec différentes tailles comprises entre 7 nm et 10 µm, fonctionnant à un débit de 10 L. min<sup>-1</sup>. Un chargeur Corona (Dekati, Kangasala, Finland) charge les particules à collecter puis une impaction en cascade à basse pression sur les différents étages reliés à des électromètres est réalisée. La séparation des particules s'effectue en fonction du diamètre aérodynamique et la détection des particules est faite par des signaux électriques sur des électrodes. (Figure 28)



**Figure 28 : Description de l'ELPI adapté de [www.dekati.com](http://www.dekati.com)**

L'ELPI permet la collecte et l'analyse des différentes fractions par culture ou biologie moléculaire (QPCR). La récupération des particules se fait par un lavage du plateau de collecte avec 5 ml de milieu de culture et agitation pendant 10 min à 250 tours. min<sup>-1</sup>.

### iii. Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS<sup>TM</sup>)

Le SMPS est constitué de différentes parties : un Analyseur Différentiel de Mobilité Électrique (DMA) pour la sélection des diamètres des particules, un compteur à noyaux de condensation (CNC) pour le dénombrement et une gestion informatique pour le post traitement des données CNC. La gamme de mesure de l'instrument s'étend de 10 nm à 1 µm. Les particules dans l'échantillon sont impactées, neutralisées et ensuite sélectionnées selon le diamètre de mobilité. Ces particules sont enfin rassemblées par canaux de mobilité électrique, où chaque

canal se synchronise à un intervalle de diamètres et elles sont ensuite dénombrées dans la chambre de détection du CNC. (Figure 29)

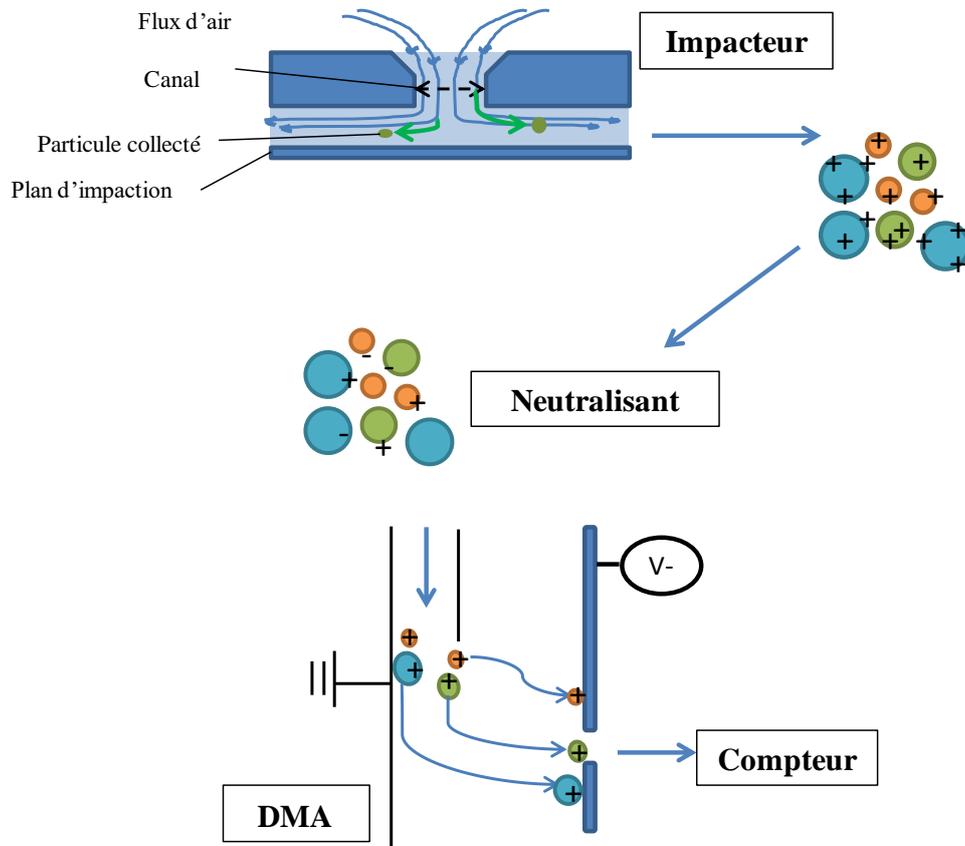


Figure 29 : Description du SMPS adapté de Guha et al., (2012)

## V. Méthode de détection quantitative et qualitative des virus

Dans cette étude, une détection quantitative et qualitative a été effectuée pour étudier la quantité et la persistance des virus dans le système. Pour la détection quantitative la Q-PCR a été employée et pour la détection de survie, le test TCID50 a été utilisé.

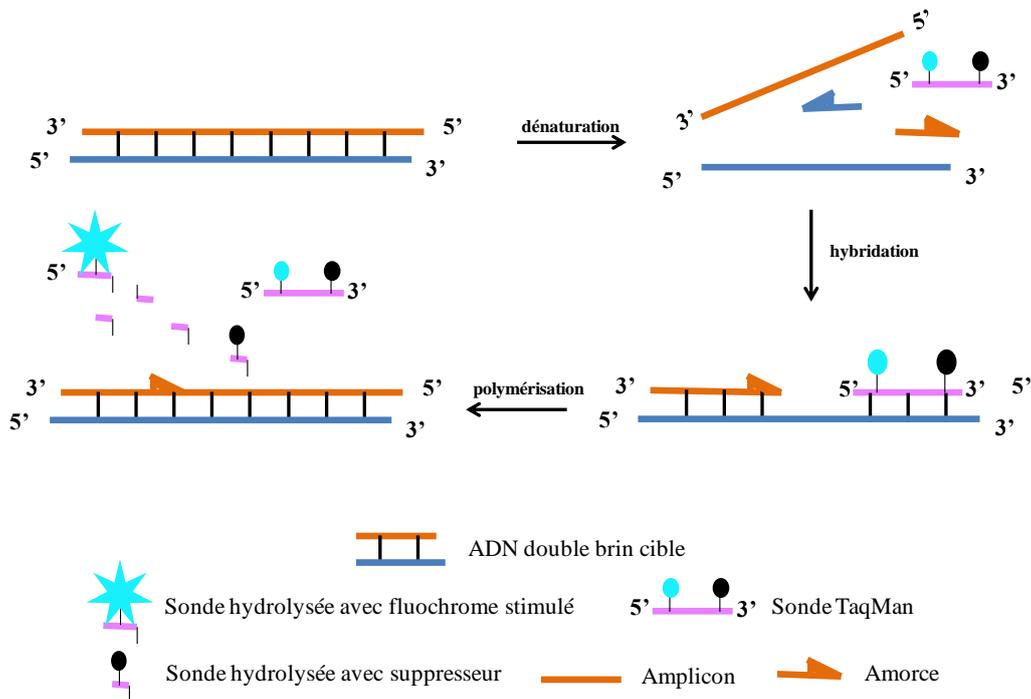
### i. Réaction en chaîne par polymérase en temps réel (PCR quantitative)

La PCR en général permet de recopier un segment d'ADN des millions de fois et de le rendre visible, grâce à un appareil qui contrôle les changements de températures à différentes étapes de la réaction : dénaturation, hybridation et extension. La PCR quantitative (Steve Bustin, 2000) repose sur la détection et la quantification de l'ADN amplifié à l'aide de l'introduction d'une sonde marquée par un émetteur de fluorescence. La procédure d'amplification et l'augmentation des signaux fluorescents émis est directement relative à la quantité d'amplicons produits pendant la réaction. On distingue

deux principes généraux pour la détection quantitative des amplicons : les agents se liant à l'ADN double brin (ex. SYBR Green I) et les sondes fluorescentes. Les sondes fluorescentes sont plus spécifiques que le SYBR Green dans la mesure où elles sont complémentaires du brin d'ADN à amplifier. En raison de la difficulté de détection de la sonde pour l'adénovirus, il a été nécessaire de recourir à la détection par SYBR green. Une description brève des deux techniques est proposée ci-dessous.

- **Hydrolyse de sondes (Hydrolysis probes : Taqman assay) (Figure 30)**

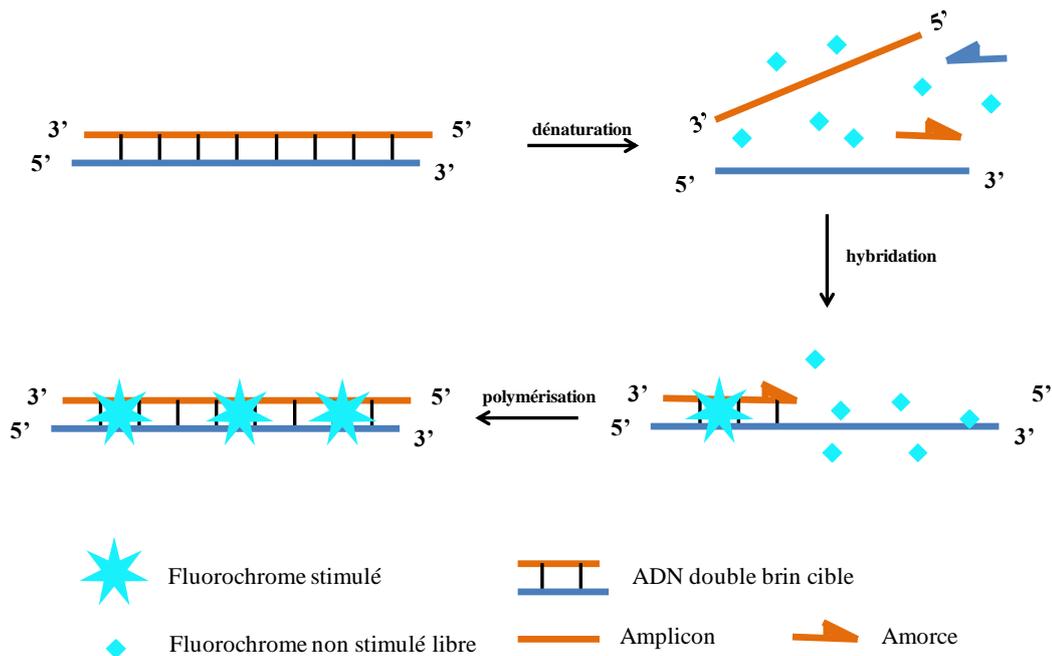
Durant l'étape d'hybridation/élongation de la PCR, la technologie Taqman se base sur l'hydrolyse de la sonde hybridée sur sa séquence cible par l'activité 5'-exonucléasique de la Taq polymérase. Un fluorochrome émetteur (reporter) est fixé à l'extrémité 5' de la sonde d'hybridation et son émission est inhibée par un second fluorochrome suppresseur (quencher) présent à l'extrémité 3'. Par le principe FRET (fluorescence resonance energy transfer), le fluorochrome émetteur transfère son énergie au fluorochrome suppresseur voisin qui dissipe cette énergie sous forme de chaleur plutôt que d'émettre de la fluorescence (Mackay et al., 2002). Étant donné que la Taq polymérase est spécifique à l'ADN double brin, aucune fluorescence n'est émise. Lors de l'hybridation, la sonde et les amorces se fixent à leurs séquences complémentaires respectives et la Taq polymérase débute l'élongation du nouveau brin d'ADN à partir de l'amorce jusqu'à ce qu'elle rencontre sur son passage la sonde hybridée qu'elle déplace et hydrolyse avec son activité 5'-exonucléasique. Le reporter est alors libéré permettant l'émission de fluorescence qui est proportionnel au taux d'hydrolyse de la sonde.



**Figure 30 : Description du fonctionnement de la technologie TaqMan**

- **Les agents se liant à l'ADN double brin (Double-stranded DNA binding dyes: SYBR Green) (Figure 31)**

Lors de l'amplification, l'agent fluorescent montre une faible fluorescence. Durant l'étape d'élongation, la fixation de l'agent entre les brins d'ADN entraîne une augmentation de la fluorescence. Ensuite durant la polymérisation, un suivi en temps réel de l'augmentation du signal fluorescent est réalisé et l'émission fluorescente décroît complètement lorsque l'ADN est dénaturé à l'étape suivante. Cette émission de fluorescence est mesurée à la fin de chaque étape d'élongation en temps réel (Bustin, 2000).



**Figure 31 : Description du fonctionnement de la QPCR en SYBR Green**

▪ **Détermination de la concentration virale**

Les valeurs de fluorescence enregistrées à chaque cycle d'amplification représentent la quantité d'amplicons en un temps précis de la réaction. Plus il y a de matrices à amplifier au démarrage, moins élevé sera le nombre de cycles requis pour atteindre un point où le signal d'émission de fluorescence sera statistiquement et significativement plus élevé que le bruit de fond (Gibson et al., 1996). Ce point est déterminé comme étant le cycle seuil (Ct). La valeur du Ct peut être interprétée en un résultat quantitatif en la comparant avec les valeurs du Ct générées avec des matrices de quantification connues (droite d'étalonnage).

ii. **Test « Tissue Culture Infective Dose 50 » (TCID<sub>50</sub>)**

Le test TCID<sub>50</sub> (Tissue Culture Infective Dose) est utilisé afin de déterminer le titre infectieux d'un échantillon donné. Ce test se réalise ici sur les cellules BGM ou HEK293 infectées par des dilutions en série de l'échantillon viral, puis incubées pendant quelques jours. La lecture des plaques consiste à déterminer jusqu'à quelles dilutions on peut observer des effets cytopathiques ou apoptotique.

- **Préparation et infection des cellules :** Les cellules sont mises en culture la veille afin de leur laisser le temps d'adhérer au support : les cellules sont doncensemencées dans

des plaques 96-puits à  $7.10^4$  cellules par puits pour BGM et  $4.10^3$  cellules par puits pour adénovirus. Les plaques sont ensuite incubées 24h à 37°C sous 5% de CO<sub>2</sub>. Le jour du test, les puits sont vidés et infectés avec différentes dilutions de la suspension virale. Les cellules sont alors incubées pendant 48h pour les cellules BGM et 96h pour les cellules HEK 293.

- **Lecture et interprétation des plaques** : Les plaques sont examinées au microscope afin de compter les puits présentant un effet cytopathique ou apoptotique. Les titres infectieux sont alors calculés en appliquant la méthode de Spearman-Kärber (1931).
- **Difficulté observée** : La lecture des plaques dans ce travail est basée sur la présence d'un effet cytopathique pour les cellules BGM ou un effet apoptotique pour les cellules HEK 293. L'effet cytopathique est très facile à détecter à la suite de la lyse des cellules alors que l'apoptose est plus difficilement détectable (gonflement des cellules, bourgeonnement des membranes et formation d'amas cellulaires) c'est pourquoi d'autres méthodes de détection de l'apoptose ont été envisagées.

### iii. **Autres techniques de détection de l'apoptose**

Les outils de détection se sont développés depuis la première description de l'apoptose effectuée par Kerr et al., (1972). Ces outils de détection ciblent les modifications morphologiques des cellules en apoptose comme la condensation du noyau ou la formation des corps apoptotiques. Les plus récentes repèrent les modifications au niveau des cellules particulièrement au niveau mitochondrial avec leur libération de particules. Il existe de nombreuses techniques permettant l'étude d'une étape précise de l'apoptose. Quelques-unes sont mentionnées ci-dessous.

- **Altérations membranaires**

Un marquage de la membrane plasmique qui subit une translocation des phosphatidylsérines (PS) du feuillet interne vers l'externe. L'annexine V est une protéine qui se lie aux PS. Ce marquage peut être visualisé par microscopie en fluorescence. Cette méthode est fiable pour les cellules non adhérentes. Dans le cas des cellules adhérentes, un décollage des cellules est nécessaire mais qui entraîne un biais dans les résultats.

- **Activation des caspases**

Plusieurs techniques peuvent cibler les caspases qui interviennent dans les phases précoces de l'apoptose. Il existe plusieurs techniques :

- Dosage de l'activité des caspases, notamment de la caspase-3 (fluorimétrie, colorimétrie)
- Mise en évidence des caspases actives (immunohistochimie, western blot...)
- Détection d'un produit de clivage tel que la PARP (poly ADP-ribose polymérase) (immunofluorescence ou western blot)

- **Marquage de l'ADN**

Plusieurs méthodes de marquage ciblant l'ADN de la cellule morte ont été décrites. Une des méthodes correspond au marquage de contenu d'ADN ou le noyau avec DAPI, Di Aminido Phenyl Indol qui se lie à l'ADN. Le DAPI est une molécule qui absorbe la lumière ultraviolette et la renvoie en émettant une lumière fluorescente de couleur bleue. On utilise le DAPI en tant que colorant en biologie moléculaire afin de détecter et de quantifier l'ADN. En effet, cette molécule possède la particularité de se fixer spécifiquement sur les cellules d'ADN. On se sert pour cela d'un microscope à fluorescence capable d'émettre une lumière ultraviolette dont la longueur d'onde se situe environ à 350 nm.

- **Fragmentation de l'ADN**

La mise en évidence de la fragmentation de l'ADN pendant le processus apoptotique peut être également utilisé. Ces fragments peuvent être mis en évidence par plusieurs techniques :

- « DNA ladder » : électrophorèse sur gel d'agarose permettant la visualisation des fragments d'ADN.
- ELISA (Enzyme-Linked Immuno Assay) : quantification des nucléosomes. Cette technique est principalement utilisée en immunologie qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps.

- **Détection des protéines liées à l'apoptose**

Un grand nombre de protéines s'expriment lors de l'apoptose et d'autres entrent dans la régulation de l'apoptose comme par exemple : Bcl-2, p53, c-myc... L'immunofluorescence, western blot peuvent permettre de détecter les mécanismes mis en jeu.

## **VI. Normalisation des résultats**

Les résultats de quantification et d'infection des virus ont été normalisés par le volume d'air et la surface du filtre.

- Pour la solution initiale, les résultats ont été normalisés par le volume d'air qui est passé par les 4 sorties ce qui est équivalent à 1300 litres d'air. Donc chaque sortie de la colonne reliée au BioSampler présente un passage de 325 litres d'air pendant les 25 min d'aérosolisation.
- Pour les nombres de virus quantifiés ou persistants sur le filtre, les résultats ont été normalisés par rapport à la surface du filtre soit  $17,72 \text{ cm}^2$ .



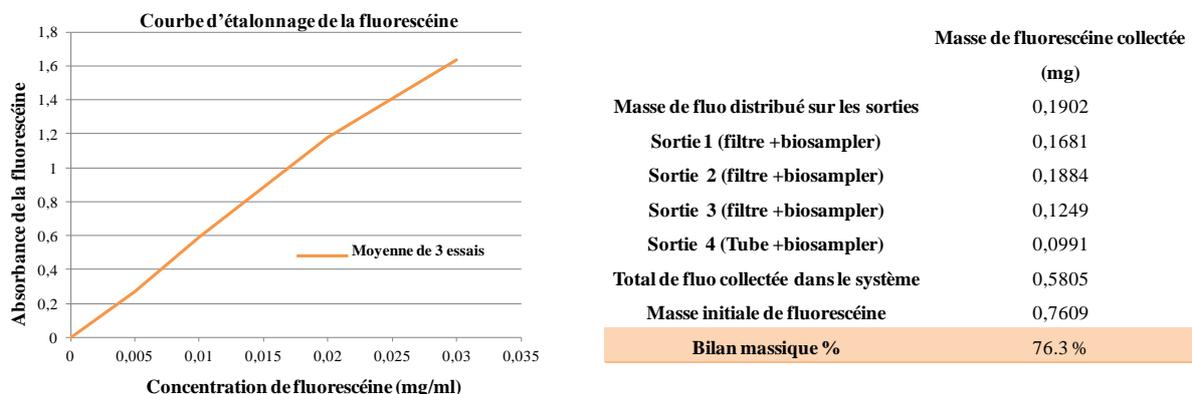
***Chapitre 4 : Validation du système expérimental et étude du devenir du mengovirus sur les filtres F7 dans les CTA***

---



## Chapitre 4 : Validation du système expérimental et étude du devenir du mengovirus sur les filtres F7 dans les CTA

L'étude bibliographique a permis de constater que les informations sur les aérosols viraux au niveau des centrales de traitement d'air ne sont pas suffisantes. Un système expérimental qui simule la réalité du fonctionnement des CTA décrit dans le chapitre 2 a été choisi. Ce système a été validé par la fluorescéine qui est une molécule hydrophile et facile à détecter (chapitre 2). Une quantité de 0,76 mg de fluorescéine a été aérosolisée dans le système par le nébuliseur médical. Après 25 minutes d'aérosolisation, on a mesuré l'absorbance des liquides de collecte contenus dans différentes parties du système : le liquide collecté dans le BioSamplers et le liquide extrait suite au lavage des filtres. Il a donc été possible de déduire la masse de fluorescéine retenue dans le système à partir d'une courbe d'étalonnage (absorbance de la fluorescéine en fonction de la concentration de fluorescéine dans l'eau désionisée). En moyenne, on a collecté jusqu'à 0,58 mg de la fluorescéine totale récupérée dans le système (BioSampler, filtre et tube) à partir d'une masse initiale de fluorescéine de 0,76 mg conduisant à une efficacité du système de 76,3%. (Figure 32)



**Figure 32 : Validation du système par la fluorescéine (courbe d'étalonnage + bilan massique)**

La température et l'humidité relative (RH%) ont été mesurées au niveau des filtres pendant l'aérosolisation du milieu sans virus pendant 25 min. La température est restée stable à  $16^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  (la température ambiante). L'humidité relative a augmenté jusqu'à atteindre un maximum de 89% en 14 min et elle a diminué jusqu'à 52% après 25 minutes d'aérosolisation. Après l'étude de la température et l'humidité relative et la validation du système par la fluorescéine, le virus ARN, mengovirus, a été aérosolisé dans le système. Les particules virales qui traversent le filtre sont collectées à l'aide de BioSampler. La détection des particules virales

et l'étude de la viabilité sur les filtres ont été effectuées respectivement par qPCR et TCID<sub>50</sub>. La caractérisation des particules virales a été effectuée à l'aide de l'ELPI et du SMPS.

