

ESTBB

Faculté des Sciences
Université Catholique de Lyon
25 rue du Plat
69002 LYON

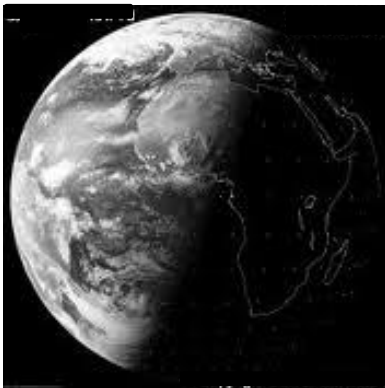
R.N.S.A.

11 Chemin de la Creuzille
Le Plat du Pin
69690 BRUSSIEU

Rapport de Mission d'Alternance

JEAN Andrzej

Etude du rythme nycthéméral de la production des principaux pollens allergisants



Maître d'apprentissage : Charlotte SINDT

Tutrice école : Sabine BOUDE

Mission d'Alternance du 10 Septembre 2012 au 13 Septembre 2013.

REMERCIEMENTS

Je tiens à présenter mes remerciements à Mr Michel THIBAUDON, Directeur du Réseau National de Surveillance Aérobiologique (R.N.S.A.), pour m'avoir permis d'intégrer cette association rapidement afin de réaliser mon année d'alternance à l'ESTBB. Et plus spécialement, de m'avoir guidé et aidé aux travers des résultats et interprétations qui découlent de ce sujet d'étude complexe.

Un merci tout particulier à ma maîtresse d'alternance, Sabine BOUDE, pour avoir pris de son temps et surtout de la patience lors de mes corrections demandées par l'université, ainsi que de mes diverses questions au sujet de l'organisation de la rédaction de ce rapport.

Je souhaite également montrer ma gratitude envers Charlotte SINDT, mon maîtresse d'apprentissage, qui m'a permis d'acquérir des connaissances approfondies sur les pollens lors de ma formation initiale, aussi bien théoriques que pratiques grâce au microscope optique. Elle m'a permis de développer mon autonomie, nettement plus marquée par rapport à mes stages antérieurs, ma polyvalence et ma prise d'initiative.

Je voudrais également adresser un grand merci à Nadine DUPUY et Jean-Pierre BESANCENOT pour leurs avis et leurs conseils sur les différents problèmes d'interprétations et de résultats inattendus. Ils m'ont été très utiles et précieux.

Je voudrais remercier « particulièrement » les personnes travaillant au sein du R.N.S.A. : Solène POILANE, Isabelle CHARMET, Estelle TISSOT, Jennifer CHARBONNIER, Julie NAGY, Rebecca BILON, Gilles OLIVER ET Samuel MONNIER. J'ai beaucoup apprécié leur sympathie, leur dynamisme et leur bonne humeur. J'appuierais aussi sur une convivialité toujours à l'ordre du jour.

Enfin merci à ma mère, mon conjoint Damien FREYSSINET et à l'ensemble du personnel du R.N.S.A. pour la relecture et les corrections apportées à ce rapport de mission. Un grand merci pour le temps que vous avez pris afin de m'aider à rendre un rapport correct.