Une efficacité de filtration a été calculée comprise entre 83,8 et 98,5% pour les filtres F7. En associant la caractérisation du mengovirus par ELPI<sup>TM</sup> avec la détection du virus par qPCR dans les aérosols étudiés, on trouve que le virus ne peut pas être aérosolisé en tant qu'un virus unique mais il pourrait être constitué de groupes de virus ou associé à des protéines ou encore à des débris de cellules. En se basant sur la quantification et la détection de l'infectiosité dans le système par la mesure RT-qPCR et TCID<sub>50</sub>, l'étude montre que les virus sont capables de passer le filtre et que les virus qui ont été arrêtés par le filtre et ceux qui ont traversé les filtres sont restés infectieux. De plus il a été également observé que le temps avait un effet sur l'infectiosité de mengovirus. En effet, avec un flux d'air continu dans le système, aucun virus infectieux n'a été récupéré après 10 heures d'aérosolisation.

Des études récentes ont essayé de comprendre les lacunes existantes entre le comportement des bactéries et des champignons sur les médias filtrants et le rôle des CTA dans la propagation et le transport des particules virales dans les bâtiments. Cette étude présente de nouvelles informations sur la caractérisation et le devenir du mengovirus, un virus respiratoire à ARN non enveloppé, dans des environnements intérieurs et son comportement sur les filtres dans les centrales de traitement de l'air.

# The Fate of Mengovirus on Fiberglass Filter of Air Handling Units

Victor Bandaly<sup>1,2,3</sup>  · Aurélie Joubert<sup>1</sup> · Pierre Le Cann<sup>2,3</sup> · Yves Andres<sup>1</sup>

Received: 28 April 2017 / Accepted: 23 June 2017  
© Springer Science+Business Media, LLC 2017

**Abstract** One of the most important topics that occupy public health problems is the air quality. That is the reason why mechanical ventilation and air handling units (AHU) were imposed by the different governments in the collective or individual buildings. Many buildings create an artificial climate using heating, ventilation, and air-conditioning systems. Among the existing aerosols in the indoor air, we can distinguish the bioaerosol with biological nature such as bacteria, viruses, and fungi. Respiratory viral infections are a major public health issue because they are usually highly infective. We spend about 90% of our time in closed environments such as homes, workplaces, or transport. Some studies have shown that AHU contribute to the spread and transport of viral particles within buildings. The aim of this work is to study the characterization of viral bioaerosols in indoor environments and to understand the fate of mengovirus eukaryote RNA virus on glass fiber filter F7 used in AHU. In this study, a set-up close to reality of AHU system was used. The mengovirus aerosolized was characterized and measured with the electrical low pressure impact and the scanner mobility particle size and detected with RT-qPCR. The results about quantification and the level of infectivity of mengovirus on the filter and in the biosampler showed that mengovirus can pass through the filter and remain infectious upstream and downstream the system. Regarding the virus infectivity on the filter under a

constant air flow, mengovirus was remained infectious during 10 h after aerosolization.

**Keywords** Indoor air quality · Fiberglass filter · AHU · Mengovirus

## Introduction

Many buildings, especially office buildings, create an artificial climate by using heating, ventilation, and air-conditioning (HVAC) systems. These systems manage and deliver fresh air with a well-controlled temperature (T) and relative humidity (RH) and a reduction in the concentration of particles from the outside air (Seppänen and Fisk 2004). Good maintenance of air handling units (AHUs) leads to health benefits and better productivity. Some individualized biological elements like spores, bacterial cells, and viruses are present in the indoor air and included in the term “bioaerosol” (Douwes et al. 2003). Particles can be classified on a scale of 0.005–100 µm. Closed environments are 5–10 times more polluted than outside (Jones 1999). A few studies have provided the number of hours that people spend in closed environments like offices, homes, shops, and gyms. In 2014, Export Enterprises SA published the number of hours spent indoors per day in different countries in the world. They estimated an average of 8.12 h per day, equivalent to 34% of the day (Export Enterprises SA 2014). According to neuroscience research, people sleep for 29–33% of their day (Aritake et al. 2004; Siegel 2003) while another sociological study revealed that people spend 14% of their day at home (Turcotte 2005).

Respiratory viral infections are one of today’s most important public health topics due to their high contagiousness. Most of them are easily transmitted by direct

✉ Victor Bandaly  
victor.bandaly@mines-nantes.fr

<sup>1</sup> GEPEA—CNRS, UMR 6144, IMT Atlantique, 44000 Nantes, France

<sup>2</sup> EHESP, 35000 Rennes, France

<sup>3</sup> IRSET—INSERM, UMR 1085, 35000 Rennes, France

contact, droplets, or aerosolization. These infections can evolve from an ordinary viral infection to an outbreak (Tellier 2006). All particles smaller than 30  $\mu\text{m}$  in size can invade a room very rapidly (Morawska 2006). It is estimated that 7 mg of particles less than 2  $\mu\text{m}$  in size can be emitted by coughing (Zhu et al. 2006). The study of Fabian et al. (2011) demonstrated that a person infected with influenza can exhale 3–20 influenza viruses per min with just normal breathing. Another study of Coxsackie virus explained that 160 viral particles are emitted during sneezing and coughing (Couch et al. 1966; Downie et al. 1965). On average, 480 L of air are breathed by an adult in 1 h (Hermann and Cier 1973). The studies of Couch et al. (1966) and Downie et al. (1965) observed that infected people can generate 0.1–10 viruses  $\text{L}^{-1} \text{h}^{-1}$  and proved that two infected people simply breathing (without coughing or sneezing) and occupying an office of 40  $\text{m}^3$  for 4 h can contaminate indoor air with 0.24 virus  $\text{L}^{-1} \text{m}^{-3}$  (with no renewal of air).

An air handling unit is composed of several sections of mixing, heating, cooling, humidification, and filtration. Three main filter types are distinguished according to the efficiency of filtration: G1–G4 (low efficiency), M5–M6 (40  $\leq$  average efficiency  $<80$ ), F7–F9 (80  $\leq$  average efficiency  $<95$ ), and E10–E12/H13 to H14/U15–U17 (very high efficiency  $>95$ ) (EN779:2012, EN1822:2009). Air filters consist of clusters of fibers (mats, felts, papers, glass). The efficiency of the air filter is based on four mechanisms (sieving, inertia, interception, and diffusion) (Baillly 2001).

Filters in ventilation systems could be a source of microbial air pollution in the closed environment (Bluyssen et al. 2003). Some studies have shown that ventilation systems and AHUs spread and transport viral particles inside buildings (Ezratty and Squinazi 2008; Fabian et al. 2008; Tang et al. 2006). In a meta-analysis, 22 studies out of 40 proved the direct contribution of ventilation and airflow to spreading indoor infectious airborne viruses in office buildings during the SARS outbreak and other viral outbreaks (Li et al. 2007). Some recent studies have detected airborne bacteria and some specific viruses on HVAC filters in a daycare center (Prussin et al. 2016) and large public buildings (Goyal et al. 2011). Myatt et al. (2004) analyzed 181 filters of AHUs used for 47 h and showed that 58 filters were contaminated with 59% picornavirus, 24% corona virus, and 17% parainfluenza virus. The temperature and the relative humidity (% RH) in the AHU can have an effect on the persistence of viral particles; as temperature and humidity decreases, the persistence of influenza viruses increases. For example, with a temperature of 20–25  $^{\circ}\text{C}$  and 20% RH, the persistence of the influenza virus is higher than at 50% RH. The persistence decreases when humidity increases to 80% (Harper 1961; Lowen et al. 2007; Schaffer et al. 1976). The mengovirus exhibits rapid inactivation at RH between 40 and 60% (Songer 1967).

There are few studies concerning the behavior of viral aerosols in AHUs. This study aimed to develop and standardize an experimental set-up closer to reality to study the spread of viruses in indoor air. It investigates what happens to mengovirus after aerosolization and its fate downstream of the fiberglass filter in closed environments used in air handling units. The performance of the filter in the AHU is assessed in order to reduce the risk of viral transmission in closed environments and have a good indoor air quality and a good life quality.

## Materials and Methods

### Viral and Cell Models

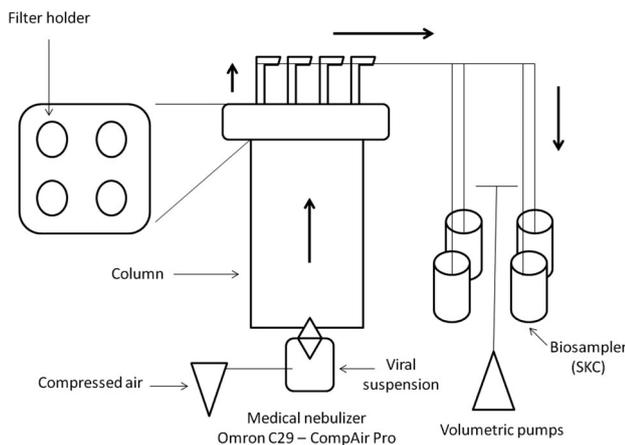
The infectious mengovirus strain MC0 (ATCC VR-1957) was used throughout this study. Mengovirus is an RNA animal virus of the Picornaviridae family. This respiratory virus presents a similar structure to the rhinovirus responsible for the common cold with a size of 27 nm. Renal epithelial cells, type BGM (Buffalo Green Monkey kidney), enabled the replication of mengovirus. BGM cells were grown in Minimum Essential Medium Eagle (MEME) (Sigma, M2279, Missouri, United States) supplemented with 10% fetal calf serum (Sigma F2442), 1% non-essential amino acid (100 $\times$ ) (Sigma, M7145 Missouri, United States), and 1% antibiotic–antimycotic (100 $\times$ ) (Sigma, A5955, Missouri, United States) at 37  $^{\circ}\text{C}$  under an atmosphere enriched with 5%  $\text{CO}_2$ .

### Characteristics of the Filter Medium

A high-efficiency filter classified F7 according to the standard EN 779 (2012) was chosen for this study (Camfil Farr, Stockholm, Sweden) because it is commonly used in AHU systems in commercial buildings. This filter is made of fiberglass felt with a developed surface area of  $3500 \pm 500 \text{ cm}^2$ . The F7 is a highly ventilated multi-layered medium. The filtration velocity is 0.2  $\text{m s}^{-1}$  and the median fiber diameter is  $1 \pm 0.2 \mu\text{m}$ . In this study, a circular filter of 17.72  $\text{cm}^2$  was used in each output (González et al. 2016).

### Experimental Set-up (Forthomme et al. 2012) (Fig. 1)

The experimental design consists of a vertical column made of polymethyl methacrylate where the viruses will be generated and homogenized in the upward air flow. This generation is carried out by the medical nebulizer (Omron C29—CompAir Pro, Hoofddorp, The Netherlands) which ensures an air flow of 4.5  $\text{L min}^{-1}$  supplied by compressed air. At the end of the cylinder, four circular outputs of



**Fig. 1** Description of the experimental set-up (adapted from Forthomme et al. (2012))

diameter 4 cm, which accommodate the filters, are arranged perpendicular to the flow. Three of the four outputs are equipped with the filter to be studied. Downstream of the filters, the BioSampler (SKC Inc., Pennsylvania, USA) samples the particles passing through the filters. The sampling rate is  $13 \text{ L min}^{-1}$  at the entry of each BioSampler (SKC Inc., Pennsylvania, USA). Two volumetric pumps are set downstream of the device to ensure the flow of air treated through the filters. The frontal filtration velocity at each filter is  $0.16 \text{ m s}^{-1}$  and is representative of the velocity observable in the AHUs on a pleated F7 filter. The device is positioned under a laminar flow hood with clean and sterile air.

### Characteristics and Efficiency of the BioSampler

The BioSampler (SKC Inc., Pennsylvania, USA) is based on the principle of particle sampling. With a curved inlet tube, it simulates the entry of air through the nasal passage by separating the respirable particles from the non-respirable particles. Air samples are collected on 20 mL of MEME medium at  $13 \text{ L min}^{-1}$  for 15 or 20 min because the liquids are evaporable (Faure 2010). The BioSampler shows an efficiency greater than 50% for particles larger than  $0.03 \mu\text{m}$ , more than 80% for particles with a size between 0.5 and  $1 \mu\text{m}$  and more than 95% for particles larger than  $1 \mu\text{m}$ . In this study with a virus size of 27 nm, the efficiency of the BioSampler is up to 78%. The collecting liquid can be analyzed.

### Validation of the System by Fluorescein

In order to monitor the amount of particles generated at each of the four filter gates, a fluorescein (CAS number: 518-47-8, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) solution was generated by the medical nebulizer through the filter

device, with or without a filter, at a rate of  $4.5 \text{ L min}^{-1}$ . After 25 min of aerosolization, the absorbance of the collection liquids contained in the BioSamplers and the liquid extracted from the filters was measured at the wavelength  $\lambda = 470 \text{ nm}$  corresponding to fluorescein. It was thus possible to deduce the fluorescein mass retained in the system from a calibration curve (absorbance of fluorescein as a function of the fluorescein concentration in deionized water). This validation was carried out in triplicate. On average, up to 0.58 mg of the total fluorescein recovered in the system was collected (BioSampler, filter and tube) from an initial fluorescein mass of 0.76 mg leading to a set-up efficiency of 76.3%. Table 1 shows an example of the system validation by the mass balance of fluorescein.

### Preparation of Aerosolized Virus Suspension

After multiplication of the mengovirus in the BGM cells and taking into account the fragility of the virus, the virus suspension to be aerosolized was obtained directly from the cell culture medium. The culture was centrifuged for 10 min at  $1750 \times g$  to remove cell debris and the supernatant containing the virus was recovered.

### Aerosol Characterization

The aerosol size was analyzed by the Electrical Low Pressure Impactor (ELPI<sup>TM</sup>, Dekati, Kangasala, Finland) and the Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS<sup>TM</sup>, TSI, Marseille, France). The ELPI<sup>TM</sup> can characterize the aerodynamic size of particles from 7 nm to  $4 \mu\text{m}$  and consists of several removable trays to extract the deposit. The SMPS<sup>TM</sup> can characterize the electrical mobility size of particles from 10 nm to  $1 \mu\text{m}$ .

### Extraction, Primers, Probes, and Molecular Assays

Mengovirus RNA was extracted using a NucliSens<sup>®</sup> easy-MAG<sup>TM</sup> Platform (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France). The reverse transcription was done on the mengovirus ARN and then was quantified using a standardized real-time TaqMan PCR carried out by the Brilliant II QRT-PCR Master Mix kit (Agilent Technologies, California, USA) with the reverse primer Mengo209 (5'-GAAGTAACATATAGACAGACGC ACAC-3'), the forward primer Mengo110 (5'-GCGGGT CCTGCCGAAAGT-3'), and the FAM-MGB probe Mengo147 (5'-ATCACATTACTGGCCGAAGC-3') (Pintó, Costafreda, and Bosch 2009). The QRT-PCR program was as follows: 30 min at  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  for RT activation, 10 min at  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  for enzyme activation, 40 cycles of 15 s at  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  for denaturation, and 1 min at  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  for annealing-extension. It was carried out on a PCR platform Agilent MXPRO3005P (Agilent Technologies, California, USA). The RNA extract of

**Table 1** An example of the system validation by the mass balance of fluorescein

	Mass of fluorescein recovered (mg)
Fluorescein mass distributed between outputs	0.1902
Output 1 (filter + BioSampler)	0.1681
Output 2 (filter + BioSampler)	0.1884
Output 3 (filter + BioSampler)	0.1249
Output 4 (tube + BioSampler)	0.0991
Total fluorescein recovered in the system <sup>a</sup>	0.5805
Initial fluorescein mass <sup>a</sup>	0.7609
Mass balance%	76.3

<sup>a</sup> The filter + BioSampler are the places where the fluorescein was extracted to the output mentioned

mengovirus was used as PCR positive control. Two PCR negative controls were adopted for this study: the extraction of the medium (MEME) without virus and the water used in the QRT-PCR mix. The virus was quantified by the standard curve, based on the calibration of mengovirus initial solution.

### Determination of Infectivity by Tissue Culture Infective Dose Test (TCID<sub>50</sub>)

The TCID<sub>50</sub> test was used to determine the infectivity of mengovirus upstream or downstream of the system. This test was carried out on the BGM cells seeded in 96-well plates, infected with serial dilutions of the sample and then incubated for 30 h at 37 °C with 5% CO<sub>2</sub>. The plates were examined under a microscope to count the positive wells (with a cytopathic effect). Infectious titers were then calculated using the Spearman–Karber method (Ramakrishnan 2016).

### Extracting Viruses From the Filter

The filters were rinsed in 20 ml of the preheated culture medium (MEME) with stirring for 30 min at 250 rpm in two stages. The medium was recovered and treated with chloroform to remove any other microorganisms that may be parasitic. An extraction of the virgin filter showed no filter effect on BGM cells when using the TCID<sub>50</sub> test. Mengovirus was quantified per genomic unit (GU) on a filter to test the loss of quantity by using this extraction method. From  $2.82 \times 10^4$  GU cm<sup>-2</sup> of mengovirus theoretically deposited on the filter,  $2.08 \times 10^4$  GU cm<sup>-2</sup> was detected by RT-qPCR. Thus, a loss of 0.13 log of virus was calculated for this extraction method, giving a yield of 74%.

## Results

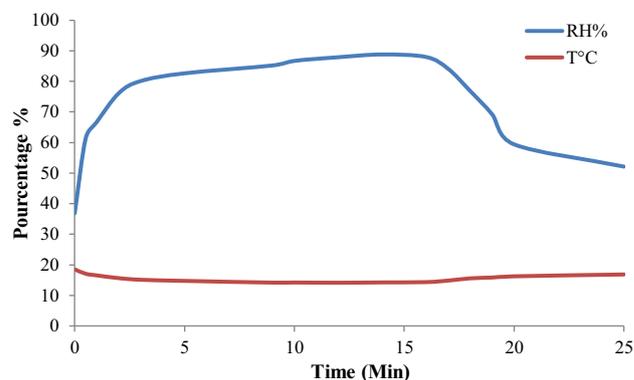
### Study of Temperature and Relative Humidity in the Pilot

The medium without virus was aerosolized for 25 min in the experimental set-up. The temperature and relative

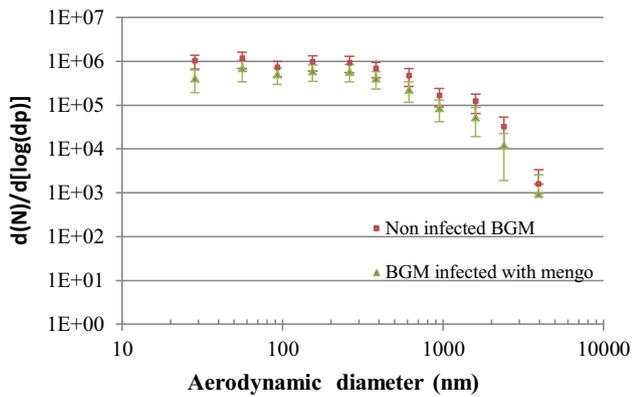
humidity were measured at the level of the filters. The temperature remained constant at 16 °C ± 2 °C. After 3 min of aerosolization, the RH% increased from 37 to 80% and reached a max of 89% in 14 min. Then, the RH decreased to 59% in 20 min and to 52% after 25 min of aerosolization (Fig. 2).