SOMMAIRE

Remerciements

Sommaire

Glossaire 1

Introduction 2

Présentation du R.N.S.A 4

Missions 6

1 Etude du contenu de l'air atmosphérique en pollen..... 6

1.1 Formation initiale pollinique..... 6

1.2 Préparation de milieux 8

1.2.1 Milieu d'enduction 8

1.2.2 Milieu de montage..... 9

1.3 Préparation du matériel pour la collecte des pollens..... 9

1.3.1 Tambours 9

1.3.2 Bandes pré-enduites..... 10

1.4 Préparation des lames de lectures..... 10

1.5 Analyses polliniques 11

1.6 Bulletins polliniques de Paris et de Lyon 12

1.7 Cartes de vigilances des pollens de France..... 12

1.8 Cartes de France d'index clinique 13

2 Etude du rythme nyctéméral de la production des principaux pollens allergisants..... 15

2.1 Présentation de l'étude..... 15

2.2 Matériels et Méthodes 16

2.2.1 Choix des données sélectionnées 16

2.2.2 Extraction des données polliniques 17

2.2.3 Affinage des paramètres 19

2.2.4 Détermination du rythme nyctéméral des pollens utilisés 19

2.3 Résultats..... 20

2.3.1 Détermination du rythme nyctéméral des pollens utilisés 20

2.3.1.1 Les Cupressacées-Taxacées..... 20

2.3.1.2 Le Bouleau 21

2.3.1.3 Les Poacées 21

2.3.1.4 L'Ambroisie 22

2.4 Discussion..... 22

Compétences mises en œuvres 25

1 Organisation 25

2 Entretien et gestion des matériaux et équipements 25

3 Communication 26

4 Exécution des préparations et des analyses 26

5 Information et traitement de l'information 27

6 Apprentissage 27

Conclusion Générale 28

Bibliographie 30

Annexes

GLOSSAIRE

- A** **Angiosperme** : Végétaux dont les organes reproducteurs sont condensés en une fleur et donnent les graines fécondées enfermées dans un fruit.
- Anthères** : Partie terminale de l'étamine, l'organe mâle de la fleur, qui produit et renferme le pollen.
- Aperture** : Ouverture dans les couches internes et externes de l'exine
- Asthme** : Maladie inflammatoire chronique des bronches qui associe une hyper-réactivité des bronches, une inflammation locale ainsi qu'un épaissement des parois bronchiques accompagnés de la formation de mucus et d'une diminution du diamètre des bronches.
- C** **Conjonctive** : Membrane muqueuse transparente présente à l'intérieur des paupières et du blanc de l'œil.
- Conjonctivite allergique** : Inflammation de la conjonctive provoquée par une allergie.
- E** **Ectexine** : Couche externe sculptée ou lisse de l'exine. Elle permet l'identification des genres et espèces végétales grâce à ses différentes formes possibles (ornementations).
- Endexine** : Couche interne non sculptée de l'exine.
- Exine** : Enveloppe externe du grain de pollen très résistante, disposée en bicouche et caractérisée par son ornementation ainsi que la position des apertures. Elle assure la résistance à la plupart des dégradations chimiques et biologiques.
- G** **Gymnospermes** : Conifères ou plantes à graine dont le gamète femelle est à nu et est porté sur un cône.
- I** **Index clinique** : Calcul réalisé à partir de la gravité des symptômes constatés par les médecins chez leurs patients.
- Intine** : Fine enveloppe interne du grain de pollen composée de cellulose et de pectines.
- P** **Palynologie** : Etude des grains de pollen et spores de moisissures.
- Pollinisation anémophile** : Fécondation de la plante lorsqu'elle est réalisée par une dispersion des grains de pollen par le vent.
- Pollinisation** : Transport de grains de pollen de l'étamine au stigmate.
- Pollinose** : Allergie causée par le pollen de certains arbres et herbacées.
- Pistil** : Organe femelle de la fleur formé de l'ovaire, d'ovules, du style et du stigmate.
- R** **Rhinite allergique** : Irritation et inflammation aiguë ou chronique des muqueuses de la cavité nasale.
- S** **Sac embryonnaire ou Ovule (botanique)** : Cellule contenant les gamètes femelles de la plante.
- Stigmate** : Partie du pistil qui reçoit le pollen.
- Style** : Partie du pistil qui surmonte l'ovaire et portant le stigmate à son sommet.
- T** **Taxon** : Groupe d'organismes vivants qui ont certains caractères communs.
- Tube pollinique** : Tube émis par le grain de pollen après germination, lui permettant de conduire les gamètes mâles jusqu'aux gamètes femelles.

INTRODUCTION

Lors de la fécondation chez les végétaux, les grains de pollens provenant des **anthères** de la fleur sont déposés sur le **stigmate** de cette même fleur ou d'une fleur appartenant à une autre espèce. Après hydratation, le grain de pollen développe un **tube pollinique** sortant à travers l'un de ces orifices et pousse à l'intérieur du **style** permettant aux gamètes mâles d'entrer dans le **sac embryonnaire** de l'ovule. Ces grains de pollen, dont le diamètre est de l'ordre du micromètre, sont alors facilement transportés pour commencer la **pollinisation** par le biais d'un vecteur intermédiaire tel que le vent et les animaux. Seulement 10% des espèces végétales (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Pollinisation>) utilisent une pollinisation par le vent, dite **anémophile**. Parmi elles, la plupart des **Gymnospermes** et des **Angiospermes** sont représentés (**Figure 1**).

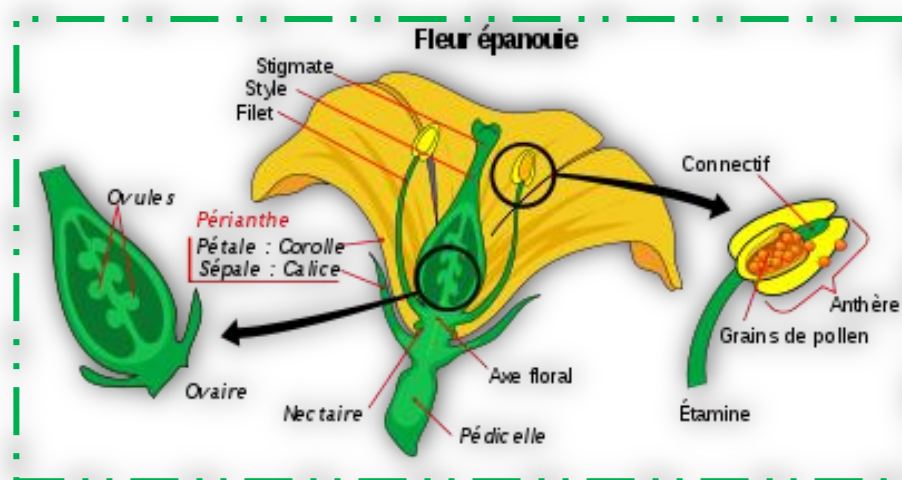


Figure 1 - Organisation d'une fleur (Source Blog de M. Colin)

La présence de grains de pollen dans l'atmosphère est un phénomène naturel. Cependant, pour beaucoup de personnes, les beaux jours ne sont pas toujours associés à la bonne humeur. En effet, les grains de pollen peuvent provoquer certains effets secondaires chez les personnes sensibles. Ce type de population est alors dite allergique. A l'échelle de la France, plus de 25 % des français souffrent d'allergies respiratoires ou de **pollinoses** (<http://sante-medecine.commentcamarche.net/contents/23-allergie-aux-pollens>). Les mauvaises conditions météorologiques qu'il y a eu cet hiver (2012) ont engendré un printemps 2013 très rude. Le retard de pollinisation de quelques plantes a complètement retardé les saisons polliniques et le retour du soleil a engendré une « véritable explosion » provenant de différents types de pollens, qu'ils soient allergisants ou inoffensifs. Pour cette année 2013, les pollens suscitent beaucoup plus d'intérêt et posent un réel problème de santé que ce soit en zone urbaine ou en zone rurale.