### Aerosol Characterization

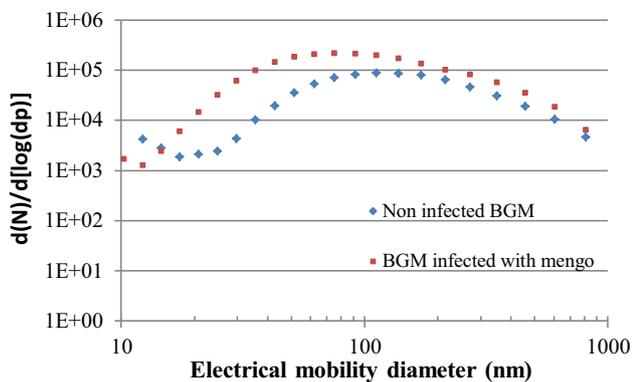
Particle size distributions of the mengovirus suspension generated by the medical nebulizer were measured with the ELPI<sup>TM</sup> and the SMPS<sup>TM</sup> and are presented in Figs. 3 and 4. The polydisperse particle size distribution measured by the ELPI<sup>TM</sup> presents a median aerodynamic diameter ( $d_{ae,50}$ ) of 80 nm (Fig. 3). The particle distribution measured by the SMPS<sup>TM</sup> presents a median electric mobility size ( $d_{el,50}$ ) of 76 nm (Fig. 4). The particles collected on the different stages of the ELPI<sup>TM</sup> were extracted in the MEME. A RT-qPCR was carried out on each extract to detect and quantify the virus. Mengovirus was detected on all the collected fractions above 92.8 nm except for the fraction at 2390 nm. The virus was quantified based on the concentration of nebulized virus in the initial solution (Fig. 5). Following the calibration of mengovirus detection by RT-qPCR, the limit detection of this virus was defined to be less than 10 viral particles per liter of air. In the



**Fig. 2** Temperature and relative humidity measured in the system close to the filters during aerosolization



**Fig. 3** Particle size distribution of the mengovirus suspension generated by the medical nebulizer measured with the ELPI™ ( $d(N)$  = number of particles;  $dp$  = particle diameter)



**Fig. 4** Particle size distribution of the mengovirus suspension generated by the medical nebulizer measured with the SMPS™ ( $d(N)$  = number of particles;  $dp$  = particle diameter)

figures, the error deviation of 1109 samples was used (1 measure per second during 18 min).

### Detection and Quantification of Mengovirus in the Experimental Set-up (Upstream, Downstream and on the Filters)

Based on the RT-qPCR measurement, the total initial output of mengovirus aerosolized and the viruses recovered in the system (filters and BioSampler) were measured. Comparing the quantity of mengovirus downstream in the absence of a filter and viruses recovered on the filter, the filter F7 shows an efficiency between 83.8 and 98.5%. With reference to the efficiency curves of the four filtration phenomena (Bailey 2001) and the size of the particles, the experimental set-up used with the virus presents results coherent with filtration performance.

The average quantification of 4 experiments showed that from  $6.68 \times 10^7$  GU L<sup>-1</sup> air of mengovirus aerosolized for 25 min,  $9.20 \times 10^6$  GU cm<sup>-2</sup> was collected on three

filters and  $1.19 \times 10^6$  GU of mengovirus per liter of air passed through the filters. The output without a filter (BioSampler 4) was  $5.33 \times 10^6$  GU L<sup>-1</sup> air (Table 2). Comparing the initial concentration aerosolized and the concentration of virus collected downstream of the system without a filter, there was a loss of one log of virus in the system. Referring to the fluorescein validation, this loss is attributed to the presence of viruses on the column and pipes, which are difficult to recover. A few microliters of the viral suspension remained in the Omron containing  $1.26 \times 10^{11}$  GU of mengovirus. Comparing the concentration of the virus in the rest of the Omron to the initial solution, no concentration effect was observed during aerosolization (data not shown).

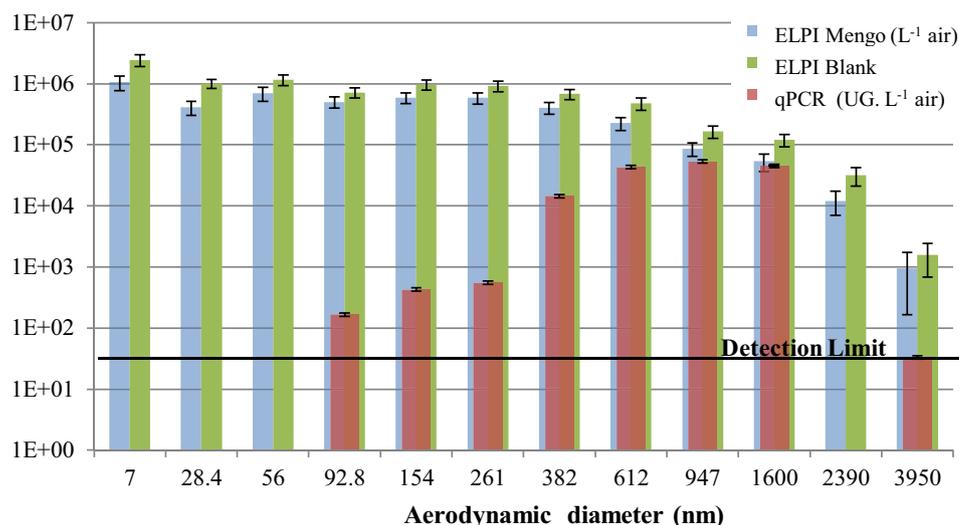
### Infectivity of Mengovirus in the Experimental Set-up (Upstream, Downstream, and on the Filters)

According to the infectivity levels of  $4 \times 10^8$  TCID L<sup>-1</sup> air aerosolized upstream of the system and  $8.48 \times 10^2$  TCID L<sup>-1</sup> air downstream of the system in the absence of a filter, a loss of 5.6 log of infectivity of mengovirus could be estimated (Table 3). This result demonstrates an aerosolization effect on the infectivity of the virus. The TCID<sub>50</sub> test showed that mengovirus remained infectious in the air passed through filters (downstream of the system) with  $9.81 \times 10^1$  TCID<sub>50</sub> L<sup>-1</sup> air, whereas  $9.09 \times 10^2$  TCID<sub>50</sub> cm<sup>-2</sup> was recovered on the three filters. The infectivity of the mengovirus remaining in the Omron was tested. Comparing the infectivity of the virus in the rest of the suspension of the Omron and the initial one, the virus did not lose infectivity during aerosolization (data not shown).

### Quantification Versus Infectivity of Mengovirus (Fig. 6)

Quantification and infectivity were compared on filters and in BioSamplers using the plaque forming unit (PFU) (1 TCID is equal to 0.69 PFU). The results measured from the output without filter (BioSampler 4) showed  $5.33 \times 10^6$  GU L<sup>-1</sup> air of which  $1.23 \times 10^3$  PFU L<sup>-1</sup> was infectious. Thus, 4 logs of virus lost infectivity during the 25 min of aerosolization. Concerning the comparison between the infectivity and quantification of mengovirus on the filters,  $3.07 \times 10^6$  GU cm<sup>-2</sup> was detected of which  $4.39 \times 10^2$  PFU cm<sup>-2</sup> remained infectious, whereas 4 logs of virus lost infectivity. In the BioSamplers,  $4.74 \times 10^1$  PFU L<sup>-1</sup> of  $3.98 \times 10^5$  GU L<sup>-1</sup> air remained infectious, whereas 4 logs of virus lost infectivity. In the figure, the highest and the lower values of three different essays were shown.

**Fig. 5** Detection and quantification of mengovirus on each stage of the ELPI™

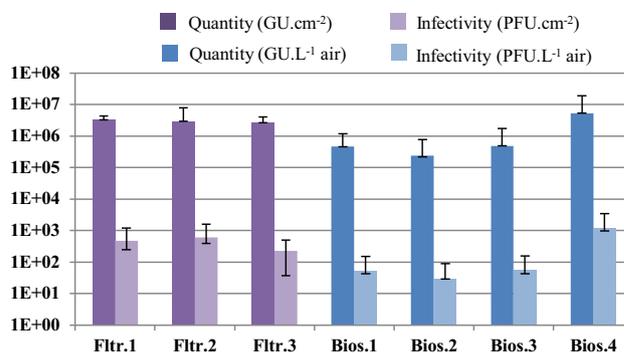


**Table 2** Average quantification of the initial aerosolized viral suspension, samples from BioSamplers and the virus extracted from filters by RT-qPCR measurement (GU L<sup>-1</sup> air)

Average	Quantity (GU L <sup>-1</sup> )	Quantity (GU cm <sup>-2</sup> )
Initial viral suspension	$6.68 \times 10^7$	
Filter 1		$3.48 \times 10^6$
Filter 2		$3.02 \times 10^6$
Filter 3		$2.71 \times 10^6$
BioSampler 1	$4.61 \times 10^5$	
BioSampler 2	$2.43 \times 10^5$	
BioSampler 3	$4.90 \times 10^5$	
BioSampler 4	$5.33 \times 10^6$	

**Effect of Time on the Infectivity of Mengovirus on the Filters**

In this part of the study, the effect of time on the infectivity of mengovirus on the filters was tested. The air flow in the system remained continuous during 50, 75, 360, 600, and 1440 min with 25 min of aerosolization of



**Fig. 6** Comparison of infectivity detected and quantification of mengovirus downstream of the system and on the filters

mengovirus. From an average of  $4.43 \times 10^8$  PFU L<sup>-1</sup> of initial solution of virus aerosolized,  $3.43 \times 10^2$  PFU cm<sup>-2</sup> of infectious mengovirus was detected after 25 min of air flow. The infectivity increased to  $6.27 \times 10^3$  PFU cm<sup>-2</sup> after 50 min, then remained constant until 360 min (6 h), and then decreased to  $1.82 \times 10^1$  PFU cm<sup>-2</sup> for 600 min (10 h) of continuous air flow. The detection of infectivity at 600 min corresponded to the detection limit of the virus with the TCID<sub>50</sub> test. After

**Table 3** Average infectivity detected in the initial aerosolized viral suspension, samples from BioSamplers, and the virus extracted from filters by TCID<sub>50</sub> measurement

Average	Quantity (TCID L <sup>-1</sup> )	Quantity (TCID cm <sup>-2</sup> )
Initial viral suspension	$4 \times 10^8$	
Filter 1		$3.26 \times 10^2$
Filter 2		$4.23 \times 10^2$
Filter 3		$1.59 \times 10^2$
BioSampler 1	$3.77 \times 10^1$	
BioSampler 2	$2.13 \times 10^1$	
BioSampler 3	$3.91 \times 10^1$	
BioSampler 4	$8.48 \times 10^2$	

1440 min (24 h), no virus infectivity was detected. With a continuous air flow in the system, the persistence of mengovirus was assessed at different times and showed infectivity on the filter up to 10 h after aerosolization (Fig. 7). In the figure, the highest and the lower values of three different essays were shown.

## Discussion

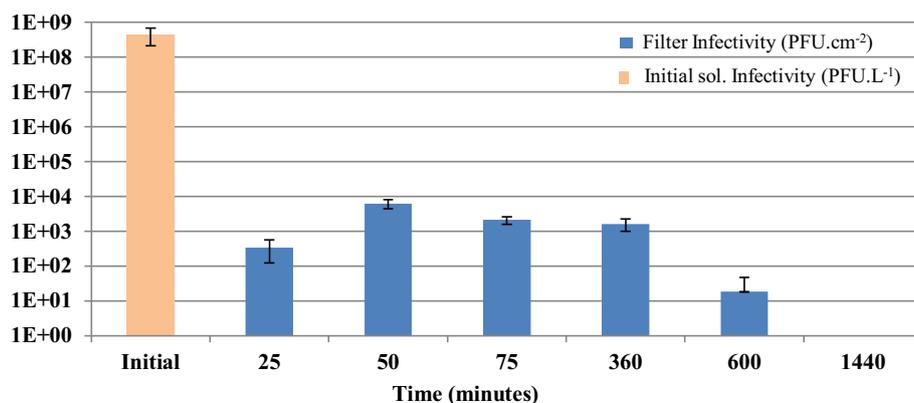
In recent years, we have seen the benefits of efforts in the development of indoor air treatment techniques and evolving knowledge of the microbial ecology of bioaerosols, which may play an important role in human health. The experimental set-up used in this study represents a model of the real-life functioning of an air handling unit. The pilot was validated using fluorescein and then confirmed with mengovirus showing an efficiency between 78.8 and 81%. The loss observed in the pilot validation is due to viruses that are retained on the walls of the pipes and the column (difficult to extract), the efficiency of the BioSampler collector (78%) and of the filter extraction (74%). The filter used in this study (F7-CompAir) is commonly used in AHUs and shows the same filtration speeds ( $0.16 \text{ m s}^{-1}$ ) and an effectiveness of between 83.8 and 98.5%. This calculated effectiveness was confirmed in the study of Bailly (2001) on the efficiency of the air filter resulting from curves of the four filtration phenomena. The dynamics and characteristics of bioaerosols are an important topic. The size of mengovirus was determined by the study of Faulkner et al. (1961) as 27 nm. In this study, some hypotheses can be made: The nebulized mengovirus cannot be aerosolized as a single virus as no virus was detected on the ELPI<sup>TM</sup> stage with the specific size of the virus. The aerosol could be constituted of groups of viruses (more than 3 viruses). The virus could be associated with proteins or debris cells present in the centrifuged medium. This can be confirmed in real life as infectious respiratory viruses are expelled with cell debris and mucus.

Based on the quantification and detection of infectivity in the system by RT-qPCR and TCID<sub>50</sub> measurement, the study shows that viruses stopped by the filter and those that passed through the filters remained infectious. This loss of infectivity confirms the study of Songer (1967) who showed the rapid inactivation of the mengovirus due to the RH% between 40 and 60% measured in this study during the 25 min of aerosolization.

Goyal et al. (2011) did not detect any infectious virus in used ventilation filters from two large public buildings but they were able to detect viruses by PCR. Farnsworth et al. (2006) showed the difficulty of detecting the persistence of viruses in AHUs since most viruses present on AHU filters are deactivated within a day. The study of Vasickova et al. (2010) focused on the inactivation rate of viruses on different supports. The review of Gerba (2013) revealed different inactivations between viruses. They pointed out differences in inactivation between enveloped and non-enveloped respiratory viruses. For example, they found that the inactivation rate was  $0.25 \log_{10} \text{ h}^{-1}$  for rhinovirus and  $0.625 \log_{10} \text{ h}^{-1}$  for the respiratory syncytial virus (RSV). They concluded that non-enveloped respiratory viruses can survive longer than enveloped viruses. This shows the importance of using mengovirus in this study, which is a model of non-enveloped rhinoviruses. The WHO review about the potential transmission of Avian Influenza (H5N1) through Water and Sewage (2017b) reports that, in general, virus half-lives are of the order of hours. The literature states that the virus support, for example, here the filter samples, can play a role in reducing infectivity. The WHO report on the stability and resistance of the SARS coronavirus (2017a) indicates that the persistence of this virus on wood and cotton cloth is only 12 h. Other studies like Sizun et al. (2000) have proved that human coronavirus can persist for only 3–6 h on sterile sponges while the study of Hall et al. (1980) pointed out that RSV can persist for 2.5 h on cloth gowns and 1 h on paper towels.

Thus, time has an effect on the infectivity of the virus; this study showed that, with a continuous air flow in the

**Fig. 7** Effect of time of aerosolization on the infectivity of mengovirus on the filters



system, no infectious virus was recovered after 10 h of aerosolization.

## Conclusion

The gap between what we know and what we would like to know in this research field remains quite large as recent studies have focused on bioaerosols like bacteria and fungi. This study thus presents new information about the survival of viruses in indoor environments and their fate in air handling units. In further studies, we need to investigate how to reduce the risk of viral transmission in closed spaces using different parameters to improve AHUs.

**Acknowledgements** This study was supported by the IMT-Atlantique Bretagne-Pays de Loire and the Ecole des Hautes Etudes de Santé Publique (EHESP). The authors are thankful for the mengovirus eukaryote RNA virus provided by the Prof. Albert Bosch from the Enteric Virus Laboratory, Universitat de Barcelona, Spain and grateful for the Buffalo Monkey African green kidney cell (BGM) provided by the Inovalys laboratory, Nantes, France.

## References

- Aritake, S., Uchiyama, M., Tagaya, H., Suzuki, H., Kuriyama, K., Ozaki, A., et al. (2004). Time estimation during nocturnal sleep in human subjects. *Neuroscience Research*, 49(4), 387–393. doi:10.1016/j.neures.2004.04.006.
- Bailly, A. (2001). Traitement de L'air et Climatisation—Généralités. Retrieved April 10, 2001, from <http://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/construction-et-travaux-publics-th3/le-chauffage-la-climatisation-et-l-eau-chaude-sanitaire-42582210/traitement-de-l-air-et-climatisation-be9270/>
- Bluyssen, P. M., Cox, C., Seppänen, O., de Oliveira Fernandes, E., Clausen, G., Müller, B., et al. (2003). Why, when and how do HVAC-systems pollute the indoor environment and what to do about it? The european AIRLESS project. *Building and Environment*, 38(2), 209–225. doi:10.1016/S0360-1323(02)00058-6.
- Couch, R. B., Cate, T. R., Jr Douglas, R. G., Gerone, P. J., & Knight, V. (1966). Effect of route of inoculation on experimental respiratory viral disease in volunteers and evidence for airborne transmission. *Bacteriological Reviews*, 30(3), 517–529.
- Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N., & Heederik, D. (2003). Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *Annals of Occupational Hygiene*, 47(3), 187–200. doi:10.1093/annhyg/meg032.
- Downie, A. W., Meiklejohn, M., St Vincent, L., Rao, A. R., Sundara Babu, B. V., & Kempe, C. H. (1965). The recovery of smallpox virus from patients and their environment in a smallpox hospital. *Bulletin of the World Health Organization*, 33(5), 615–622.
- Ezratty, Véronique, & Squinazi, Fabien. (2008). Pandemic influenza virus inside buildings: Is there a risk of transmission by ventilation or air conditioning systems? *Environnement, Risques & Santé*, 7(4), 255–263. doi:10.1684/ers.2008.0157.
- Fabian, P., McDevitt, J. J., DeHaan, W. H., Fung, R. O., Cowling, B. J., Chan, K. H., et al. (2008). Influenza virus in human exhaled breath: An observational study. *PLoS ONE*, 3(7), e2691. doi:10.1371/journal.pone.0002691.
- Fabian, P., Milton, D., Angel, M., Perez, D., & McDevitt, J. (2011). Influenza virus aerosols in human exhaled breath: Particle size, culturability, and effect of surgical masks. *Epidemiology*, 22(1), S51–S51. doi:10.1097/01.ede.0000391818.35353.36.
- Farnsworth, J. E., Goyal, S. M., Kim, S. W., Kuehn, T. H., Raynor, P. C., Ramakrishnan, M. A., et al. (2006). Development of a method for bacteria and virus recovery from heating, ventilation, and air conditioning (HVAC) filters. *Journal of Environmental Monitoring: JEM*, 8(10), 1006–1013.
- Faulkner, P., Martin, E. M., Sved, S., Valentine, R. C., & Work, T. S. (1961). Studies on protein and nucleic acid metabolism in virus-infected mammalian cells. 2. The isolation, crystallization and chemical characterization of mouse encephalomyocarditis virus. *Biochemical Journal*, 80(3), 597–605. doi:10.1042/bj0800597.
- Faure, M. (2010). *Purification de l'air ambiant par l'action bactéricide de la photocatalyse*. Lorraine: Ecole doctorale RP2E.
- Forthomme, A., Andrès, Y., Joubert, A., Simon, X., Duquenne, P., Bemer, D., et al. (2012). Evolution of microbial aerosol behaviour in heating, ventilating and air-conditioning systems—quantification of *Staphylococcus Epidermidis* and *Penicillium Oxalicum* Viability. *Environmental Technology*, 33(19), 2217–2221. doi:10.1080/09593330.2012.689370.
- Gerba, C. P. (2013). Occurrence and transmission of food- and waterborne viruses by fomites. *Virus in Food and Water*. doi:10.1533/9780857098870.3.205.
- González, L. F., Joubert, A., Andrès, Y., Liard, M., Renner, C., & Le Coq, L. (2016). Filtration performances of HVAC filters for PM10 and Microbial aerosols—influence of management in a Lab-scale air handling unit. *Aerosol Science and Technology*, 50(6), 555–567. doi:10.1080/02786826.2016.1167833.
- Goyal, S. M., Anantharaman, S., Ramakrishnan, M. A., Sajja, S., Kim, S. W., Stanley, N. J., et al. (2011). Detection of viruses in used ventilation filters from two large public buildings. *American Journal of Infection Control*, 39(7), e30–e38. doi:10.1016/j.ajic.2010.10.036.
- Hall, C. B., Douglas, R. G., & Geiman, J. M. (1980). Possible transmission by fomites of respiratory syncytial virus. *The Journal of Infectious Diseases*, 141(1), 98–102.
- Harper, G. J. (1961). Airborne micro-organisms: Survival tests with four viruses. *The Journal of Hygiene*, 59(December), 479–486.
- Hermann, H., & Cier, J. F. 1973. *Précis de physiologie, 1: Bio-énergétique et rations alimentaires, sang, lymphe, compartiments liquidiens de l'organisme, circulation du sang, respiration*. 3 éd. révisée. 1 vols. Précis de physiologie. Paris: Masson. <http://catalogue.bnf.fr/ark:/12148/cb351094909>.
- Jones, A. P. (1999). Indoor air quality and health. *Atmospheric Environment*, 33(28), 4535–4564. doi:10.1016/S1352-2310(99)00272-1.
- Li, Y., Leung, G. M., Tang, J. W., Yang, X., Chao, C. Y. H., Lin, J. Z., et al. (2007). Role of ventilation in airborne transmission of infectious agents in the built environment—a multidisciplinary systematic review. *Indoor Air*, 17(1), 2–18. doi:10.1111/j.1600-0668.2006.00445.x.
- Lowen, A. C., Mubareka, S., Steel, J., & Palese, P. (2007). Influenza virus transmission is dependent on relative humidity and temperature. *PLoS Pathogens*, 3(10), 1470–1476. doi:10.1371/journal.ppat.0030151.
- Morawska, L. (2006). Droplet fate in indoor environments, or can we prevent the spread of infection? *Indoor Air*, 16(5), 335–347. doi:10.1111/j.1600-0668.2006.00432.x.
- Myatt, T. A., Johnston, S. L., Zuo, Z. F., Wand, M., Kebabdzé, T., Rudnick, S., et al. (2004). Detection of airborne rhinovirus and its relation to outdoor air supply in office environments. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 169(11), 1187–1190. doi:10.1164/rccm.200306-7600C.