Les pollinoses sont responsables de plusieurs symptômes causant des pathologies à différents degrés de gravité. Ces pathologies peuvent être des plus bénignes tels que les **rhinites allergiques** ou encore les **conjonctivites allergiques**, mais aussi des plus graves comme l'**asthme**. Par l'ampleur des risques encourus liés aux pollinoses, un réseau en France ainsi que plusieurs autres centres dans les pays d'Europe ont vu le jour. Ces différents centres travaillent sur une étude approfondie du contenu de l'air atmosphérique afin d'informer la population des pollens allergisants présents dans l'air ainsi que de les prévenir des risques et des conséquences de leurs expositions aux pollens.

Le centre de coordination et de formation situé en France, est connu sous le nom « R.N.S.A. » : Réseau National de Surveillance Aérobiologique. Cette association de loi 1901 a été créée en 1996 à Saint Clément les Places, dans les Monts du Lyonnais, dans le but de poursuivre les travaux réalisés depuis 1985 par le Laboratoire d'Aérobiologie de l'Institut Pasteur à Paris. Ce réseau fonctionne principalement sur l'installation de sites possédant un capteur pollinique permettant de récupérer les pollens et les moisissures. C'est en 1987, que les premiers capteurs ont été placés à Amiens, Lyon, Marseille et Paris. Aujourd'hui, le R.N.S.A. compte 75 capteurs implantés dans des régions ayant des climats très différents sur tout le pays pour favoriser une analyse optimale.

Depuis 2010, le R.N.S.A. a transféré son centre de coordination et son centre de formation à Brussieu, situé dans les Monts du Lyonnais, à 40 km du centre de Lyon (69) (Figure 2).



Figure 2 - R.N.S.A., centre de coordination et de formation, Brussieu (69) (Source R.N.S.A.)

Les différentes missions attribuées pendant mon alternance de troisième année à l'ESTBB (Ecole Supérieure en Biologie, Biochimie et Biotechnologie) ont été, tout d'abord, de participer à l'étude du contenu de l'air en particules biologiques, principalement sur le pollen. Mais également d'entreprendre une étude scientifique portant sur le rythme nyctéméral de la production des principaux pollens allergisants.

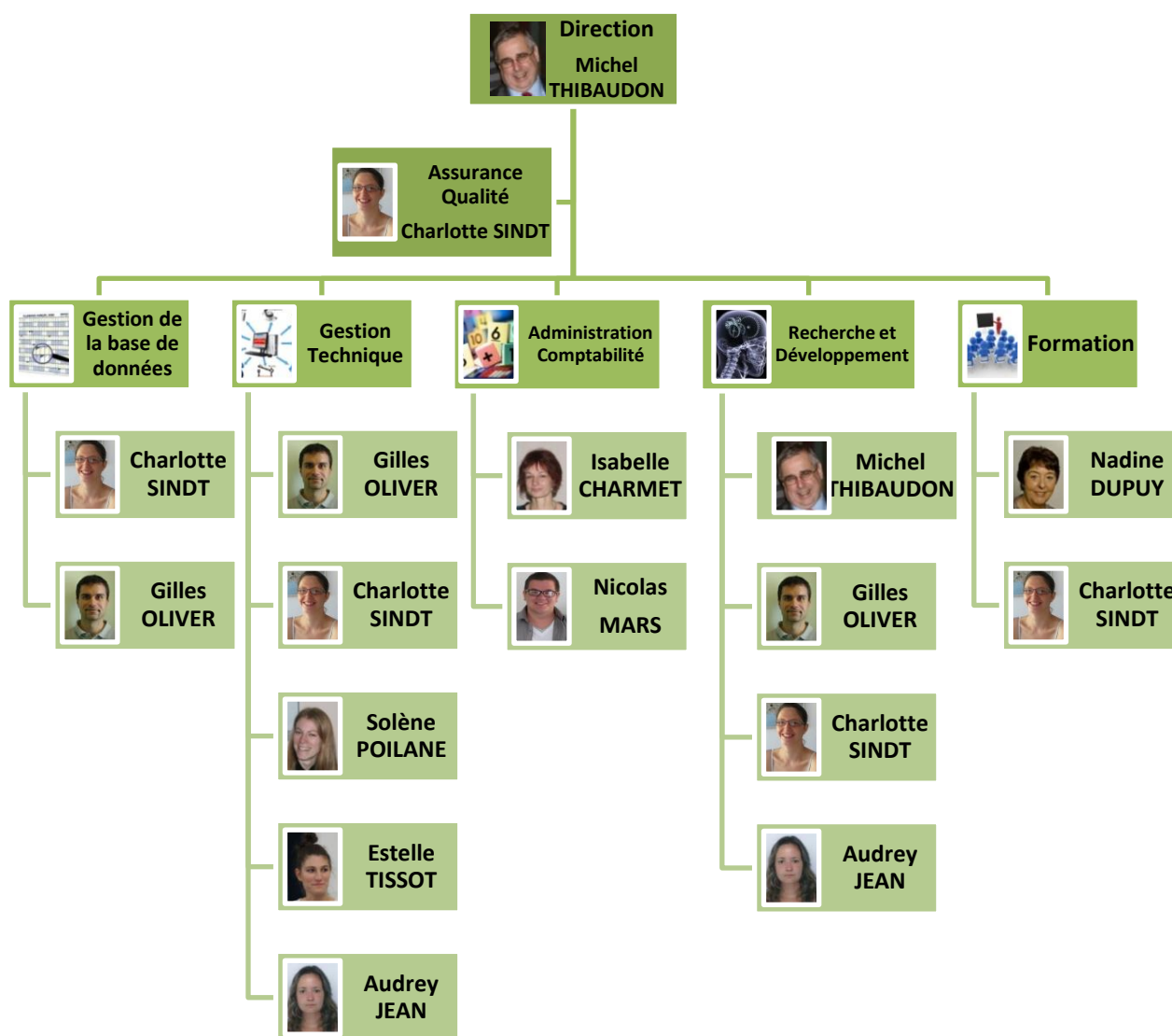
Cette étude a germé dans l'esprit du directeur du R.N.S.A. ainsi que dans celles des analystes car le nombre d'allergiques n'a cessé d'augmenter pour tous âges confondus et les saisons polliniques sont de plus en plus fortes. La quantité de pollens retrouvée dans l'air est très importante pour les personnes sensibles. Par exemple, seulement 5 grains de pollens d'ambrosie/m³ d'air respiré/jour permettent de ressentir les premiers symptômes de l'allergie.

En effet, plusieurs scientifiques ont démontré que la production de pollens dépend essentiellement des conditions météorologiques. Suivant certains paramètres météorologiques, l'organisme de la plante se met à polliniser ou non. De plus, le phénomène du réchauffement climatique modifie considérablement la situation. Beaucoup d'experts affirment que les hivers sont de plus en plus doux et les étés de plus en plus chauds. Ceci favorise clairement des saisons polliniques différentes, plus longues et plus intenses. Pour les allergiques, il est utile de connaître les périodes où la pollinisation est plus forte dans la journée afin de pouvoir organiser au mieux leur emploi du temps. Ce qui signifie que l'on retrouve très souvent une concentration élevée, en grains de pollens, à un moment de la journée et, où le seuil de concentration est responsable de l'apparition des symptômes allergiques. Le plus contraignant étant que le seuil est variable d'un taxon pollinique à l'autre.

Ce rapport de mission fera appel dans une première partie à l'organisation et au fonctionnement du réseau. Dans une seconde partie, la mission principale sur l'étude du rythme nyctéméral des principaux pollens allergisants ainsi que les missions secondaires seront présentées, incluant les compétences mise en œuvre et les compétences transversales acquises pour chacune des missions confiées. En finalité, une conclusion générale sera lancée sur mon avis personnel de cette année d'alternance, un résumé des résultats obtenus et un tableau récapitulatif des compétences utilisées.

PRESENTATION DU R.N.S.A

L'association est dirigée depuis sa création (1996) par Michel THIBAUDON qui en a assumé la présidence jusqu'en 2008. Puis, Gérard SULMONT a été élu président de l'association comme successeur. En tant que président retraité, Gérard SULMONT lègue la plupart des responsabilités au directeur du R.N.S.A. Michel THIBAUDON. Aujourd'hui, le R.N.S.A. ne compte pas moins de 12 personnes travaillant dans ses locaux. Parmi eux, il y a 7 salariés, 2 alternantes, 2 stagiaires et un contrat avenir (**Organigramme 1**). Le R.N.S.A. est en partenariat avec plusieurs universités, ce qui lui permet un renouvellement annuel de jeunes étudiants.



Organigramme 1 - Organisation du R.N.S.A. (Source R.N.S.A.)

Le R.N.S.A. fonctionne grâce à un Conseil d'Administration composé de douze membres dont des cliniciens, des analystes et des membres fonctionnels et d'un Conseil Scientifique composé de vingt-trois membres nommés par la Direction Générale de la Santé, l'Institut de Veille Sanitaire, le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique, ainsi que des spécialistes en allergologie, en **palynologie** et en analyses biologiques. Actuellement, le R.N.S.A. peut compter 75 capteurs environ, 30 centres d'analyses et plus de 100 médecins sentinelles (allergologues)

La vocation du R.N.S.A est l'étude du contenu de l'air en particules biologiques pouvant avoir une incidence sur le risque allergique pour la population, le recueil des données cliniques associés et l'information sur le risque allergique.

L'**Organigramme 1** montre bien les 6 secteurs d'activités distincts les uns des autres au sein du R.N.S.A.

L'**ASSURANCE QUALITE** gère tous les dysfonctionnements observés et écrits afin de garder un réseau en perpétuel fonctionnement et une bonne qualité des données collectées. Un contrôle qualité a été mise en place visant à examiner régulièrement la qualité du travail des analystes ainsi que du fonctionnement du réseau. Des procédures sont également rédigées afin d'obtenir une explication détaillée dans les manipulations quotidiennes liées à la récolte des pollens et des moisissures.

La **GESTION DE LA BASE DE DONNEES** est gérée dans le but d'enregistrer, conserver et classer la totalité des données polliniques, des données cliniques et des données phénologiques reçues chaque semaine depuis les différents centres. Toutes les informations issues du R.N.S.A. sont retransmises aux villes, aux médias, aux services du Ministère de la Santé, et à tous les partenaires du R.N.S.A. Les bulletins polliniques sont également mis en ligne, sur le site internet www.pollens.fr, permettant ainsi de prévenir la population. Ce site internet est mis à jour tous les vendredis (bulletin allergo-pollinique, carte de vigilance, etc.).