- Norme de Filtration EN779:2012. (2017). Accessed April 10, 2017 from [http://www.camfil.fr/Technique-de-filtration/Specifications-industrielles/EN779\\_2012/](http://www.camfil.fr/Technique-de-filtration/Specifications-industrielles/EN779_2012/).
- Norme Européenne EN1822:2009 Par Camfil. (2017). Accessed April 10, 2017 from <http://www.camfil.fr/Technique-de-filtration/Specifications-industrielles/EN-1822/>.
- Pintó, R. M., Isabel Costafreda, M., & Bosch, A. (2009). Risk assessment in shellfish-borne outbreaks of hepatitis A. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7350–7355. doi:10.1128/AEM.01177-09.
- Prussin, A. J., Vikram, At, Bibby, K. J., & Marr, L. C. (2016). Seasonal dynamics of the airborne bacterial community and selected viruses in a children's daycare center. *PLoS ONE*, 11(3), e0151004. doi:10.1371/journal.pone.0151004.
- Ramakrishnan, M. A. (2016). Determination of 50% endpoint titer using a simple formula. *World Journal of Virology*, 5(2), 85–86. doi:10.5501/wjv.v5.i2.85.
- Schaffer, F. L., Soergel, M. E., & Straube, D. C. (1976). Survival of airborne influenza-virus—effects of propagating host, relative humidity, and composition of spray fluids. *Archives of Virology*, 51(4), 263–273. doi:10.1007/BF01317930.
- Seppänen, O. A., & Fisk, W. J. (2004). Summary of human responses to ventilation. *Indoor Air*, 14(August), 102–118. doi:10.1111/j.1600-0668.2004.00279.x.
- Siegel, J. M. (2003). Why we sleep. *Scientific American*, 289(5), 92–97.
- Sizun, J., Yu, M. W., & Talbot, P. J. (2000). Survival of human coronaviruses 229E and OC43 in suspension and after drying on surfaces: A possible source of hospital-acquired infections. *The Journal of Hospital Infection*, 46(1), 55–60. doi:10.1053/jhin.2000.0795.
- Songer, J. R. (1967). Influence of relative humidity on the survival of some airborne viruses. *Applied Microbiology*, 15(1), 35–42.
- Tang, J. W., Li, Y., Eames, I., Chan, P. K. S., & Ridgway, G. L. (2006). Factors involved in the aerosol transmission of infection and control of ventilation in healthcare premises. *Journal of Hospital Infection*, 64(2), 100–114. doi:10.1016/j.jhin.2006.05.022.
- Tellier, R. (2006). Review of aerosol transmission of influenza A virus. *Emerging Infectious Diseases*, 12(11), 1657–1662. doi:10.3201/eid1211.060426.
- Turcotte, M. (2005). Time Spent with Family during a Typical Workday, 1986 to 2005. *Canadian Social Trends*. <http://www.statcan.gc.ca/pub/11-008-x/2006007/9574-eng.htm>.
- Vasickova, P., Pavlik, I., Verani, M., & Carducci, A. (2010). Issues concerning survival of viruses on surfaces. *Food and Environmental Virology*, 2(1), 24–34. doi:10.1007/s12560-010-9025-6.
- WHO First Data on Stability and Resistance of SARS Coronavirus Compiled by Members of WHO Laboratory Network. 2017. WHO. Accessed March 27, 2017 from [http://www.who.int/csr/sars/survival\\_2003\\_05\\_04/en/](http://www.who.int/csr/sars/survival_2003_05_04/en/).
- WHO Review of latest available evidence on potential transmission of avian influenza (H5N1) through water and sewage and ways to reduce the risks to human health. 2017. WHO. Accessed March 27, 2017 from [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/potential-transmission-of-avian-influenza/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/potential-transmission-of-avian-influenza/en/).
- Zhu, S., Kato, S., & Yang, J. H. (2006). Study on transport characteristics of saliva droplets produced by coughing in a calm indoor environment. *Building and Environment*, 41(12), 1691–1702. doi:10.1016/j.buildenv.2005.06.024.



***Chapitre 5 : Comportement et caractérisation des adénovirus sur les filtres F7 dans les centrales de traitement de l'air***

---



## **Chapitre 5 : Comportement et caractérisation des adénovirus sur les filtres F7 dans les centrales de traitement de l'air**

Dans le chapitre précédent, le système expérimental et les protocoles expérimentaux ont été validés et le devenir du mengovirus sur les filtres de fibres de verre utilisés dans les CTA a été étudié. Un autre virus, adénovirus type 2, non enveloppé à ADN était choisi pour cette nouvelle étude. Ce virus de la famille des *adenoviridae* est présent en toutes saisons comme les *picornaviridae* et est responsable des maladies respiratoires très communes. L'adénovirus a été aérosolisé dans le système et le devenir de ce virus sur les filtres a été étudié. Une efficacité de filtration des filtres F7 a été calculée entre 91 et 99%. En comparant la taille actuelle du virus entre 70 et 90 nm, la configuration expérimentale montre une performance de filtration cohérente avec l'étude de González et al., (2016). La caractérisation de l'aérosol d'adénovirus a été effectuée avec une détection du virus par qPCR dans les aérosols caractérisés. La taille médiane de mobilité électrique mesurée a été de 87 nm proche de la taille théorique de l'adénovirus et le virus peut être aérosolisé en tant que virus unique ou associé à des débris cellulaires. En se basant sur la quantification et la détection de l'infectiosité dans le système par la mesure RT-qPCR et TCID<sub>50</sub>, cette étude a montré que l'adénovirus arrêté par le filtre reste infectieux ainsi que les virus qui traversent les filtres. En comparant les données bibliographiques concernant ces deux virus respiratoires, l'adénovirus s'avère plus persistant que le mengovirus, ce qui a été confirmé par cette étude.

Cette étude présente des informations nouvelles sur la caractérisation et le devenir de l'adénovirus, un virus respiratoire à ADN non enveloppé, dans des environnements intérieurs et son comportement sur les filtres dans les centrales de traitement de l'air.



# Environmental Science and Pollution Research

## Adenovirus behavior in air handling unit fiberglass filters

--Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	
<b>Full Title:</b>	Adenovirus behavior in air handling unit fiberglass filters
<b>Article Type:</b>	Research Article
<b>Keywords:</b>	Indoor air quality; fiberglass filter; AHU; bioaerosols; Adenovirus; viral airborne characterization
<b>Corresponding Author:</b>	Victor Bandaly IMT Atlantique Bretagne - Pays de Loire NANTES, Pays de Loire FRANCE
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	IMT Atlantique Bretagne - Pays de Loire
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	Victor Bandaly
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	Victor Bandaly Aurélie Joubert Yves Andres Pierre Le Cann
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Funding Information:</b>	
<b>Abstract:</b>	<p>Urban air quality and indoor pollution are the subjects that most occupy health authorities. The different types of microorganisms found in indoor air, which are potential contaminants, are called bioaerosols such as viruses, bacteria, and spores. Viral aerosols can lead to respiratory viral infections, which are a major public health concern due to their high infectivity. About 90% of people's time is spent in closed environments such as offices, shopping centers or homes. A few studies have pointed out that ventilation system in air handling units (AHUs) which treat and transmit a new synthetic clean and conditioned environment, can spread and transport a source of microbial air pollution like viral particles in buildings. A recent study was carried out on the fate of the mengovirus, an RNA non-enveloped eukaryote virus, on the fiberglass filter of AHUs. The aim of this work is to study the characterization of adenovirus, a DNA non-enveloped respiratory eukaryote virus, on the F7 fiberglass filter used in AHUs. In this study, an experimental set-up simulating an AHU was used. The SYBR® QPCR, Electrical Low Pressure Impactor (ELPI TM) and the Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS TM) were used to detect, measure and characterize the aerosolized adenovirus solution. The characterization results showed that the nebulized adenovirus could be aerosolized in different forms associated or not with cell debris and proteins. The quantification and level of infectivity of adenovirus demonstrated that viruses passed through filters and remained infectious upstream and downstream of the system during 25 min of aerosolization.</p>
<b>Suggested Reviewers:</b>	<p>Albert Bosch, Professor Universitat de Barcelona abosch@ub.edu specialist in molecular biology of viruses</p> <p>Caroline Duchaine, Professor Universite Laval Caroline.Duchaine@bcm.ulaval.ca</p>

	Specialist in the detection of respiratory pathogens in indoor air by molecular biology
	Philippe DUQUENNE, PhD Institut national de la recherche scientifique philippe.duquenne@inrs.fr Specialist in pollutant metrology and their detection
<b>Opposed Reviewers:</b>	
<b>Additional Information:</b>	
<b>Question</b>	<b>Response</b>
§Are you submitting to a Special Issue?	No

[Click here to view linked References](#)

# Adenovirus behavior in air handling unit fiberglass filters

Victor Bandaly<sup>1,2,3,\*</sup>, Aurélie JOUBERT<sup>1</sup>, Yves ANDRES<sup>1</sup> and Pierre LE CANN<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> GEPEA-CNRS UMR 6144, IMT Atlantique, Nantes, 44000, France

<sup>2</sup> EHESP, Rennes, 35000, France

<sup>3</sup> IRSET-INSERM UMR 1085, Rennes, 35000, France

\*Corresponding email: [victor.bandaly@mines-nantes.fr](mailto:victor.bandaly@mines-nantes.fr), Tel. +33251858289

ORCID iD: 0000-0002-3358-2989

*Keywords: Indoor air quality, fiberglass filter, AHU, bioaerosols, Adenovirus, viral airborne characterization*

## Abstract

Urban air quality and indoor pollution are the subjects that most occupy health authorities. The different types of microorganisms found in indoor air, which are potential contaminants, are called bioaerosols such as viruses, bacteria, and spores. Viral aerosols can lead to respiratory viral infections, which are a major public health concern due to their high infectivity. About 90% of people's time is spent in closed environments such as offices, shopping centers or homes. A few studies have pointed out that ventilation system in air handling units (AHUs) which treat and transmit a new synthetic clean and conditioned environment, can spread and transport a source of microbial air pollution like viral particles in buildings. A recent study was carried out on the fate of the mengovirus, an RNA non-enveloped eukaryote virus, on the fiberglass filter of AHUs. The aim of this work is to study the characterization of adenovirus, a DNA non-enveloped respiratory eukaryote virus, on the F7 fiberglass filter used in AHUs. In this study, an experimental set-up simulating an AHU was used. The SYBR® QPCR, Electrical Low Pressure Impactor (ELPI™) and the Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS™) were used to detect, measure and characterize the aerosolized adenovirus solution. The characterization results showed that the nebulized adenovirus could be aerosolized in different forms associated or not with cell debris and proteins. The quantification and level of infectivity of adenovirus demonstrated that viruses passed through filters and remained infectious upstream and downstream of the system during 25 min of aerosolization.

## Acknowledgments

This study was supported by the IMT-Atlantique Bretagne-Pays de Loire and the Ecole des Hautes Etudes de Santé Publique (EHESP). The authors are grateful to Prof. Christophe Gantzer from the LCPME, UMR 7564, Lorraine University (CNRS), France, for providing the adenovirus eukaryote DNA virus and the Human Embryonic Kidney cells (HEK-293) and to Dr. Valérie Delague from the French Institute of Health and Medical Research (Inserm), UMR\_S 910, Marseille, France, for providing the Human Embryonic Kidney cells (HEK-293).

## 36 1 Introduction

37 From the megalopolis to the individual level, the effects of air pollution are of particular interest.  
38 Urban air quality and indoor air pollution, which can lead to human health problems, are the most important  
39 topics occupying health authorities. According to the study of Jones (1999), indoor air is 5-10 times more  
40 polluted in volatile organic compounds (VOCs) than outdoor air. The microorganism takes a part of the VOC.  
41 There are different types of microorganisms, called bioaerosols, which have been identified as potential  
42 contaminants in indoor air, such as spores, bacterial cells and viruses (Douwes et al. 2003). In fact, in  
43 industrialized countries, people spend 90% of their time in enclosed or semi-enclosed spaces such as homes,  
44 offices, shopping centers, gymnasiums and transportation (Aritake et al. 2004; Siegel 2003; Turcotte 2005;  
45 Klepeis et al. 2001). Bioaerosols, more specifically viral aerosols, lead to diseases and represent a real challenge  
46 for the near future because of their high contagiousness. Viral aerosols can be transmitted by simple direct  
47 contact, droplets or aerosols. They can cause an ordinary viral infection and then spread to an epidemic outbreak  
48 (Tellier 2006).

49 Large numbers of buildings, particularly office buildings, make synthetic environmental air using  
50 heating, ventilation and air-conditioning (HVAC) systems. These systems treat and transmit new air with a  
51 regulation of temperature (T) and relative humidity (RH) and a decrease in the particle concentration from the  
52 outside air (Seppänen and Fisk 2004). Heating, cooling, humidification and filtration are the different steps  
53 performed by air handling units (AHUs) to recondition the air. The AHUs should be well-maintained, which  
54 leads to good health and productivity. Filter efficiency is defined according to two main standards (EN779 :  
55 2012 and EN1822 : 2009), which describe medium, high and very high efficiency filters. Filters are composed of  
56 fiber clusters (felts, mats, glass and papers) and their efficiency is characterized by four different mechanisms:  
57 sieving, inertia, interception and diffusion (Bailly, 2001).

58 In general, we expelled different size of particles by simple breathing, cough, and sneezing. Expelled  
59 particles smaller than 30  $\mu\text{m}$  will invade a room very rapidly. Particles larger than or equal to 200  $\mu\text{m}$  quickly  
60 fall (Morawska 2006). Different studies have pointed out the number of viral particles exhaled during a single  
61 breath, sneeze or cough. For influenza viruses, an infected person can exhale 3 to 20 virus genomes per minute  
62 (Fabian et al. 2011). A person infected with Coxsackie virus (a pathogenic enterovirus) can emit 160 viral  
63 particles when sneezing and coughing (Couch et al. 1966; Downie et al. 1965). The same studies showed that 2  
64 infected people breathing in an office without sneezing or coughing could emit 20 viruses per minute  
65 corresponding to 0.24 viruses per liter of air (without renewal of air in an office of 40  $\text{m}^3$ ) (Couch et al. 1966;  
66 Downie et al. 1965). Some studies have demonstrated that filters in the ventilation systems can be a source of  
67 microbial air pollution and that the ventilation systems and AHUs can spread and transport viral particles inside  
68 buildings (Ezratty and Squinazi 2008; Fabian et al. 2008; Tang et al. 2006; Bluysen et al. 2003). Some recent  
69 studies have detected airborne viruses like picornavirus, corona virus and parainfluenza virus on AHU filters  
70 (Myatt et al. 2004; Goyal et al. 2011; Prussin et al. 2016). The persistence of the viral particles can be affected  
71 by the temperature and relative humidity (RH %) in the AHU. The persistence of influenza viruses increases  
72 with decreasing temperature and humidity (Lowen et al. 2007). The review of Gerba (2013) revealed differences  
73 in inactivation between enveloped and non-enveloped respiratory viruses, with non-enveloped respiratory  
74 viruses surviving longer. The fate of mengovirus, a virus whose structure is close to rhinovirus, on the fiberglass

75 filter of an AHU was studied by Bandaly et al. (2017). It was shown that the mengovirus passed through the  
1 76 filter and remained infectious for up to 10 h upstream and downstream of the system.

2 77 Concerning bioaerosols in AHUs, few studies have investigated the fate of viral aerosols on the filter.  
3 78 This work aimed to study the fate of adenovirus in an experimental set-up representative of AHU. As we had  
4 79 already assessed the fate of mengovirus, a surrogate of a respiratory virus, we wanted to study the fate of a real  
5 80 respiratory virus in an AHU as adenovirus. Thus, we explored what happened to adenovirus after aerosolization  
6 81 and its fate downstream of the fiberglass filter in indoor air used in the AHU. Analyses reviewed the  
7 82 performance of fibrous media in decreasing the risk of viral spread in a closed atmosphere and providing a good  
8 83 indoor air quality and a good life quality even with recycled indoor air.

## 15 84 **2 Materials and methods**

### 17 85 **Viral and cell models**

18 86 The human adenovirus serotype 2 strain (Health Protection Agency Culture Collections [HPACC];  
19 87 reference no. NCPV213) was used throughout this study. Adenovirus is a DNA human virus of the Adenoviridae  
20 88 family. This respiratory virus has a size between 70 and 90 nm (Doerfler 1996) and is responsible for  
21 89 pneumonia, angina and bronchitis. Human embryonic kidney cells, type HEK-293, enabled the replication of  
22 90 adenovirus. HEK-293 cells were grown in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), high glucose,  
23 91 GlutaMAX™ Supplement (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, United States) supplemented with 10%  
24 92 fetal calf serum (Sigma F2442), 1% non-essential amino acid (100×) (Sigma, M7145 Missouri, United States)  
25 93 and 1% antibiotic-antimycotic (100X) (Sigma, A5955, Missouri, United States) at 37°C under an atmosphere  
26 94 enriched with 5% CO<sub>2</sub>.

### 32 95 **Characteristics of the filter media**

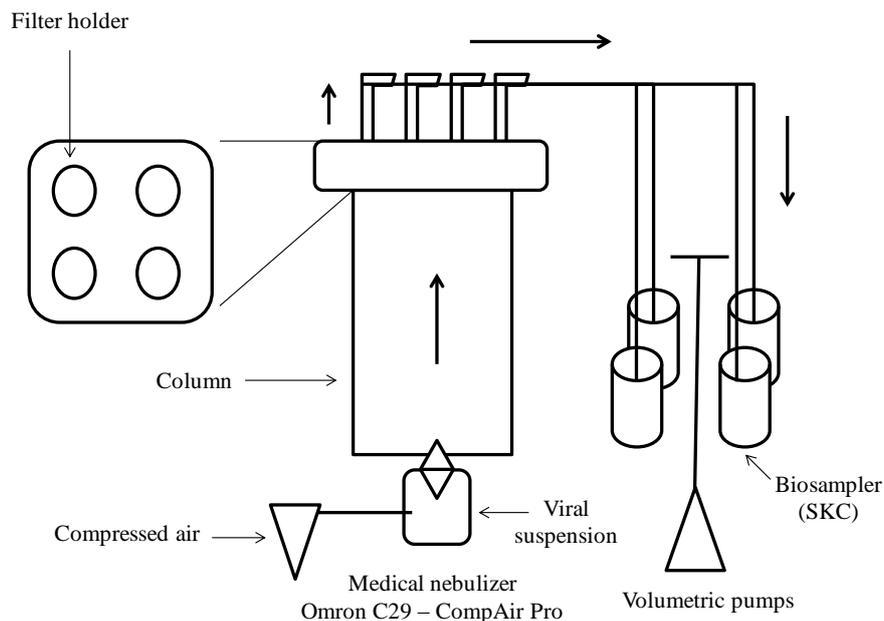
33 96 The filter F7 (Camfil Farr, Stockholm, Sweden), in compliance with the standard EN 779 (2012), is a  
34 97 high efficiency filter commonly used in AHUs and so was chosen for this study. It is made of fiberglass felt. The  
35 98 median fiber diameter is  $1 \pm 0.2 \mu\text{m}$  (González et al. 2016). The nominal filtration velocity recommended by the  
36 99 manufacture is  $0.2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ . The filter was implanted in flat geometry in this study with a filtration area of  $17.72$   
37 100  $\text{cm}^2$  (circular).

### 41 101 **Experimental set-up and validation (Fig. 1)**

42 102 The experimental design consists of a vertical column made of polymethyl methacrylate where the  
43 103 viruses will be generated and homogenized in the upward air flow. This generation is carried out by the medical  
44 104 nebulizer (Omron C29 - CompAir Pro, Hoofddorp, The Netherlands) which ensures an air flow of  $4.5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$   
45 105 supplied by compressed air. At the end of the cylinder, four circular outputs of diameter 4 cm, which  
46 106 accommodate the filters, are arranged perpendicular to the flow. Three of the 4 outputs are equipped with the  
47 107 filter to be studied. Downstream of the filters, the BioSampler (SKC Inc., Pennsylvania, USA) samples the  
48 108 particles passing through the filters. The sampling rate is  $13 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  at the entry of each BioSampler (SKC Inc.,  
49 109 Pennsylvania, USA). Two volumetric pumps are set downstream of the device to ensure the flow of air treated  
50 110 through the filters. The frontal filtration velocity at each filter is  $0.16 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  and is representative of the velocity  
51 111 observable in the AHUs on a pleated F7 filter. The device is positioned under a laminar flow hood with clean  
52 112 and sterile air (Fig. 1) (Bandaly et al. 2017).

113 For the validation of the system, fluorescein solution (CAS number: 518-47-8, Merck KGaA,  
 114 Darmstadt, Germany) was used to validate the particle regeneration at each filter gate. This solution was  
 115 generated by the medical nebulizer through the set-up for 25 minutes (with or without a filter). The absorbance  
 116 ( $\lambda = 470$  nm) was measured in the sample from the BioSampler and the liquid extracted from the filters.  
 117 According to the results from the study of Bandaly et al. (2017), the set-up shows an efficiency of 76.3% (0.58  
 118 mg of fluorescein collected in the filtration device from an initial solution of 0.76 mg).

119 The temperature and the RH% were measured in the set-up at the filter level while aerosolizing the  
 120 medium without virus for 25 min. The temperature remained stable at  $16^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . The RH% increased to 80%  
 121 after 3 min of aerosolization, reaching a maximum of 89% in 14 min. After 20 min, it decreased to 59% to  
 122 achieve 52% after 25 min of aerosolization (Bandaly et al. 2017).



123  
124 **Fig. 1: Description of the experimental set-up (Bandaly et al. 2017)**

### 125 **Characteristics and efficiency of the BioSampler**

126 The principle of the BioSampler (SKC Inc., Pennsylvania, USA) is founded on particle sampling.  
 127 The respirable particles and non-respirable particles are separated by the curved inlet tube simulating the entry of  
 128 air through the nasal passage. DMEM was the medium used to collect the particles from the air in the set-up. 20  
 129 mL of DMEM avoided liquid evaporation with a flow rate of  $13 \text{ L min}^{-1}$  for 15 minutes (Faure 2010). The  
 130 efficiency of the BioSampler changes according to the size of the particles: higher than 50% for particles larger  
 131 than  $0.03 \mu\text{m}$ , more than 80% for particles between  $0.5$  and  $1 \mu\text{m}$  and more than 95% for particles larger than  $1$   
 132  $\mu\text{m}$  (Zheng and Yao 2017). In this study, the virus size is between  $70$  and  $90 \text{ nm}$  (Doerfler 1996), equivalent to a  
 133 BioSampler efficiency of up to 80%. Samples of the liquid collected can be analyzed.

### 134 **Preparation of aerosolized virus suspension**

135 The fragility of the adenovirus was taken into consideration; the virus was obtained directly from the  
 136 culture solution, after multiplication in HEK-293. Centrifugation of the culture at  $1750 \text{ xg}$  for 10 minutes  
 137 removed cell debris. The supernatant was collected to be aerosolized.

### 138 **Aerosol characterization**

139 The Electrical Low Pressure Impactor (ELPI™, Dekati, Kangasala, Finland) and the Scanning  
140 Mobility Particle Sizer (SMPS™, GRIMM, Ainring, Germany) were used to analyze the aerosol size. These two  
141 instruments can characterize the aerosol size in different ways. The aerodynamic size of particles from 7 nm to 4  
142 µm was characterized by the ELPI™ and the electrical mobility size of particles from 10 nm to 1 µm was  
143 characterized by the SMPS™. The peculiarity of ELPI™ that the particle deposits on the various stages can be  
144 extracted for it to be analyzed by molecular methods (Q-PCR ...).

#### 145 **Extraction, primers, probes, and molecular assays**

146 The NucliSens® easyMAG™ Platform (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) was used to extract the  
147 adenovirus DNA. Adenovirus was quantified using a real-time SYBR green PCR carried out with the Brilliant  
148 III Ultra-Fast SYBR® QPCR Mix kit (Agilent Technologies, California, USA) with the reverse primer AdF1B  
149 (5'- GGA-YGC-YTC-GGA-GTA-CCT-GAG -3'), and the forward primer AdR2B (5'- ACS-GTG-GGG-TTY-  
150 CTA-AAC-TTG-TT -3') (Ryu et al. 2015). The SYBR green Q-PCR program was as follows: 3 min at 95°C for  
151 enzyme activation, 40 cycles of 20 s at 95°C for denaturation, and 20 s at 58°C for annealing-extension. This  
152 was achieved on a PCR platform Agilent MXPRO3005P (Agilent Technologies, California, USA). The DNA  
153 extract of adenovirus was used as the PCR positive control. For this study, 2 PCR negative controls were  
154 adopted: the water used in the Brilliant III Ultra-Fast SYBR® QPCR Mix and the DMEM extraction.  
155 Adenovirus was quantified by the standard curve, based on the calibration of the virus initial solution.

#### 156 **Tissue culture infective dose test (TCID<sub>50</sub>) (Determination of adenovirus infectivity)**

157 To determine the adenovirus infectivity upstream and downstream of the system, the TCID<sub>50</sub> test was  
158 used. It was carried out on the HEK-293 cells sown in 96-well plates, infected with the sample with serial  
159 dilutions and then incubated at 37°C with 5% CO<sub>2</sub> for 48 h. The positive wells in the plates, representing the  
160 apoptotic effect, were counted under a microscope. Using the Spearman-Kärber statistical method, the infectivity  
161 of the virus was calculated (Ramakrishnan 2016).

#### 162 **Extracting viruses from the tested F7 filter**

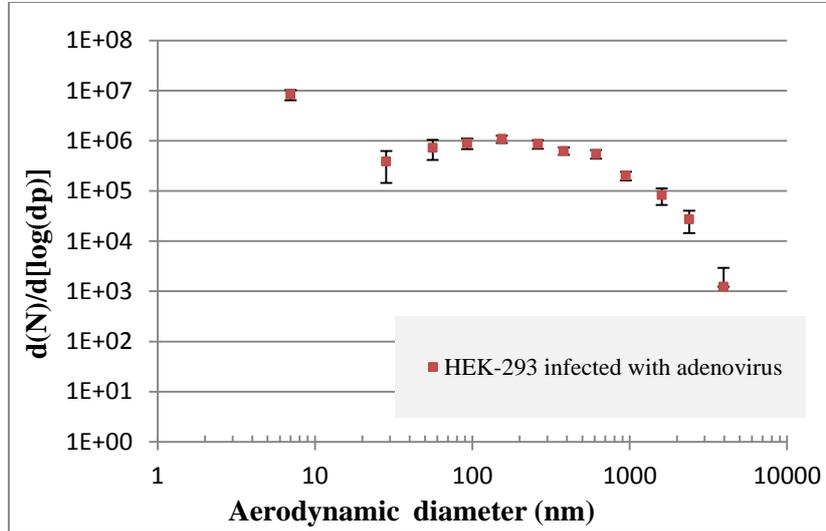
163 The filters were washed in 20 ml of preheated DMEM with stirring at 250 rpm for 30 min in two  
164 stages. After centrifugation, the supernatant was recovered and treated with chloroform. This step removes all  
165 parasitic microorganisms other than the adenovirus. The same extraction was carried out on a virgin filter to  
166 confirm that there was no effect of the filter on the HEK-293 cells when using the TCID<sub>50</sub> test. Adenovirus was  
167 quantified per genomic unit (GU) on a filter to test the loss of quantity by using this extraction method; from  
168  $3.24 \times 10^5$  GU.cm<sup>-2</sup> of adenovirus theoretically deposited on the filter,  $2.43 \times 10^5$  GU.cm<sup>-2</sup> was detected by Real-  
169 Time PCR based on SYBR-Green. This indicates a loss of 0.12 log of virus, giving a yield of 75% for this  
170 extraction method.

### 171 **3 Results**

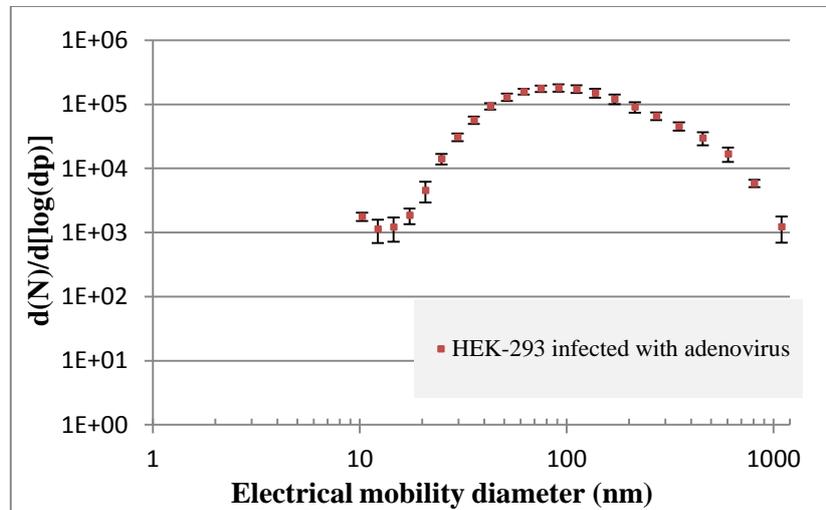
#### 172 **Characterization of adenovirus aerosol**

173 Figures 2 and 3 present the ELPI™ and SMPS™ particle size distribution measurement of the  
174 adenovirus suspension aerosolized by the medical nebulizer. The median aerodynamic size ( $d_{ae,50}$ ), calculated  
175 from the ELPI™ polydisperse particles, is below 7 nm (Fig. 2). The SMPS™ polydisperse particle size  
176 distribution measurement presents a median electric mobility size ( $d_{ae,50}$ ) of 87 nm (Fig. 3). The ELPI™  
177 collected the particles on different stages and these were extracted in DMEM. Detection and quantification of the

178 virus were carried out by SYBR green Q-PCR. Based on the concentration of nebulized virus in the initial  
 179 solution, the virus on the stages was quantified. Adenovirus was detected in all the collected fractions with  
 180 different quantities. The largest amount had a size between 382 and 1600 nm while the smallest quantity  
 181 (negligible) was detected on the stages representing a size below 56 nm (Fig. 4). The error deviation in the  
 182 figures is based on 1100 samples (1 measure per second during 18 min).



183 **Fig. 2: The ELPI™ particle size distribution measurement of the adenovirus suspension aerosolized by the**  
 184 **medical nebulizer (d(N) = number of particles; dp = particle diameter)**



187 **Fig. 3: The SMPS™ particle size distribution measurement of the adenovirus suspension aerosolized by**  
 188 **the medical nebulizer (d(N) = number of particles; dp = particle diameter)**

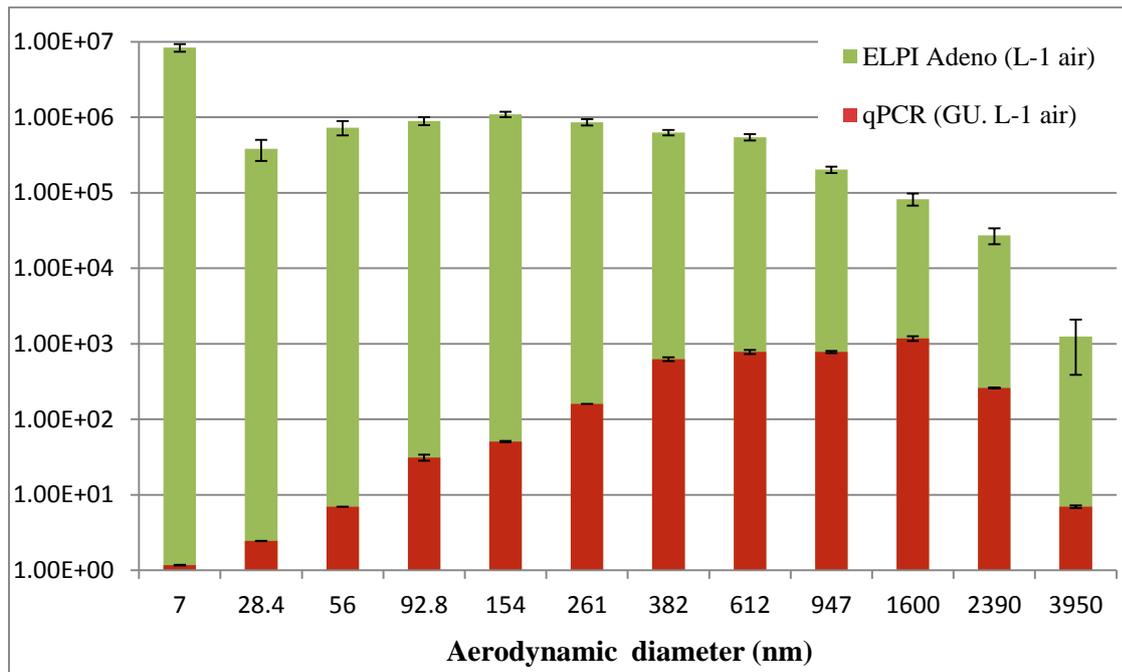


Fig. 4: Adenovirus detection and quantification on each ELPI™ stage

#### Detection and quantification of adenovirus upstream, downstream, and on the filters in the experimental set-up

Based on the SYBR® QPCR measurement, the adenovirus recovered in the system (filters and BioSampler) and the total initial output aerosolized were measured. The filter F7 efficiency was calculated by comparing viruses recovered on the filter and adenovirus quantity downstream of the system in the absence of a filter. The filter F7 efficiency was between 91 and 99%. With reference to the study of the efficiency curves of the filtration carried out by González et al. (2016), the F7 showed efficiency between 80 and 90% for diameter particle equal to 0.4µm and it increased with particle diameter below 0.4µm. Comparing the present virus size, the experimental set-up shows a coherent filtration performance.

The average quantification of 2 experiments showed that from an initial solution of  $3.99 \times 10^6$  GU aerosolized for 25 min,  $2.84 \times 10^6$  GU of adenovirus was collected on the 3 filters and  $1.06 \times 10^5$  GU passed through them. BioSampler no. 4, the output without a filter, collected  $8.56 \times 10^5$  GU (Table 2). Comparing this quantity to the initial concentration aerosolized, there was a loss of 0.67 log of adenovirus in the system. The fluorescein validation carried out in the study of Bandaly et al. (2017) demonstrated that this loss is attributed to the non-recovered virus present on the column and the pipes. After 25 min of aerosolization, a few microliters of adenovirus remained in the medical nebulizer. Comparing the concentration of the initial solution and the rest of the Omron, no concentration effect was noted during aerosolization (data not shown).

Average	Quantity (GU)	Quantity (TCID)
<b>Initial viral suspension</b>	$3.99 \times 10^6$	$5.94 \times 10^6$
<b>Filter 1</b>	$7.91 \times 10^5$	$2.18 \times 10^3$
<b>Filter 2</b>	$9.9 \times 10^5$	$1.61 \times 10^3$
<b>Filter 3</b>	$1.06 \times 10^6$	$2 \times 10^3$
<b>BioSampler 1</b>	$4.31 \times 10^4$	$1.33 \times 10^2$

<b>BioSampler 2</b>	$2.67 \times 10^4$	$1.84 \times 10^2$
<b>BioSampler 3</b>	$3.65 \times 10^4$	$1.94 \times 10^2$
<b>BioSampler 4</b>	$8.56 \times 10^5$	$2.27 \times 10^5$

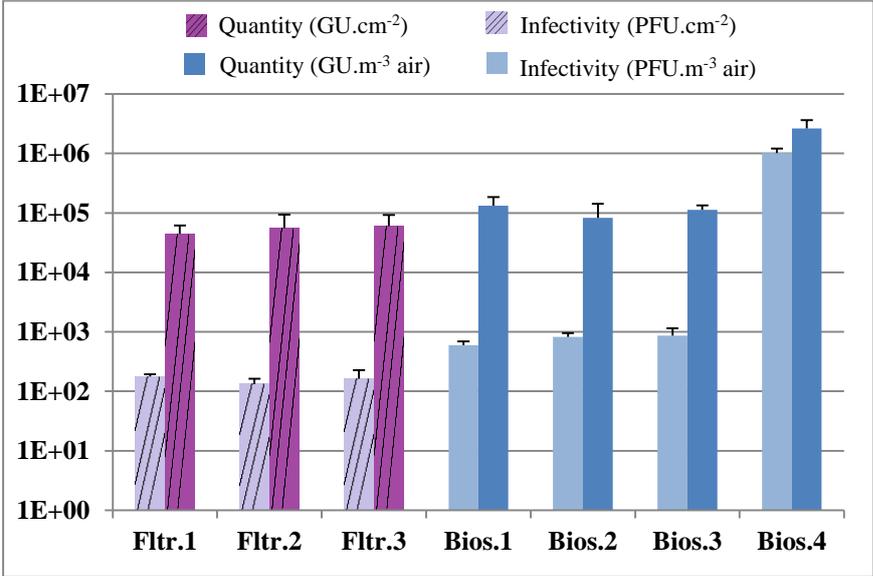
**Table 2: Average quantification and infectivity detection of the initial aerosolized viral suspension, samples from BioSamplers and the virus extracted from filters by SYBR® QPCR measurement (GU) (quantification) and TCID measurement (infectivity detection) normalization of the virus detection by volume of air and area of the filter**

**Adenovirus infectivity in the experimental set-up (upstream, downstream, and on the filters)**

The infectivity levels of adenovirus showed that  $5.94 \times 10^6$  TCID of infectious adenovirus was aerosolized upstream of the system and  $2.27 \times 10^5$  TCID was collected downstream of the system in the absence of a filter. 1.41 log of adenovirus infectivity was lost during the aerosolization (Table 2). This result demonstrates an effect of aerosolization on the virus infectivity. According to the TCID<sub>50</sub> test, about 500 adenovirus passed downstream of the system remained infectious and  $5.79 \times 10^3$  TCID was recovered on the 3 filters. The adenovirus left in the medical nebulizer after aerosolization remained infective. Comparing the remaining virus in the Omron to the initial solution aerosolized, no loss of infectivity of adenovirus was detected (data not shown).