La **GESTION TECHNIQUE ET GESTION DU RESEAU** regroupe toute la maintenance et les analystes. C'est ici que l'on retrouve la maintenance des capteurs sur le territoire, ainsi que la gestion des réactifs (milieu de montage non coloré, faiblement coloré et coloré, milieu d'enduction) en terme de production et d'envoi aux différents sites. Chaque semaine, pour certains sites, des tambours préparés sont envoyés pour une nouvelle semaine de fonctionnement. Les analystes procèdent par la suite à l'identification des pollens.

L'**ADMINISTRATION ET LA COMPTABILITE** permet de gérer les appels téléphoniques, les courriers, la gestion du personnel et les documents administratif, mais aussi d'assurer la comptabilité du R.N.S.A.

La **RECHERCHE ET LE DEVELOPPEMENT** fonctionne grâce aux données du réseau permettant d'entreprendre de nombreuses études scientifiques. Chaque année, en hiver, le R.N.S.A. organise les Journées d'Etudes Scientifiques (JES) ayant pour objectif la présentation des différentes études scientifiques effectuées au cours de l'année des différents centres du réseau. Le R.N.S.A. participe à plusieurs études françaises et/ou européennes.

La **FORMATION** est un secteur indispensable pour l'association. Il comprend l'apprentissage par une formation dite « initiale » pour tous les nouveaux analystes, mais assure aussi l'apprentissage par une formation dite « complémentaire » qui suit la formation initiale à une année d'intervalle. Il est recommandé de suivre la formation complémentaire chaque année. Cette dernière est également suivie si la note du contrôle qualité annuel est inférieure à 24/30.

MISSIONS

Au cours de mon passage au R.N.S.A., plusieurs missions quotidiennes sur l'étude du contenu de l'air en pollen m'ont été demandées. Parallèlement, une étude scientifique sur le rythme nyctéméral de la production des principaux pollens allergisants a été effectuée.

1 Etude du contenu de l'air atmosphérique en pollen

Cette étude est basée sur la récolte de pollens à l'aide de capteurs volumétriques de type HIRST (Hirst, 1952) disséminés sur toute la France. Ce type de capteur a la caractéristique d'aspirer un volume d'air égal à une respiration humaine, qui est de l'ordre de 10 L d'air/min (**Figure 3**). Cet appareil permet aussi une identification aisée des grains de pollen, rapide et précise. En plus d'un matériel adapté, une suite de manipulations sont mises en pratique afin d'avoir recours aux connaissances acquises lors de la formation initiale pour la reconnaissance des pollens (Frenguelli, 2003) via un microscope optique.

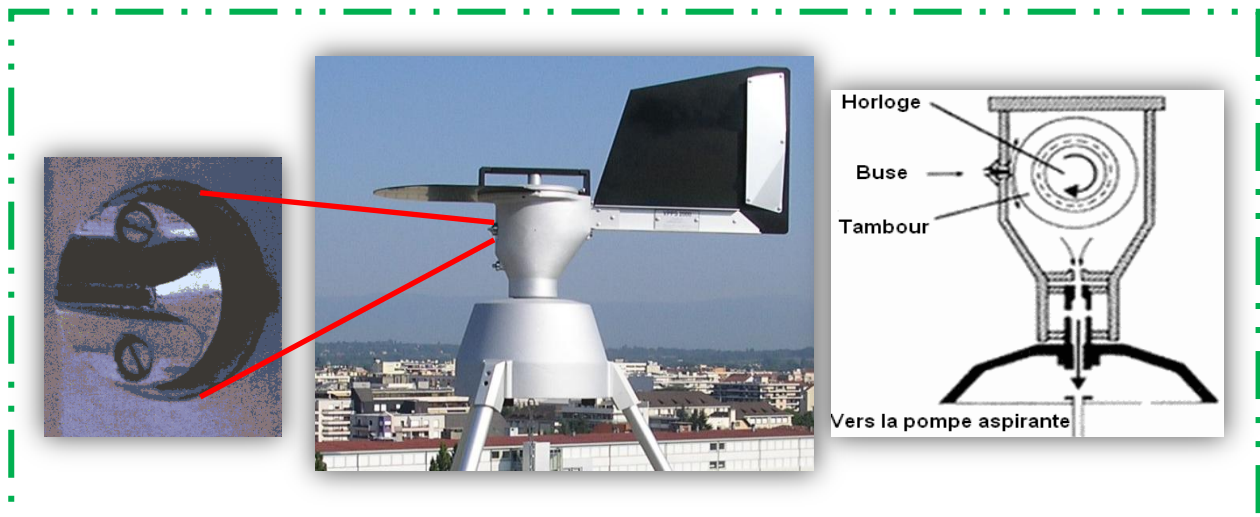


Figure 3 - Capteur pollinique de type HIRST (Source R.N.S.A.)

Toutes les semaines, selon les jours, le R.N.S.A. reçoit des tambours (cylindre contenant les pollens) pour quantifier et analyser le contenu pollinique de l'air (suivant les critères de la norme ISO 9001). Les analystes doivent alors suivre une démarche de procédures ordonnées pour arriver à obtenir un bulletin pollinique pour chacun des sites reçus. Les conditions de sécurité au sein du R.N.S.A. laboratoire sont très strictes. Avant chaque entrée dans le laboratoire, il faut être vêtu d'une blouse et d'une charlotte. Et lors des manipulations sous hotte aspirante, une paire de gants et un masque de protection doivent être portés.

1.1 Formation initiale pollinique

Suivant les espèces végétales, chaque grain de pollen est spécifique de la plante auquel il appartient. En effet, lors de l'observation microscopique de ces grains de pollens, il est possible de reconnaître un **taxon** suivant certaines caractéristiques.