**Adenovirus infectivity versus quantification (Fig. 5)**

The adenovirus collected on filters and in BioSamplers was quantified by PCR and infectivity was assessed using the Plaque Forming Unit (PFU) (1 TCID is equal to 0.69 PFU). The quantification and infectivity of the virus was normalized by volume of air and area of the filter. The adenovirus infectivity and quantification were measured for the output without a filter and showed  $2.63 \times 10^3$  GU.L<sup>-1</sup> air of which  $1.01 \times 10^3$  PFU.L<sup>-1</sup> was infectious. Therefore, 0.42 log of adenovirus lost infectivity during the 25 minutes of aerosolization. Comparing the adenovirus infectivity and quantification on the filters,  $1.61 \times 10^5$  GU.cm<sup>-2</sup> was detected of which  $4.74 \times 10^2$  PFU.cm<sup>-2</sup> remained infectious thus 2.5 log of virus lost infectivity. In the BioSamplers,  $3.3 \times 10^5$  viruses were detected per cubic meter of air passed through the filters of which  $1.6 \times 10^3$  viruses remained infectious.



235 **Fig. 5: Infectivity and quantification comparison of adenovirus downstream of the system and on the**  
236 **filters**

237 **4 Discussion**

238 In recent years, there have been many developments in indoor air treatment and bioaerosol microbial  
239 ecology. These have led to adaptations resulting in benefits for human health. We used the same experimental  
240 set-up as in the study of Bandaly et al. (2017), which represents a real-life model of an air handling unit. The  
241 same filter commonly used in AHUs (F7-Camfil) was employed; it has a filtration velocity of  $0.16 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  and  
242 efficiency between 91 and 99%. This effectiveness was verified in the study of Bailly (2001), which determined  
243 the air filter efficiency based on the four filtration phenomena curves. Adenovirus, a DNA eukaryote respiratory  
244 virus with a size between 70 and 90 nm, was chosen (Doerfler 1996). Adenovirus dynamics and characteristics  
245 are important topics that have been carefully studied. The SMPS<sup>TM</sup> present a median electric mobility size  
246 ( $d_{ae,50}$ ) of 87 nm close to the theoretical size of adenovirus point out in the study of Doerfler (1996). According  
247 to the apoptotic phenomenon and the way in which adenovirus multiplies in the HEK-293 cell, we can propose  
248 some hypotheses about the virus aerosol. The particles detected by Q-PCR on the stages below the virus size  
249 may be DNA fragments due to the apoptosis effect which disrupted the cells (Green 2011). These disruptions  
250 can lead to autodegradation of the cell like DNA degradation which affected the DNA virus used in our study  
251 (Green 2011). The nebulized adenovirus could be aerosolized as a single virus, groups of viruses or could be  
252 associated with cell debris and proteins. This hypothesis corresponds to reality as respiratory viruses are known  
253 to be expelled with cell debris and mucus.

254 Based on Q-PCR and TCID<sub>50</sub> measurement for the quantification and detection of infectivity in the  
255 system, the study shows that adenovirus was stopped by the filter medium F7 but some passed through the filters  
256 and stayed infectious. A negligible loss of infectivity was detected, confirming the study of Davis et al. (1971)  
257 who showed that the maximum adenovirus survival occurred at a high relative humidity of up to 89%. This RH  
258 value was observed in this experimental set-up during the 25 min of aerosolization. The studies of Goyal et al.  
259 (2011) and Farnsworth et al. (2006) showed that viruses could be detected by PCR but it is difficult to detect  
260 virus persistence in AHUs as they are inactivated within a day. This study confirms that of Bandaly et al. (2017),  
261 assessing the fate of mengovirus in AHUs, which revealed that the virus was detected and remained infectious  
262 downstream and upstream of the filter in the AHU.

263 Comparing this work to the study of Bandaly et al. (2017), there are morphological and physiological  
264 differences between adenovirus and mengovirus. On the morphological side, adenovirus is a DNA virus with a  
265 size between 70-90 nm (Doerfler 1996) while mengovirus is an RNA virus with a smaller size between 22-30  
266 nm (Faulkner et al. 1961). The physiological differences are based on their multiplication in the host cells and  
267 their virulence. Adenovirus shows an apoptotic effect in the host cells whereas mengovirus multiplication has a  
268 cytopathic effect. These different types of multiplication lead to different ways of virus release, as shown by  
269 comparing this work to the study of Bandaly et al. (2017) in which the initial viral solution had a greater  
270 cytopathic effect with mengovirus being released more easily with the bursting of cells than adenovirus in  
271 apoptotic cells. The study of Knight (1980) and the review of Gerba (2013) focused on the inactivation rate  
272 between respiratory viruses and showed that adenovirus has a low inactivation rate ( $0.011 \log_{10} \cdot \text{h}^{-1}$ ) whereas  
273 mengovirus, similar to rhinovirus, has a higher inactivation rate ( $0.25 \log_{10} \cdot \text{h}^{-1}$ ). These values are validated by

274 comparing this work to the study of Bandaly et al. (2017), as adenovirus was more persistent in the system after  
1 275 aerosolization with a loss of less than 1 log but mengovirus showed a loss of 4 log of infectivity.

2 276 According to Musher's review (2003), the oral secretions of people infected with adenovirus contain  $10^6$   
3 277 viruses per milliliter, which is the same value of the initial solution in this work. Musher (2003) revealed that an  
4 278 adenovirus infective dose is equivalent to 5 viral particles for an adult. In this study, adenovirus was normalized  
5 279 per cubic meter of air, showing that  $3.3 \times 10^5$  viruses.  $m^{-3}$  passed through the filters and  $1.6 \times 10^3$  viruses.  $m^{-3}$   
6 280 remained infectious during 25 min of aerosolization. In reality, an AHU blows or extracts  $15 m^3.h^{-1}$  per occupant  
7 281 and, in order to recover energy, in many office buildings up to 20% of the indoor air flow can be recycled. This  
8 282 concentration may spread the adenovirus back into the room and could infect the people present.

## 15 283 **5 Conclusion**

16 284 Recent studies have tried to understand the gaps between the behavior of bacteria and fungi on filter  
17 285 media and the role of AHUs in the spread and transport of viral particles inside buildings. This study presents  
18 286 new information on the characterization and fate of adenovirus, a non-enveloped DNA respiratory virus, in  
19 287 indoor environments and its behavior in air treatment units.

288 **6 References**

- 1  
2 289 Aritake, S., M. Uchiyama, H. Tagaya, H. Suzuki, K. Kuriyama, A. Ozaki, X. Tan, et al. 2004. “Time Estimation  
3 290 during Nocturnal Sleep in Human Subjects.” *Neuroscience Research* 49 (4): 387–93.  
4 291 doi:10.1016/j.neures.2004.04.006.
- 5 292 Bailly, André. 2001. “Traitement de l’air et Climatisation - Généralités.” avril. [http://www.techniques-  
6 293 ingenieur.fr/base-documentaire/construction-et-travaux-publics-th3/le-chauffage-la-climatisation-et-l-  
7 294 eau-chaude-sanitaire-42582210/traitement-de-l-air-et-climatisation-be9270/](http://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/construction-et-travaux-publics-th3/le-chauffage-la-climatisation-et-l-eau-chaude-sanitaire-42582210/traitement-de-l-air-et-climatisation-be9270/).
- 8 295 Bandaly, Victor, Aurélie Joubert, Pierre Le Cann, and Yves Andres. 2017. “The Fate of Mengovirus on  
9 296 Fiberglass Filter of Air Handling Units.” *Journal of Food and Environmental Virology*.  
10 297 doi:10.1007/s12560-017-9310-8.
- 11 298 Bluysen, Philomena M, Christian Cox, Olli Seppänen, Eduardo de Oliveira Fernandes, Geo Clausen, Birgit  
12 299 Müller, and Claude-Alain Roulet. 2003. “Why, When and How Do HVAC-Systems Pollute the Indoor  
13 300 Environment and What to Do about It? The European AIRLESS Project.” *Building and Environment* 38  
14 301 (2): 209–25. doi:10.1016/S0360-1323(02)00058-6.
- 15 302 Couch, R. B., T. R. Cate, R. G. Jr Douglas, P. J. Gerone, and V. Knight. 1966. “Effect of Route of Inoculation on  
16 303 Experimental Respiratory Viral Disease in Volunteers and Evidence for Airborne Transmission.”  
17 304 *Bacteriological Reviews* 30 (3): 517–29.
- 18 305 Davis, Gary W., Richard A. Griesemer, John A. Shaddock, and Robert L. Farrell. 1971. “Effect of Relative  
19 306 Humidity on Dynamic Aerosols of Adenovirus 12.” *Applied Microbiology* 21 (4): 676–79.
- 20 307 Doerfler, Walter. 1996. “Adenoviruses.” In *Medical Microbiology*, edited by Samuel Baron, 4th ed. Galveston  
21 308 (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.  
22 309 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8503/>.
- 23 310 Douwes, J., P. Thorne, N. Pearce, and D. Heederik. 2003. “Bioaerosol Health Effects and Exposure Assessment:  
24 311 Progress and Prospects.” *Annals of Occupational Hygiene* 47 (3): 187–200.  
25 312 doi:10.1093/annhyg/meg032.
- 26 313 Downie, A. W., M. Meiklejohn, L. St Vincent, A. R. Rao, B. V. Sundara Babu, and C. H. Kempe. 1965. “The  
27 314 Recovery of Smallpox Virus from Patients and Their Environment in a Smallpox Hospital.” *Bulletin of  
28 315 the World Health Organization* 33 (5): 615–22.
- 29 316 “EN779:2012 (Filtration Norme ).” 2017. Accessed April 10. [http://www.camfil.fr/Technique-de-  
30 317 filtration/Specifications-industrielles/EN779\\_2012/](http://www.camfil.fr/Technique-de-filtration/Specifications-industrielles/EN779_2012/).
- 31 318 “EN1822 ( European Norme ) Par Camfil.” 2017. Accessed April 10. [http://www.camfil.fr/Technique-de-  
32 319 filtration/Specifications-industrielles/EN-1822/](http://www.camfil.fr/Technique-de-filtration/Specifications-industrielles/EN-1822/).
- 33 320 Ezratty, Véronique, and Fabien Squinazi. 2008. “Pandemic Influenza Virus inside Buildings: Is There a Risk of  
34 321 Transmission by Ventilation or Air Conditioning Systems?” *Environnement, Risques & Santé* 7 (4):  
35 322 255–63. doi:10.1684/ers.2008.0157.
- 36 323 Fabian, Patricia, James J. McDevitt, Wesley H. DeHaan, Rita O. P. Fung, Benjamin J. Cowling, Kwok Hung  
37 324 Chan, Gabriel M. Leung, and Donald K. Milton. 2008. “Influenza Virus in Human Exhaled Breath: An  
38 325 Observational Study.” *Plos One* 3 (7): e2691. doi:10.1371/journal.pone.0002691.
- 39 326 Fabian, Patricia, Donald Milton, Matthew Angel, Daniel Perez, and James McDevitt. 2011. “Influenza Virus  
40 327 Aerosols in Human Exhaled Breath: Particle Size, Culturability, and Effect of Surgical Masks.”  
41 328 *Epidemiology* 22 (1): S51–S51. doi:10.1097/01.ede.0000391818.35353.36.
- 42 329 Farnsworth, James E., Sagar M. Goyal, Seung Won Kim, Thomas H. Kuehn, Peter C. Raynor, M. A.  
43 330 Ramakrishnan, Senthilvelan Anantharaman, and Weihua Tang. 2006. “Development of a Method for  
44 331 Bacteria and Virus Recovery from Heating, Ventilation, and Air Conditioning (HVAC) Filters.”  
45 332 *Journal of Environmental Monitoring: JEM* 8 (10): 1006–13.
- 46 333 Faulkner, P., Em Martin, S. Sved, Rc Valentine, and Ts Work. 1961. “Studies on Protein and Nucleic Acid  
47 334 Metabolism in Virus-Infected Mammalian Cells. 2. The Isolation, Crystallization and Chemical  
48 335 Characterization of Mouse Encephalomyocarditis Virus.” *Biochemical Journal* 80 (3): 597–605.  
49 336 doi:10.1042/bj0800597.
- 50 337 Faure, Marie. 2010. “PURIFICATION DE L’AIR AMBIANT PAR L’ACTION BACTERICIDE DE LA  
51 338 PHOTOCATALYSE.” Lorraine: Ecole doctorale RP2E.
- 52 339 Gerba, C. P. 2013. “Occurrence and Transmission of Food- and Waterborne Viruses by Fomites,” May.  
53 340 doi:10.1533/9780857098870.3.205.
- 54 341 González, Luisa F., Aurélie Joubert, Yves Andrès, Myriam Liard, Christophe Renner, and Laurence Le Coq.  
55 342 2016. “Filtration Performances of HVAC Filters for PM10 and Microbial Aerosols— Influence of  
56 343 Management in a Lab-Scale Air Handling Unit.” *Aerosol Science and Technology* 50 (6): 555–67.  
57 344 doi:10.1080/02786826.2016.1167833.
- 58 345 Goyal, Sagar M., Senthilvelan Anantharaman, M. A. Ramakrishnan, Suchitra Sajja, Seung Won Kim, Nicholas  
59 346 J. Stanley, James E. Farnsworth, Thomas H. Kuehn, and Peter C. Raynor. 2011. “Detection of Viruses

- 347 in Used Ventilation Filters from Two Large Public Buildings.” *American Journal of Infection Control*  
348 39 (7): e30-38. doi:10.1016/j.ajic.2010.10.036.
- 349 Green, Douglas R. 2011. *Means to an End: Apoptosis and Other Cell Death Mechanisms*. Cold Spring Harbor  
350 Laboratory Press.
- 351 Jones, AP. 1999. “Indoor Air Quality and Health.” *ATMOSPHERIC ENVIRONMENT* 33 (28): 4535–64.  
352 doi:10.1016/S1352-2310(99)00272-1.
- 353 Klepeis, NEIL E., WILLIAM C. NELSON, WAYNE R. OTT, JOHN P. ROBINSON, ANDY M. TSANG,  
354 PAUL SWITZER, JOSEPH V. BEHAR, STEPHEN C. HERN, and WILLIAM H. ENGELMANN.  
355 2001. “The National Human Activity Pattern Survey (NHAPS): A Resource for Assessing Exposure to  
356 Environmental Pollutants.” *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology* 11 (3): 231–  
357 52. doi:10.1038/sj.jea.7500165.
- 358 Knight, Vernon. 1980. “Viruses as Agents of Airborne Contagion.” *Annals of the New York Academy of Sciences*  
359 353 (1): 147–56. doi:10.1111/j.1749-6632.1980.tb18917.x.
- 360 Lowen, Anice C., Samira Mubareka, John Steel, and Peter Palese. 2007. “Influenza Virus Transmission Is  
361 Dependent on Relative Humidity and Temperature.” *Plos Pathogens* 3 (10): 1470–76.  
362 doi:10.1371/journal.ppat.0030151.
- 363 Morawska, L. 2006. “Droplet Fate in Indoor Environments, or Can We Prevent the Spread of Infection?” *Indoor*  
364 *Air* 16 (5): 335–47. doi:10.1111/j.1600-0668.2006.00432.x.
- 365 Musher, Daniel M. 2003. “How Contagious Are Common Respiratory Tract Infections?” *The New England*  
366 *Journal of Medicine* 348 (13): 1256–66. doi:10.1056/NEJMra021771.
- 367 Myatt, T. A., S. L. Johnston, Z. F. Zuo, M. Wand, T. Keadze, S. Rudnick, and D. K. Milton. 2004. “Detection  
368 of Airborne Rhinovirus and Its Relation to Outdoor Air Supply in Office Environments.” *American*  
369 *Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 169 (11): 1187–90. doi:10.1164/rccm.200306-  
370 7600C.
- 371 Prussin, Aaron J., Amit Vikram, Kyle J. Bibby, and Linsey C. Marr. 2016. “Seasonal Dynamics of the Airborne  
372 Bacterial Community and Selected Viruses in a Children’s Daycare Center.” *PloS One* 11 (3):  
373 e0151004. doi:10.1371/journal.pone.0151004.
- 374 Ramakrishnan, Muthannan Andavar. 2016. “Determination of 50% Endpoint Titer Using a Simple Formula.”  
375 *World Journal of Virology* 5 (2): 85–86. doi:10.5501/wjv.v5.i2.85.
- 376 Ryu, Hodon, Jennifer L. Cashdollar, G. Shay Fout, Karen A. Schrantz, and Samuel Hayes. 2015. “Applicability  
377 of Integrated Cell Culture Quantitative PCR (ICC-QPCR) for the Detection of Infectious Adenovirus  
378 Type 2 in UV Disinfection Studies.” *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 50 (8): 777–  
379 87. doi:10.1080/10934529.2015.1019795.
- 380 Seppänen, O. A., and W. J. Fisk. 2004. “Summary of Human Responses to Ventilation.” *Indoor Air* 14: 102–18.  
381 doi:10.1111/j.1600-0668.2004.00279.x.
- 382 Siegel, J. M. 2003. “Why We Sleep.” *Scientific American* 289 (5): 92–97.
- 383 Tang, J. W., Y. Li, I. Eames, P. K. S. Chan, and G. L. Ridgway. 2006. “Factors Involved in the Aerosol  
384 Transmission of Infection and Control of Ventilation in Healthcare Premises.” *Journal of Hospital*  
385 *Infection* 64 (2): 100–114. doi:10.1016/j.jhin.2006.05.022.
- 386 Tellier, Raymond. 2006. “Review of Aerosol Transmission of Influenza A Virus.” *Emerging Infectious Diseases*  
387 12 (11): 1657–62. doi:10.3201/eid1211.060426.
- 388 Turcotte, Martin. 2005. “Time Spent with Family during a Typical Workday, 1986 to 2005.” *Canadian Social*  
389 *Trends*. <http://www.statcan.gc.ca/pub/11-008-x/2006007/9574-eng.htm>.
- 390 Zheng, Yunhao, and Maosheng Yao. 2017. “Liquid Impinger BioSampler’s Performance for Size-Resolved  
391 Viable Bioaerosol Particles.” *Journal of Aerosol Science* 106 (April): 34–42.  
392 doi:10.1016/j.jaerosci.2017.01.003.
- 393

## *Conclusions générales et Perspectives*

---



## Conclusions générales et Perspectives

Durant une journée de travail, à la maison ou au supermarché, nous sommes exposés à un mélange de bioaérosols. Les systèmes de ventilation et les centrales de traitement d'air sont conçus pour délivrer de l'air filtré en réduisant la concentration des particules de l'air, extérieur ou intérieur en cas de recyclage, pour assurer un meilleur confort des occupants. Un dysfonctionnement de ces systèmes peut entraîner une contamination de l'air intérieur. Il ressort de l'analyse bibliographique des études qui ont révélé la détection de moisissures et de bactéries aéropartées et de certains virus sur les filtres des systèmes de traitement d'air. La présence de ces microorganismes dans les milieux clos induit à une dégradation de la qualité de l'air qui peut être à l'origine de plusieurs gênes respiratoires auprès des occupants. Les connaissances sur les aérosols viraux dans les centrales de traitement d'air et les effets de leurs relargages dans le milieu intérieur sur la santé humaine restent limitées.

L'originalité de ce travail réside dans la mise en œuvre d'une méthodologie expérimentale de type pilote à l'échelle du laboratoire. Trois objectifs ont été fixés :

- Explorer le domaine des bioaérosols viraux dans les systèmes de ventilation et les centrales de traitement d'air
- Décrire et valider une démarche scientifique pour répondre à la partie technique de la thèse afin de comprendre le devenir et la persistance des virus respiratoires dans les centrales de traitement d'air.
- Présenter de nouvelles informations sur la survie des virus respiratoires nus à ARN et ADN dans les environnements intérieurs et leur devenir dans les centrales de traitement de l'air.

Dans cette partie, nous nous intéresserons à discuter plus particulièrement l'effet des caractéristiques et du type du virus respiratoire et les effets des paramètres expérimentaux des CTA. Diverses perspectives seront abordées afin d'étudier l'impact des bioaérosols viraux, présents dans les environnements intérieurs, sur la santé humaine.

Pour répondre à ces objectifs, dans un premier temps une revue bibliographique a été réalisée et présentée dans le deuxième chapitre de ce manuscrit. Une attention spécifique a été portée sur les études de la littérature ayant pour sujet la qualité de l'air urbain et les environnements fermés, au niveau des particules et des aérosols viraux. Les centrales de traitement d'air et différents types de système de ventilation ont été décrits avec les différentes classes de filtres. A partir de cet état de l'art, une grande variabilité de nature d'aérosols

(concentration, granulométrie, composition biologique, chimique, etc.) a été mise en évidence ainsi que la présence de différentes souches virales. Ces informations ont permis de choisir les virus « modèles », le type de filtre et les paramètres expérimentaux à l'échelle du laboratoire. De plus, quelques techniques d'échantillonnage, de quantification et de caractérisation des aérosols viraux ont été exposées dans la revue bibliographique afin d'élaborer la démarche scientifique et les approches expérimentales du projet. Enfin, la littérature traitée montre la présence des virus sur les filtres des centrales de traitement d'air par détection moléculaire sans aucune notion de l'infectiosité de ces virus et leurs devenir dans ces systèmes. Ces lacunes ont amené les questions scientifiques qui ont rendu ce travail original au niveau méthodologie et expérimental.