Depuis le commencement de la palynologie, en 1940, certains critères de différenciations en sont ressortis : la taille, la morphologie, l'ornementation de l'**exine** et la disposition des **apertures**.

Le grain de pollen mature est constitué d'une cellule bi-nucléaire enveloppée par plusieurs couches formant la paroi. La couche extérieure composée de sporopollenine appelée « exine » est divisée en une couche extérieure sculptée « l'**ectexine** » et une couche intérieure non sculptée « l'**endexine** ». La couche intérieure de la paroi composée de cellulose et de pectines, est nommée « **intine** » (Figure 4).

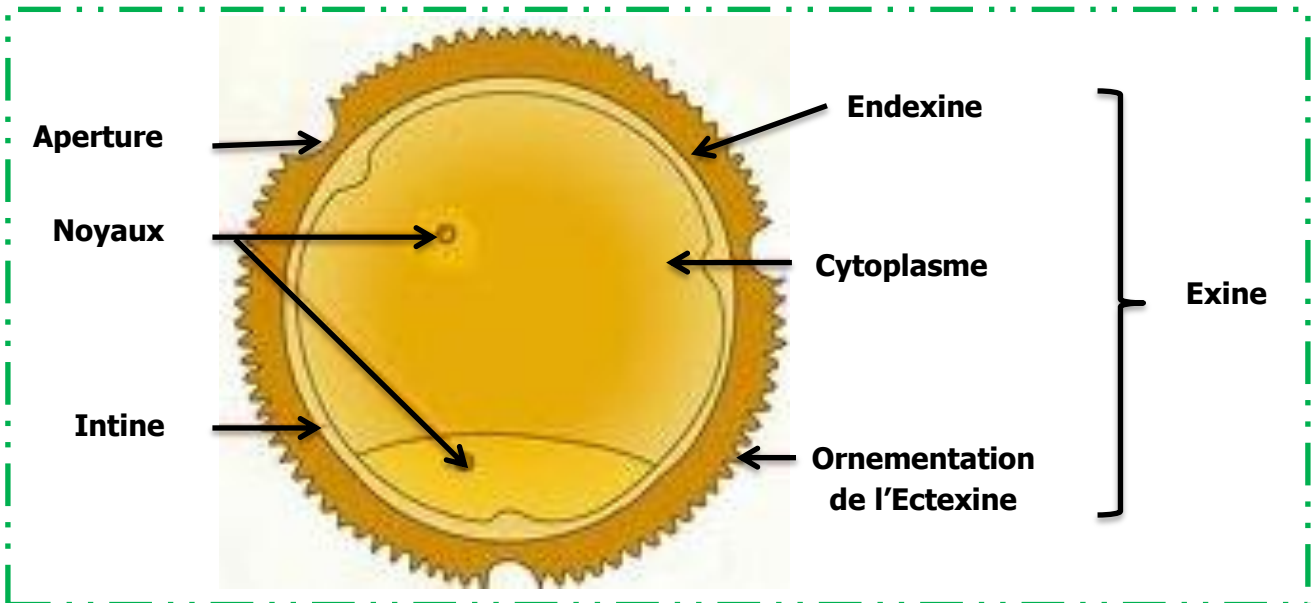


Figure 4 - Structure du grain de pollen (Source Infovisual.info)

Pendant la formation, un poster correspondant à une clé de détermination des pollens a été mis à disposition (Annexe 1). Dans les 150 types de pollens à reconnaître, une méthodologie a été alors enseignée auprès de chaque analyste.

Différentes étapes se succèdent afin d'identifier les pollens :

❖ L'observation de la présence ou non d'apertures :

Dans les cas où le pollen en possède, il est impératif de constater leur nombre ainsi que leur type. Deux types de formes d'apertures se distinguent : les pores et les colpi (aussi appelés sillons). Parmi ces deux catégories, on trouve des sous catégories par rapport aux nombres d'apertures indiqués par le mot mono-, bi-, tri-, stéphano- ou encore péri-.

❖ La taille et la forme :

Les tailles des pollens aéroportés peuvent varier du « *petit grain* » à partir d'un diamètre de 10 µm jusqu'au « *grand grain* » de pollen, dont le diamètre ne dépasse pas plus de 80 – 85 µm.

❖ La sculpture de l'exine :

Parmi les sculptures possibles de l'ectexine, il y a plusieurs variétés de formes d'ornementations, tels que : lisse, présence de verrues, gemmules, bacculles, clavules ou encore échinules (Figure 5).