Ceci a été détaillé dans le troisième chapitre de ce manuscrit. Une première partie a été consacrée à la description et la validation du système. Ce banc d'essai présente une vitesse de filtration égale à  $0,16 \text{ m. s}^{-1}$  similaire à la vitesse des filtres industriels le qualifiant comme un modèle miniature réel de la centrale de traitement d'air. Une validation climatique a été effectuée au niveau du banc d'essai montrant une humidité relative comprise entre 40 et 89% et une température stable de  $16^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Les méthodes expérimentales concernant la génération, l'échantillonnage, la détection et la caractérisation des aérosols viraux ont été également décrites.

Les résultats de la partie expérimentale de cette thèse sont présentés dans le quatrième et cinquième chapitre. Au travers des différentes analyses, un certain nombre de constatations et d'observations ont pu être mises en évidence :

- Le développement et la mise en place d'un système expérimental proche de la réalité pour étudier le devenir des virus respiratoires dans les CTA et dans les environnements fermés.
- La caractérisation des aérosols des adénovirus et mengovirus dans le système expérimental au niveau granulométrique et moléculaire. Les virus sont aérosolisés en tant que groupe de virus ou bien associés à des débris cellulaires.
- La détection quantitative et du pouvoir infectieux des virus par la méthode moléculaire (qPCR) et les méthodes de cultures (TCID<sub>50</sub>) pour la première fois en même temps.
- La capacité des virus de passer le filtre et le pouvoir de rester infectieux même avec la haute efficacité du filtre. La capacité des virus de conserver leur

infectiosité sur le filtre avec une détection d'infectiosité pouvant atteindre 10h dans le cas du mengovirus.

- La comparaison du devenir des bioaérosols viraux dans le système expérimental selon deux espèces et structures différentes : adénovirus (ADN) et mengovirus (ARN).

Peu de littérature existe à propos du devenir des virus respiratoires sur les filtres dans les centres de traitement d'air. Ce projet a donc permis d'accumuler des données pertinentes quant au comportement de virus respiratoires dans l'air intérieur. Les diverses expérimentations dans ce travail ont permis de comprendre un peu mieux le devenir des aérosols et plus spécifiquement des aérosols viraux dans les CTA. Les méthodologies développées ici permettent de répondre à des objectifs précis. Toutefois, c'est par les mises au point d'instruments, les optimisations de protocole et les adaptations de concepts que les informations apportées dans le présent document pourront permettre à d'autres scientifiques intéressés par les aérosols viraux de mieux les comprendre et de développer des outils appliqués de détection qualitative et quantitative des autres virus. Les procédures développées ici peuvent être utilisées dans plusieurs autres contextes scientifiques dans le but d'étudier la présence des virus dans l'air intérieur et mieux comprendre le comportement et le devenir de ces aérosols viraux dans les centrales de traitement d'air. Il s'agit de la première étude qui décrit scientifiquement la présence et la persistance des virus infectieux non enveloppés, adénovirus et mengovirus sur les filtres dans les CTA.

Précédemment dans l'introduction bibliographique, la présence de différents types de virus contagieux, en particulier respiratoires, pouvant être transmis par des contacts directs ou indirect a été décrite. Ces virus respiratoires sont classés selon une taxonomie bien définie avec des caractéristiques différentes au niveau de la capsid, de la nature du génome (ARN / ADN) etc.... Durant notre étude, le choix s'est porté sur deux virus de familles, de natures de génome et de taille différentes : le mengovirus et l'adénovirus. Une description de ces deux virus va être détaillée dans cette partie avec la comparaison de ces caractéristiques sur leurs comportements et devenir dans les CTA (Tableau 9). Au niveau taxonomie et caractéristiques, ces deux virus appartiennent respectivement à la famille des *picornaviridae* et *adenoviridae*. Le mengovirus est un virus à ARN de taille de 27 nm alors que l'adénovirus est un virus à ADN de taille comprise entre 70 et 90 nm. Ces deux virus non enveloppés sont présents toute l'année (Doerfler, 1996; King et al., 2012). Le mengovirus est un picornavirus qui infecte naturellement les rongeurs, et il provoque des infections systémiques qui ressemblent à des infections par le

rhinovirus, chez les humains. Par inhalation, le mengovirus peut produire une infection limitée aux voies respiratoires des rats, et peut servir de modèle pour les infections à rhinovirus chez l'homme (Palmenberg and Osorio, 1994; Rosenthal et al., 2009). Au niveau de la transmission virale, une personne infectée avec adénovirus peut contaminer ces congénères par un contact direct en émettant  $10^6$ - $10^7$  particules.  $\text{ml}^{-1}$  de sécrétion sous forme de larges, moyennes et minuscules gouttelettes. Une personne infectée par rhinovirus (*Picornaviridae*) peut transmettre le virus par un contact direct en émettant 5 à 2000 particules.  $\text{ml}^{-1}$  sous forme de larges ou moyennes gouttelettes (Doerfler, 1996; Musher, 2003; King et al., 2012). En fonction des facteurs physico-chimiques, l'adénovirus et le rhinovirus présentent différents taux d'inactivation sur les surfaces selon l'étude de Gerba, (2013). Le taux d'inactivation d'adénovirus est de  $0,011 \text{ log. h}^{-1}$  qui est plus faible que celui de mengovirus qui est égale à  $0,25 \text{ log. h}^{-1}$ . L'adénovirus persiste donc mieux que le rhinovirus sur les surfaces. L'humidité relative influe sur la persistance de ces deux virus. Une autre étude a montré que le mengovirus présente une inactivation rapide à un taux de RH entre 40 et 60 % (Akers and Hatch, 1968). L'étude de Davis et al. (1971) a montré que les adénovirus pouvaient survivre à une humidité relative élevée allant jusqu'à 89%. Les travaux effectués dans cette thèse ont montré le devenir de ces deux virus dans les CTA et ils ont démontré que la perte d'infectiosité de mengovirus est 5,6 fois plus élevée que celle d'adénovirus dans le système expérimental. Toutes ces informations (Tableau 9) montrent que l'adénovirus, virus respiratoire à ADN non enveloppé, est plus persistant que le mengovirus, virus à ARN non enveloppé, dans les CTA.

Caractéristique	Mengovirus / Rhinovirus	Adénovirus
<b>Famille</b>	<i>Picornaviridae</i>	<i>Adenoviridae</i>
<b>Taille</b>	27 nm	70-90nm
<b>Type d'enveloppe</b>	Non enveloppé	Non enveloppé
<b>Nature du génome</b>	ARN	ADN
<b>Type de multiplication</b>	Effet cytopathique	Effet apoptotique
<b>Taux d'inactivation</b>	0,25 log. h <sup>-1</sup> (estimé)	0,011 log. h <sup>-1</sup>
<b>Qté de sécrétion</b>	5-2000 particules. ml <sup>-1</sup>	10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup> particules. ml <sup>-1</sup>
<b>Dose d'infectiosité</b>	-	5 particules
<b>Type de contamination</b>	Direct contact- large / medium gouttelettes	Direct contact- large / medium / minuscule gouttelettes
<b>Effet de l'humidité relative</b>	Inactivation rapide entre 40-60%	Résistance jusqu'à 89%
<b>Perte d'infectiosité dans le système</b>	↓ 5,6 log	↓ 1 log

**Tableau 9 : Caractéristiques de mengovirus et adénovirus**

En prenant un peu de recul sur l'état environnemental de notre planète, la majorité des problèmes écologiques mondiaux sont en fait de l'accroissement de la population mondiale qui augmente la pression sur les ressources naturelles de même que la demande énergétique. La pollution de l'air est étroitement liée à la production d'énergie, puisque ce sont encore ces productions qui produisent actuellement la plupart des gaz polluants et les particules fines. Le confinement passif est mis en place et consiste à mettre à l'abri les personnes d'un logement le plus étanche à l'air possible afin de limiter les pertes en énergie. Ce confinement augmente le risque de l'exposition dans les milieux clos. Pour éviter les problèmes d'exposition et les problèmes énergétiques, le recyclage de l'air intérieur dans les CTA peut être envisagé comme une des solutions. L'air recyclé doit être filtré pour enlever tout ce qui pourrait nuire à la salubrité des locaux de destination, étant donné que celui-ci est chargé en poussière et autres types d'éléments dégagés par la présence humaine, par exemple dans notre cas les virus respiratoires. Il existe différents types de recyclage d'air : recyclage total (aucun air neuf n'est apporté) et recyclage partiel (une portion de l'air prélevé est rejetée et changée par de l'air neuf). Une autre alternative moins pénalisante du point de vue de la qualité de l'air intérieur est la ventilation double flux avec récupération de chaleur. Le rendement énergétique d'un recyclage d'air est imbattable (transfert de chaleur et d'humidité) et ce pour un coût très limité. Cependant, l'évolution des exigences au niveau de la qualité de l'air (absence d'odeur, qualité biologique

et hygiénique) peut amener à repenser le principe du recyclage d'air (Bas, 2004; Maroni et al., 1995).

Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse mettent en évidence le devenir des aérosols viraux sur les filtres commercialisés dans les centrales de traitement d'air. Dans la continuité de ce travail, une étude avec d'autres modèles viraux pourrait être également envisagée pour déterminer un comportement spécifique des virus par exemple les virus enveloppés et les comparer aux virus non enveloppés. Dans ce cadre, il serait aussi intéressant d'étudier d'autres types de filtres avec une efficacité plus haute ou bien aussi des filtres usagés charger en particules. Les filtres avec une haute efficacité comme les filtres de type E, H et U sont plus utilisés dans les chambres de soins intensifs et blocs opératoires. Ils pourraient être testés pour étudier leur efficacité vis à vis des virus respiratoires qui peuvent conduire à des infections nosocomiales mais également la variation d'infectivité des virus. Il est possible de distinguer deux types de filtres usagés à deux échelles différents : l'échelle du laboratoire et l'échelle réelle. Au niveau de l'échelle du laboratoire, les filtres peuvent être considérés comme filtre usagés suite à leur colmatage par de la poudre de riz micronisé autoclavée par exemple (González et al., 2016; Morisseau et al., 2017). A l'échelle réelle, les filtres d'un milieu clos comme un gymnase, une piscine ou un supermarché peuvent être testés lors de la saison hivernale en période d'épidémie des infections respiratoires. En effet, il est possible que le colmatage du filtre (filtre usagé) puisse changer le comportement des virus en fonction de la surface d'adsorption (Gerba, 2013; Pirtle and Beran, 1991). Dans ce cas, un projet à plus grande échelle et plus proche de la réalité permettrait de mieux comprendre le risque infectieux que les aérosols viraux peuvent représenter.

La filtration sur média fibreux est le procédé le plus répandu pour la capture des particules en traitement de l'air. Ces particules capturées peuvent être de nature biologique comme des bactéries, des moisissures et des virus. Pour améliorer l'efficacité de la filtration, plusieurs travaux ont étudié l'effet des filtres antimicrobiens sur la survie des bactéries dans les CTA (Verdenelli et al., 2003; Miśkiewicz-Peska and Łebkowska, 2011; Woo et al., 2015). Ces études ont utilisé différents types d'antimicrobiens : naturels comme les extraits de pépin de pamplemousse et la propolis (Woo et al., 2015) ou chimique comme par exemple le nitrate d'argent (Miśkiewicz-Peska and Łebkowska, 2011) et des sels de cations ammonium quaternaires avec un anion (complexe aminé quaternaire phosphaté) (Verdenelli et al., 2003). Le traitement par filtre antibactérien entraînait une réduction évidente des cellules bactériennes vivantes. Les travaux réalisés ici ont mis en évidence la survie des virus sur les filtres dans les

CTA. Dans la continuité de ce travail, une idée de fabrication d'un filtre antiviral peut être proposée. Plusieurs études ont déjà montré l'efficacité des huiles essentielles sur la persistance des virus (Astani et al., 2010; Bishop, 1995; Cermelli et al., 2007; Chao et al., 2000; Civitelli et al., 2014; Sivropoulou et al., 1997; Wu et al., 2010). L'efficacité de ces huiles essentielles a déjà été testée sur les virus respiratoires comme les adénovirus (Cermelli et al., 2007), virus ourlien (Cermelli et al., 2007), influenza virus (Wu et al., 2010), herpes virus (Civitelli et al., 2014) ... Ces huiles essentielles pourraient être ajoutées directement par le fabricant pendant le cycle de production du filtre.

Enfin, ce travail de thèse peut s'inscrire dans la notion "d'exposome". Ce terme décrit la somme des expositions, tant microbiologiques que chimiques, tout au long de la vie d'un être humain. En effet, il est maintenant admis que de nombreuses pathologies et effets sur la santé sont étroitement liés aux expositions subies par les humains qui passent de plus en plus de leur temps dans des environnements confinés. Bien qu'il existe de nombreuses publications concernant les bactéries et les moisissures dans l'air intérieur, très peu d'études concernent les virus. Les résultats obtenus dans cette thèse contribuent à une meilleure connaissance du devenir des virus dans les systèmes de traitement de l'air des espaces confinés et peuvent donc apporter des informations pouvant être intégrés à "l'exposome".



## *Bibliographie*

---



## Bibliographie

- AFSSET, 2009. Évaluation du risque sanitaire pour l'homme lié à la présence de virus Influenza pandémique dans l'air des bâtiments et à sa propagation éventuelle par les dispositifs de ventilation.
- Akers, T.G., Bond, S.B., Papke, C., Leif, W.R., 1966. Virulence and immunogenicity in mice of airborne encephalomyocarditis viruses and their infectious nucleic acids. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 97, 379–85.
- Akers, T.G., Hatch, M.T., 1968. Survival of a picornavirus and its infectious ribonucleic acid after aerosolization. *Appl. Microbiol.* 16, 1811–1813.
- Akers, T.G., Prato, C.M., Dubovi, E.J., 1973. Airborne stability of simian virus 40. *Appl. Microbiol.* 26, 146–8.
- Aritake, S., Uchiyama, M., Tagaya, H., Suzuki, H., Kuriyama, K., Ozaki, A., Tan, X., Shibui, K., Kamei, Y., Okubo, Y., Takahashi, K., 2004. Time estimation during nocturnal sleep in human subjects. *Neurosci. Res.* 49, 387–393.  
doi:10.1016/j.neures.2004.04.006
- Astani, A., Reichling, J., Schnitzler, P., 2010. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytother. Res. PTR* 24, 673–679.  
doi:10.1002/ptr.2955
- Bailly, A., 2001. Traitement de l'air et climatisation - Généralités [WWW Document]. URL <http://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/construction-et-travaux-publics-th3/le-chauffage-la-climatisation-et-l-eau-chaude-sanitaire-42582210/traitement-de-l-air-et-climatisation-be9270/> (accessed 12.7.16).
- Baklanov, A., Molina, L.T., Gauss, M., 2016. Megacities, air quality and climate. *Atmos. Environ.* 126, 235–249. doi:10.1016/j.atmosenv.2015.11.059
- Bas, E., 2004. *Indoor Air Quality: A Guide for Facility Managers*. The Fairmont Press, Inc.
- Bauman, K.A., 2000. The family physician's reasonable approach to upper respiratory tract infection care for this century. *Arch. Fam. Med.* 9, 596–597.  
doi:10.1001/archfami.9.7.596
- Bertino, J.S., 2003. Cost burden of viral respiratory infections: Issues for formulary decision makers (Reprinted from *Am J Med* 2002, vol 112(Suppl 6A), pg 42S-49S). *Dm Dis.-- Mon.* 49, 225–239. doi:10.1067/mda.2003.22

- Bishop, C.D., 1995. Antiviral Activity of the Essential Oil of *Melaleuca alternifolia* (Maiden amp; Betche) Cheel (Tea Tree) Against Tobacco Mosaic Virus. *J. Essent. Oil Res.* 7, 641–644. doi:10.1080/10412905.1995.9700519
- Burge, H., 1990. Bioaerosols - Prevalence and Health-Effects in the Indoor Environment. *J. Allergy Clin. Immunol.* 86, 687–701. doi:10.1016/S0091-6749(05)80170-8
- Bustin, S.A., 2000. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J. Mol. Endocrinol.* 25, 169–193.
- Cermelli, C., Fabio, A., Fabio, G. et al. *Curr Microbiol* (2008) 56: 89.  
<https://doi.org/10.1007/s00284-007-9045-0>
- Chao, S.C., Young, D.G., Oberg, C.J., 2000. Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. *J. Essent. Oil Res.* 12, 639–649.  
 doi:10.1080/10412905.2000.9712177
- Chen, S.K., Vesley, D., Brosseau, L.M., Vincent, J.H., 1994. Evaluation of single-use masks and respirators for protection of health care workers against mycobacterial aerosols. *Am. J. Infect. Control* 22, 65–74.
- Civitelli, L., Panella, S., Marocci, M.E., De Petris, A., Garzoli, S., Pepi, F., Vavala, E., Ragno, R., Nencioni, L., Palamara, A.T., Angiolella, L., 2014. In vitro inhibition of herpes simplex virus type 1 replication by *Mentha suaveolens* essential oil and its main component piperitenone oxide. *Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm.* 21, 857–865. doi:10.1016/j.phymed.2014.01.013
- Concannon, P., 2002. Residential ventilation. *Review of Residential Ventilation Technologies: HVAC&R Research: Vol 13, No*
- Couch, R.B., Cate, T.R., Douglas, R.G.J., Gerone, P.J., Knight, V., 1966. Effect of route of inoculation on experimental respiratory viral disease in volunteers and evidence for airborne transmission. *Bacteriol. Rev.* 30, 517–29.
- Davis, G.W., Griesemer, R.A., Shaddock, J.A., Farrell, R.L., 1971. Effect of Relative Humidity on Dynamic Aerosols of Adenovirus 12. *Appl. Microbiol.* 21, 676–679.
- Després, V.R., Huffman, J.A., Burrows, S.M., Hoose, C., Safatov, A.S., Buryak, G., Fröhlich-Nowoisky, J., Elbert, W., Andreae, M.O., Pöschl, U., Jaenicke, R., 2012. Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review. *Tellus B* 64.  
 doi:10.3402/tellusb.v64i0.15598
- Dhalluin, A., 2012. Etude de stratégies de ventilation pour améliorer la qualité environnementale intérieure et le confort des occupants en milieu scolaire (phdthesis). Université de La Rochelle.

- Doerfler, W., 1996. Adenoviruses, in: Baron, S. (Ed.), *Medical Microbiology*. University of Texas Medical Branch at Galveston, Galveston (TX).
- Downie, A.W., Meiklejohn, M., St Vincent, L., Rao, A.R., Sundara Babu, B.V., Kempe, C.H., 1965. The recovery of smallpox virus from patients and their environment in a smallpox hospital. *Bull. World Health Organ.* 33, 615–22.
- Ebola Situation Report - 30 March 2016 | Ebola [WWW Document], n.d. URL <http://apps.who.int/ebola/current-situation/ebola-situation-report-30-march-2016> (accessed 4.26.17).
- Elazhary, M., Derbyshire, J., 1979. Aerosol Stability of Bovine Adenovirus Type-3. *Can. J. Comp. Med.-Rev. Can. Med. Comp.* 43, 305–312.
- EN779:2012 [WWW Document], n.d. URL [http://www.camfil.fr/Technique-de-filtration/Specifications-industrielles/EN779\\_2012/](http://www.camfil.fr/Technique-de-filtration/Specifications-industrielles/EN779_2012/) (accessed 4.10.17).
- EN1822 : 2009 [WWW Document], n.d. URL <http://www.camfil.fr/Technique-de-filtration/Specifications-industrielles/EN-1822/> (accessed 4.10.17).
- Fabian, P., McDevitt, J.J., DeHaan, W.H., Fung, R.O.P., Cowling, B.J., Chan, K.H., Leung, G.M., Milton, D.K., 2008. Influenza Virus in Human Exhaled Breath: An Observational Study. *Plos One* 3, e2691. doi:10.1371/journal.pone.0002691
- Fenger, J., 2009. Air pollution in the last 50 years - From local to global. *Atmos. Environ.* 43, 13–22. doi:10.1016/j.atmosenv.2008.09.061
- Fenger, J., 1999. Urban air quality. *Atmos. Environ.* 33, 4877–4900. doi:10.1016/S1352-2310(99)00290-3
- Fischer, G., Müller, T., Ostrowski, R., Dott, W., 1999. Mycotoxins of *Aspergillus fumigatus* in pure culture and in native bioaerosols from compost facilities. *Chemosphere* 38, 1745–1755.
- Forthomme, A., Andrès, Y., Joubert, A., Simon, X., Duquenne, P., Bemer, D., Coq, L.L., 2012. Evolution of microbial aerosol behaviour in heating, ventilating and air-conditioning systems – quantification of *Staphylococcus epidermidis* and *Penicillium oxalicum* viability. *Environ. Technol.* 33, 2217–2221. doi:10.1080/09593330.2012.689370
- Gerba, C.P., 2013. Occurrence and transmission of food- and waterborne viruses by fomites. doi:10.1533/9780857098870.3.205
- Gibson, U.E., Heid, C.A., Williams, P.M., 1996. A novel method for real time quantitative RT-PCR. *Genome Res.* 6, 995–1001.