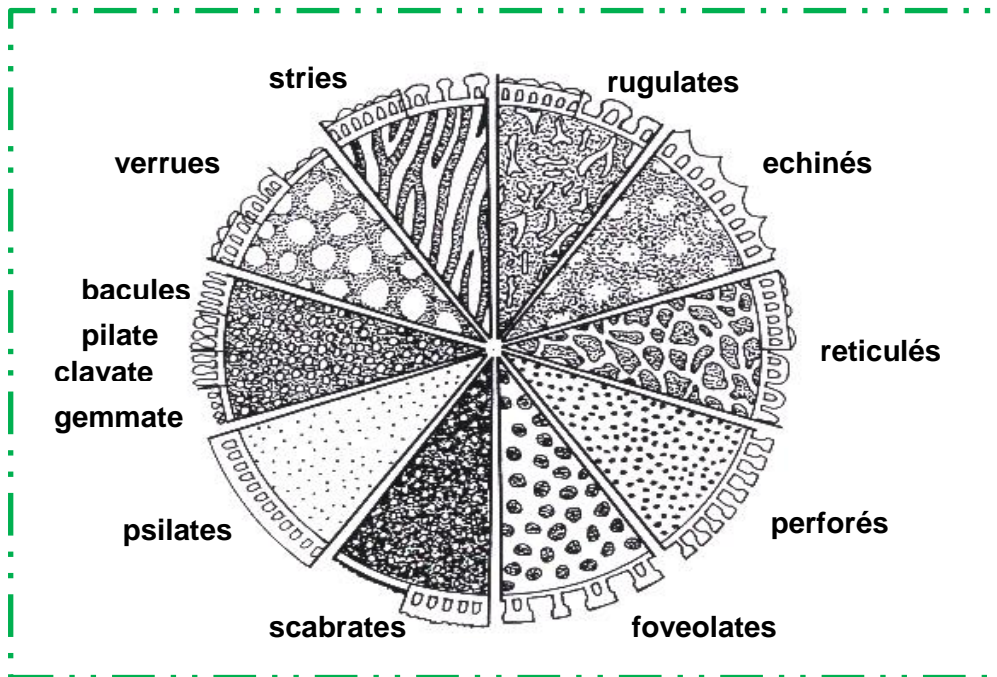


Figure 5 - Différents types d'ornementations de l'Ectexine (Source G. Frenguelli)

A la fin des deux semaines de stage, une attestation est remise à l'analyste certifiant qu'il est apte à l'analyse pollinique ainsi qu'aux diverses techniques spécifiques liées au matériel aérobiologique.

1.2 Préparation de milieux

1.2.1 Milieu d'enduction

Le milieu d'enduction est indispensable lors de l'enduction des bandes de cellophane présentes sur les tambours afin de capturer les grains de pollens impactés. Il est également fabriqué au sein du R.N.S.A. Laboratoire en grande quantité afin de fournir les sites capables d'accomplir la préparation des tambours.

Pour commencer, l'identification du récipient d'1L de tétrachlorure de carbone (CCl_4) est effectuée à l'aide d'une étiquette contenant le nom du produit final, la date de fabrication, la date de péremption, les pictogrammes adéquats, le numéro du lot et l'adresse du fabricant.

Le milieu d'enduction doit impérativement être fabriqué sous hotte aspirante car le CCl_4 est un produit CMR très volatil. C'est-à-dire que le CCl_4 est un produit chimique ayant des effets cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction à moyen ou long terme. Ce qui signifie que ce produit possède des agents capables de provoquer le cancer ou d'en augmenter la fréquence, qui modifie le code génétique de l'individu et de sa descendance, et qu'il altère également les fonctions de la reproduction chez l'Homme ou qui induit des effets néfastes non héréditaires sur sa descendance.

Le CCl_4 est utilisé pour ses propriétés de solvant permettant la dissolution de la silicone. Du silicone à 20 g/L est ajoutée dans le récipient d'1L de CCl_4 , identifié pour permettre aux grains de pollens de se fixer sur la bande de cellophane. Pour obtenir un milieu fluide et homogène, le mélange est laissé sous la hotte aspirante, pendant 48 heures en agitant régulièrement.

Une série d'étiquettes comportant le nom du produit, les pictogrammes adaptés, la date de fabrication, la date de péremption, le numéro de lot et l'adresse du fabricant est réalisée et collée sur chacun des flacons afin de renseigner au mieux les analystes. La répartition du milieu d'induction est respectivement de 50 mL et de 200 mL par flacons ayant une capacité de 50 mL et de 250 mL.

Une fiche de fabrication est alors remplie afin d'avoir une traçabilité claire et précise.

1.2.2 Milieu de montage

Le milieu de montage est utilisé lors de la préparation des lames de lecture pour l'analyse pollinique hebdomadaire des différents sites.

Il est fabriqué au sein du R.N.S.A. laboratoire, suivant plusieurs concentrations de colorant et en grande quantité afin d'approvisionner les sites capables de réaliser l'analyse pollinique.

Pour obtenir un mélange homogène optimal, de la gélatine à 100 g/L va être ajoutée à de l'eau distillée puis chauffée à 60°C sous agitation pendant 2 heures. A l'issue de cette étape, la glycérine à 300 g/L va être ajoutée pour alourdir les particules biologiques et empêcher leurs déplacements sur la bande de cellophane pendant l'analyse pollinique. Enfin, du phénol à 14 g/L va être ajouté sous hotte aspirante pour permettre la conservation du milieu de montage.

Pour une optimisation de l'identification des grains de pollens, deux milieux à différentes concentrations en Fushine sont réalisés pour être sûr que le colorant agit sur la totalité des pollens présents sur la bande de cellophane lors de la préparation des lames. Pendant les périodes de pollens abondants, un milieu de montage « coloré » à une concentration de 0,7 % de Fushine est plus adapté que lors des périodes plus calmes où un milieu de montage faiblement « coloré » à seulement 0,3% de concentration en Fushine suffit.

Une série d'étiquettes comportant le nom du produit, la date de fabrication, la date de péremption, le numéro de lot et l'adresse du fabricant est réalisée et collée sur chacun des flacons afin de renseigner au mieux les analystes. Dans chacun des trois cas de milieu, la répartition du milieu est de 10 mL par flacons compte-gouttes ayant une capacité de 15 mL.

Une fiche de fabrication est alors remplie afin d'avoir une traçabilité claire et précise.