- González, L.F., Joubert, A., Andrès, Y., Liard, M., Renner, C., Coq, L.L., 2016. Filtration performances of HVAC filters for PM10 and microbial aerosols— Influence of management in a lab-scale air handling unit. *Aerosol Sci. Technol.* 50, 555–567. doi:10.1080/02786826.2016.1167833
- Goyal, S.M., Anantharaman, S., Ramakrishnan, M.A., Sajja, S., Kim, S.W., Stanley, N.J., Farnsworth, J.E., Kuehn, T.H., Raynor, P.C., 2011. Detection of viruses in used ventilation filters from two large public buildings. *Am. J. Infect. Control* 39, e30-38. doi:10.1016/j.ajic.2010.10.036
- Guerreiro, C.B.B., Foltescu, V., de Leeuw, F., 2014. Air quality status and trends in Europe. *Atmos. Environ.* 98, 376–384. doi:10.1016/j.atmosenv.2014.09.017
- Guha, S., Li, M., Tarlov, M.J., Zachariah, M.R., 2012. Electrospray–differential mobility analysis of bionanoparticles. *Trends Biotechnol.* 30, 291–300. doi:10.1016/j.tibtech.2012.02.003
- Gurjar, B.R., Butler, T.M., Lawrence, M.G., Lelieveld, J., 2008. Evaluation of emissions and air quality in megacities. *Atmos. Environ.* 42, 1593–1606. doi:10.1016/j.atmosenv.2007.10.048
- Harper, G.J., 1961. Airborne micro-organisms: survival tests with four viruses. *J. Hyg. (Lond.)* 59, 479–86.
- Hryhorczuk, D., Curtis, L., Scheff, P., Chung, J., Rizzo, M., Lewis, C., Keys, N., Moomey, M., 2001. Bioaerosol emissions from a suburban yard waste composting facility. *Ann. Agric. Environ. Med. AAEM* 8, 177–185.
- Jensen, P.A., Todd, W.F., Davis, G.N., Scarpino, P.V., 1992. Evaluation of eight bioaerosol samplers challenged with aerosols of free bacteria. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 53, 660–667. doi:10.1080/15298669291360319
- Jones, A., 1999. Indoor air quality and health. *Atmos. Environ.* 33, 4535–4564. doi:10.1016/S1352-2310(99)00272-1
- Kalogerakis, N., Paschali, D., Lekaditis, V., Pantidou, A., Eleftheriadis, K., Lazaridis, M., 2005. Indoor air quality - bioaerosol measurements in domestic and office premises. *J. Aerosol Sci.* 36, 751–761. doi:10.1016/j.jaerosci.2005.02.004
- Kampa, M., Castanas, E., 2008. Human health effects of air pollution. *Environ. Pollut.* 151, 362–367. doi:10.1016/j.envpol.2007.06.012
- Kämpfer, P., Jureit, C., Albrecht, A., Neef, A., 2002. Immission of Microorganisms from Composting Facilities, in: *Microbiology of Composting*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 571–584. doi:10.1007/978-3-662-08724-4\_48

- Kerr, J.F., Wyllie, A.H., Currie, A.R., 1972. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* 26, 239–257.
- Kesson, A.M., 2007. Respiratory virus infections. *Paediatr. Respir. Rev.* 8, 240–248.  
doi:10.1016/j.prrv.2007.07.003
- King, A., Lefkowitz, E., Adams, M., Carstens, E., 2012. Family - Picornaviridae, in: *Virus Taxonomy*. Elsevier, San Diego, pp. 855–880. doi:10.1016/B978-0-12-384684-6.00074-4
- Klepeis, N.E., Nelson, W.C., Ott, W.R., Robinson, J.P., Tsang, A.M., Switzer, P., Behar, J.V., Hern, S.C., Engelmann, W.H., 2001. The National Human Activity Pattern Survey (NHAPS): a resource for assessing exposure to environmental pollutants. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 11, 231–252. doi:10.1038/sj.jea.7500165
- Koffi, J., 2009. Analyse multicritère des stratégies de ventilation en maisons individuelles (phdthesis). Université de La Rochelle.
- Kulkarni, P., Baron, P.A., Willeke, K., 2011. *Aerosol Measurement: Principles, Techniques, and Applications*. John Wiley & Sons.
- Lazaridis, M., Colbeck, I., 2013. Introduction, in: Colbeck, I., Lazaridis, M. (Eds.), *Aerosol Science*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 1–14. doi:10.1002/9781118682555.ch1
- Le coq, L., 2006. Élimination des particules. *Tech. Ing. Réf* : G1710 v1
- Legendre, M., Bartoli, J., Shmakova, L., Jeudy, S., Labadie, K., Adrait, A., Lescot, M., Poirot, O., Bertaux, L., Bruley, C., Couté, Y., Rivkina, E., Abergel, C., Claverie, J.-M., 2014. Thirty-thousand-year-old distant relative of giant icosahedral DNA viruses with a pandoravirus morphology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 4274–4279.  
doi:10.1073/pnas.1320670111
- Li, Y., Leung, G.M., Tang, J.W., Yang, X., Chao, C.Y.H., Lin, J.Z., Lu, J.W., Nielsen, P.V., Niu, J., Qian, H., Sleigh, A.C., Su, H.-J.J., Sundell, J., Wong, T.W., Yuen, P.L., 2007. Role of ventilation in airborne transmission of infectious agents in the built environment - a multidisciplinary systematic review. *Indoor Air* 17, 2–18.  
doi:10.1111/j.1600-0668.2006.00445.x
- Lin, X., A. Reponen, T., Willeke, K., Grinshpun, S.A., Foarde, K.K., Ensor, D.S., 1999. Long-term sampling of airborne bacteria and fungi into a non-evaporating liquid. *Atmos. Environ.* 33, 4291–4298. doi:10.1016/S1352-2310(99)00169-7
- Máca, V., Melichar, J., 2016. The Health Costs of Revised Coal Mining Limits in Northern Bohemia. *Energies* 9, 81. doi:10.3390/en9020081

- Mackay, I.M., Arden, K.E., Nitsche, A., 2002. Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Res.* 30, 1292–1305.
- Maroni, M., Seifert, B., Lindvall, T., 1995. *Indoor Air Quality: A Comprehensive Reference Book*. Elsevier.
- Mayer, H., 1999. Air pollution in cities. *Atmos. Environ.* 33, 4029–4037. doi:10.1016/S1352-2310(99)00144-2
- Miaśkiewicz-Peska, E., Łebkowska, M., 2011. Effect of Antimicrobial Air Filter Treatment on Bacterial Survival. *Fibres Text. East. Eur.* 73–77.
- Millner, P.D., Bassett, D.A., Marsh, P.B., 1980. Dispersal of *Aspergillus fumigatus* from Sewage Sludge Compost Piles Subjected to Mechanical Agitation in Open Air. *Appl. Environ. Microbiol.* 39, 1000–1009.
- Morawska, L., 2006. Droplet fate in indoor environments, or can we prevent the spread of infection? *Indoor Air* 16, 335–347. doi:10.1111/j.1600-0668.2006.00432.x
- Morisseau, K., Joubert, A., Le Coq, L., Andres, Y., 2017. Quantification of the fungal fraction released from various preloaded fibrous filters during a simulated ventilation restart. *Indoor Air* 27, 529–538. doi:10.1111/ina.12330
- Musher, D.M., 2003. How contagious are common respiratory tract infections? *N. Engl. J. Med.* 348, 1256–1266. doi:10.1056/NEJMra021771
- Myatt, T.A., Johnston, S.L., Zuo, Z., Wand, M., Kebabze, T., Rudnick, S., Milton, D.K., 2004. Detection of airborne rhinovirus and its relation to outdoor air supply in office environments. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 169, 1187–1190. doi:10.1164/rccm.200306-760OC
- Myatt, T.A., Johnston, S.L., Zuo, Z.F., Wand, M., Kebabze, T., Rudnick, S., Milton, D.K., 2004. Detection of airborne rhinovirus and its relation to outdoor air supply in office environments. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 169, 1187–1190. doi:10.1164/rccm.200306-760OC
- Omron NE-C29-E Manuals [WWW Document], n.d. URL <https://www.manualslib.com/products/Omron-Ne-C29-E-3572033.html> (accessed 7.19.17).
- Palmenberg, A.C., Osorio, J.E., 1994. Cardiovirial poly(C) tracts and viral pathogenesis. *Arch. Virol. Suppl.* 9, 67–77.
- Pascal, M., Corso, M., Chanel, O., Declercq, C., Badaloni, C., Cesaroni, G., Henschel, S., Meister, K., Haluza, D., Martin-Olmedo, P., Medina, S., Grp, A., 2013. Assessing the public health impacts of urban air pollution in 25 European cities: Results of the

- Aphekom project. *Sci. TOTAL Environ.* 449, 390–400.  
doi:10.1016/j.scitotenv.2013.01.077
- Pirtle, E.C., Beran, G.W., 1991. Virus survival in the environment. *Rev. Sci. Tech. Int. Off. Epizoot.* 10, 733–748.
- Pope, C.A., Dockery, D.W., 2006. Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 1995 56, 709–742.
- Prussin, A.J., Vikram, A., Bibby, K.J., Marr, L.C., 2016. Seasonal Dynamics of the Airborne Bacterial Community and Selected Viruses in a Children’s Daycare Center. *PloS One* 11, e0151004. doi:10.1371/journal.pone.0151004
- Pyankov, O.V., Pyankova, O.G., Agranovski, I.E., 2012. Inactivation of airborne influenza virus in the ambient air. *J. Aerosol Sci.* 53, 21–28. doi:10.1016/j.jaerosci.2012.05.011
- Rafenberg, C., 2015. Estimation des coûts pour le système de soin français de cinq maladies respiratoires et des hospitalisations attribuables à la pollution de l’air. *Environnement risques & santé*, vol. 14 n° 2, 2015-03, pp. 135-150
- Raghavachari, R., 2000. *Near-Infrared Applications in Biotechnology*. CRC Press.
- Rengasamy, A., Zhuang, Z.P., BerryAnn, M.S., 2004. Respiratory protection against bioaerosols: Literature review and research needs. *Am. J. Infect. Control* 32, 345–354. doi:10.1016/j.ajic.2004.04.199
- Renoux, A., 2003. *Physique des aérosols - partie2*. Tech. Ing. Réf : AF3613 v1
- Rosenthal, L.A., Amineva, S.P., Szakaly, R.J., Lemanske, R.F., Gern, J.E., Sorkness, R.L., 2009. A rat model of picornavirus-induced airway infection and inflammation. *Virol. J.* 6, 122. doi:10.1186/1743-422X-6-122
- Russell, M., Sherman, M., Rudd, A., 2007. Review of Residential Ventilation Technologies. *HVACR Res.* 13, 325–348. doi:10.1080/10789669.2007.10390957
- Ryckeboer, J., Mergaert, J., Vaes, K., Klammer, S., Clercq, D., Coosemans, J., Insam, H., Swings, J., 2003. A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes.
- Sagripanti, J.-L., Lytle, C.D., 2007. Inactivation of influenza virus by solar radiation. *Photochem. Photobiol.* 83, 1278–1282. doi:10.1111/j.1751-1097.2007.00177.x
- Schaffer, F., Soergel, M., Straube, D., 1976. Survival of Airborne Influenza-Virus - Effects of Propagating Host, Relative Humidity, and Composition of Spray Fluids. *Arch. Virol.* 51, 263–273. doi:10.1007/BF01317930
- Segondy, 2007. *Infections virales: Grands syndromes et virus responsable*.
- Siegel, J.M., 2003. Why we sleep. *Sci. Am.* 289, 92–97.

- Sivropoulou, afroditi, constantina Nikolaou, Eleni Oaoanikolaou, Stella Kokkini, Thomas Lanaras, Minas Arsenakis, 1997. Antimicrobial, Cytotoxic, and Antiviral Activities of *Salvia fruticosa* Essential Oil. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, 45 (8), pp 3197–3201 DOI: 10.1021/jf970031m
- Songer, J.R., 1967. Influence of relative humidity on the survival of some airborne viruses. *Appl. Microbiol.* 15, 35–42.
- Srikanth, P., Sudharsanam, S., Steinberg, R., 2008. Bio-aerosols in indoor environment: Composition, health effects and analysis. *Indian J. Med. Microbiol.* 26, 302. doi:10.4103/0255-0857.43555
- Stohl, A., 2004. *Intercontinental Transport of Air Pollution*. Springer Science & Business Media.
- Suwantarat, N., Apisarntharak, A., 2015. Risks to healthcare workers with emerging diseases: lessons from MERS-CoV, Ebola, SARS, and avian flu. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 28, 349–361. doi:10.1097/QCO.0000000000000183
- Swan, J.R.M., 2003. Occupational and environmental exposure to bioaerosols from composts and potential health effects A critical review of published data
- Tang, J.W., Li, Y., Eames, I., Chan, P.K.S., Ridgway, G.L., 2006. Factors involved in the aerosol transmission of infection and control of ventilation in healthcare premises. *J. Hosp. Infect.* 64, 100–114. doi:10.1016/j.jhin.2006.05.022
- The Lancet, 2013. Air pollution: Europe’s avoidable health risk. *LANCET* 381, 876.
- Thomas, Y., Vogel, G., Wunderli, W., Suter, P., Witschi, M., Koch, D., Tapparel, C., Kaiser, L., 2008. Survival of Influenza Virus on Banknotes. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 3002–3007. doi:10.1128/AEM.00076-08
- Tischer, I., Miels, W., Wolff, D., Vagt, M., Griem, W., 1986. Studies on Epidemiology and Pathogenicity of Porcine Circovirus. *Arch. Virol.* 91, 271–276. doi:10.1007/BF01314286
- Treanor, J., Falsey, A., 1999. Respiratory viral infections in the elderly. *Antiviral Res.* 44, 79–102. doi:10.1016/S0166-3542(99)00062-5
- Turcotte, M., 2005. Time spent with family during a typical workday, 1986 to 2005. *Can. Soc. Trends.*
- Vasickova, P., Kovarcik, K., 2013. 9 - Natural persistence of food- and waterborne viruses, in: Cook, N. (Ed.), *Viruses in Food and Water*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing, pp. 179–204. doi:10.1533/9780857098870.3.179

- Vasickova, P., Pavlik, I., Verani, M., Carducci, A., 2010. Issues Concerning Survival of Viruses on Surfaces. *Food Environ. Virol.* 2, 24–34. doi:10.1007/s12560-010-9025-6
- Verdenelli, M.C., Cecchini, C., Orpianesi, C., Dadea, G.M., Cresci, A., 2003. Efficacy of antimicrobial filter treatments on microbial colonization of air panel filters. *J. Appl. Microbiol.* 94, 9–15.
- Weber, T.P., Stilianakis, N.I., 2008. Inactivation of influenza A viruses in the environment and modes of transmission: a critical review. *J. Infect.* 57, 361–373. doi:10.1016/j.jinf.2008.08.013
- WHO, 2016. WHO | Ambient (outdoor) air quality and health [WWW Document]. WHO. URL <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs313/en/> (accessed 10.4.16).
- Winn, W.C., 1996. Legionella, in: Baron, S. (Ed.), *Medical Microbiology*. University of Texas Medical Branch at Galveston, Galveston (TX).
- Woo, C.G., Kang, J.-S., Kim, H.-J., Kim, Y.-J., Han, B., 2015. Treatment of Air Filters Using the Antimicrobial Natural Products Propolis and Grapefruit Seed Extract for Deactivation of Bioaerosols. *Aerosol Sci. Technol.* 49, 611–619. doi:10.1080/02786826.2015.1054983
- Wu, S., Patel, K.B., Booth, L.J., Metcalf, J.P., Lin, H.-K., Wu, W., 2010. Protective essential oil attenuates influenza virus infection: an in vitro study in MDCK cells. *BMC Complement. Altern. Med.* 10, 69. doi:10.1186/1472-6882-10-69
- Zhang, L., 2010. Intercontinental transport of air pollution. *Front. Environ. Sci. Eng. China* 4, 20–29. doi:10.1007/s11783-010-0014-7
- Zheng, Y., Yao, M., 2017. Liquid impinger BioSampler's performance for size-resolved viable bioaerosol particles. *J. Aerosol Sci.* 106, 34–42. doi:10.1016/j.jaerosci.2017.01.003





# Thèse de Doctorat

## Victor Bandaly

**Etude de la persistance de virus sur les filtres des centrales de traitement d'air: influence des paramètres de procédé et impact sur la santé**  
**Study of the fate of viruses on the filters of the air handling unit: influence of the process parameters and impact on health**

---

### Résumé

La pollution de l'air est l'un des principaux problèmes de santé publique de notre siècle et surtout de l'air intérieur alors que nous passons environ 90% de notre temps dans des environnements fermés. Parmi les polluants les bioaérosols ont été peu étudiés. Cependant des études épidémiologiques ont déjà montré une relation entre les bioaérosols et la santé. Le but de cette thèse est d'étudier les virus respiratoires dans les milieux clos via les systèmes de ventilation. A l'issue d'un état de l'art des polluants de l'air, il est important de définir ceux nécessitant d'être traités, les systèmes de ventilation, les procédés de filtration par médias fibreux et les procédés de traitement pouvant être mis en œuvre. Les effets des bioaérosols viraux dans les environnements intérieurs sur la santé publique ont été discutés dans une revue bibliographique. Une méthodologie a été mise en œuvre pour étudier le comportement des virus dans une centrale de traitement de l'air (CTA). Les virus respiratoires, mengovirus (virus nu à ARN de la même famille que les rhinovirus responsables du rhume) et adénovirus (virus respiratoire nu à ADN), ont été choisis et étudiés dans un système expérimental miniature représentatif des systèmes de traitement d'air. La performance de filtration d'un filtre de CTA vis-à-vis des aérosols viraux a été évaluée avec une validation du système expérimental utilisé. Cette étude a montré la capacité des virus de passer à travers le filtre tout en restant infectieux. Peu de littérature existant sur le sujet, ce projet a permis d'ajouter de nouvelles données pertinentes quant à la persistance des virus respiratoires dans l'air intérieur et plus précisément au niveau des filtres dans les centrales de traitement d'air.

**Mots clés :** *Qualité de l'air intérieur, bioaérosols, filtre en fibre de verre - F7, CTA, mengovirus, adénovirus, caractérisation des aérosols viraux*

### Abstract

Air pollution is one of the major public health problems of our century and especially of indoor air as we spend about 90% of our time in closed environments. Among pollutants bioaerosols have been poorly studied. However, epidemiological studies have already shown a relationship between bioaerosols and human health. The aim of this PhD work is to learn about respiratory viruses in closed environments via ventilation systems in order to study indoor air quality. At the end of state of the art of air pollutants, it is important to define those present in the air that need to be treated, ventilation systems, filtration processes by fibrous media and the processing methods being able to be implemented. The effects of viral bioaerosols on public health in indoor environments were discussed and drafted in a bibliographic review. The methodology of the study was to assess the fate of respiratory viruses, mengoviruses and adenoviruses, in a miniature experimental system similar to air treatment systems used in closed environments. The experimental system used was validated and the filter performance against viral aerosols was investigated. This study presented originality for the characterization and the fate of two non-enveloped respiratory viruses, mengovirus (RNA) and adenovirus (DNA), in indoor environments and their fate on fiber glass filter. This study showed the ability of viruses to pass through the filter and to remain infectious upstream and downstream the filter. There is scarce literature on this subject, and this project allowed us to add new relevant data on the persistence of respiratory viruses in indoor air and more precisely at the level of filters in air handling units.

**Key words:** *Indoor air quality, bioaerosols, Fiberglass filter, air handling unit, mengovirus, adenovirus, characterization of viral aerosols*