1.3 Préparation du matériel pour la collecte des pollens

1.3.1 Tambours

Chaque semaine le R.N.S.A. reçoit plusieurs tambours pour l'analyse hebdomadaire des sites expéditeurs. Après avoir réalisé la technique de la préparation des lames de lectures, le tambour seul est de nouveau préparé afin d'envoyer un tambour fonctionnel pour une nouvelle semaine de collecte.

Du côté du R.N.S.A. laboratoire, une fois que le tambour est fixé au dérouleur, il est nettoyé à l'alcool 70%. Un fragment d'adhésif double face est positionné au niveau des deux traits noirs indiquant le point de départ du tambour.

Le début de la bande de cellophane est collé au milieu du morceau d'adhésif et enroulé autour du tambour. Il faut impérativement prendre soin à ne pas toucher la bande de cellophane avec les doigts. La fin de la bande est fixée sur l'autre moitié de l'adhésif, en tendant au maximum la bande avec précaution. La bande sur le tambour est ensuite enduite avec le milieu d'enduction sous une hotte aspirante. Un temps de séchage est requis afin d'éliminer tout solvant encore présent sous le hotte.

1.3.2 Bandes pré-enduites

Chaque année, le R.N.S.A. assure l'envoi de bandes pré-enduites pour les sites dépourvus de hotte aspirante et de milieu d'enduction. Les analystes doivent simplement positionner ces bandes de cellophane, permettant l'impaction des grains de pollens, sur leur tambour. L'intérêt étant une standardisation du matériel de dépôt des grains de pollens.

Les boîtes spécifiques à ce matériel sont nettoyées à l'alcool 70% avant de déposer les bandes pré-découpées à l'aide de morceaux de scotch double face fixés aux extrémités. Les bandes sont par la suite enduites sous hotte aspirante, avec du milieu d'enduction à l'aide d'un pinceau. Elles sont enfin laissées sécher pour une durée d'au moins 30 minutes.

Ces boîtes de bandes peuvent contenir jusqu'à 20 bandes et doivent être refermées sous hotte une fois la technique finie.

1.4 Préparation des lames de lectures

Dans le but d'obtenir des lames de lecture de meilleure qualité pour faciliter l'observation et les critères de différenciations des pollens, une procédure doit être observée pour une méthodologie bien organisée.

Le milieu de montage coloré (ou faiblement coloré) doit être préalablement mis sur plaque chauffante pendant 30 minutes avant de commencer la manipulation afin de rendre le milieu liquide. Pendant ce temps, les sept lames correspondant à une période d'une semaine, sont identifiées à l'aide d'étiquettes. Ainsi une lame est composée de deux demi-journées de deux jours successifs, contenant un total de 24 heures d'aspiration d'air.

Le tambour contenant la bande de pollens récoltés est fixé sur un dérouleur. La bande peut être récupérée suivant le sens de l'impaction, et déposée sur une règle de découpe (où le premier jour de l'impaction est sur notre gauche et le dernier jour à droite). Lors de la découpe de la bande, le respect de la mesure des sept bouts de cellophane de 48 mm est en vigueur. Afin de n'avoir aucune perte de donnée, le début de dépôt des pollens sur la bande de cellophane doit correspondre à la première rainure de la règle de découpe sur la gauche.

Pour chacune des sept lames identifiées, 3 gouttes de milieu de montage chaud sont déposées sur la lame sur lesquels viendra s'ajouter délicatement l'un des sept bouts de cellophane correspondant à la date inscrite. 3 gouttes de milieu de montage sont à nouveau déposées, accompagnées d'une lamelle de 22x50 mm, tout en évitant la formation de bulles (**Figure 6**). Si c'est le cas, mettre la lame sur une platine chaude et taper légèrement pour évacuer les bulles. Les lames sont faites une à une, car lorsque le milieu de montage est à nouveau solide, il n'est plus possible de continuer la manipulation.

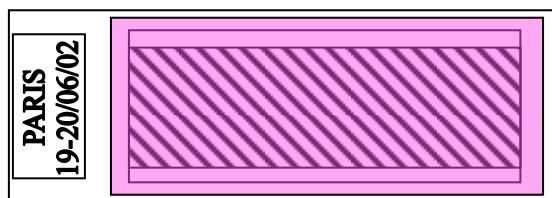


Figure 6 - Lame préparée et prête pour la lecture au microscope optique

La lecture peut être faite seulement après un temps de refroidissement des lames à température ambiante en fin de manipulation. Généralement, cinq à dix minutes suffisent.

1.5 Analyses polliniques

Avant tout, un analyste n'est autorisé à lire les lames polliniques qu'après l'obtention du certificat de fin de formation initiale. L'analyse pollinique est réalisée à l'aide d'un microscope optique et d'un ordinateur contenant préalablement trois logiciels spécifiques et indispensables au bon déroulement de la lecture: *Via Voice*, *Stamp* et *C Scope*.

Via Voice est un logiciel de reconnaissance vocale. Il permet de dicter directement les pollens lus à l'aide d'un casque équipé d'un microphone. On obtient ainsi un gain de temps dans l'analyse des pollens, une qualité des données et un confort pour les analystes.

Stamp est un logiciel permettant de suivre le positionnement de la platine du microscope. Ce paramètre est indispensable dans la localisation des pollens au cours du temps. Il enregistre chaque position des pollens lus sur la lame par le biais des coordonnées (abscisse X et ordonnée Y) de la platine. Ainsi, l'analyste connaît l'heure exacte, où les différents types de pollens ont été présents dans l'atmosphère, suivant une date précise.

Une fois que l'analyse de la semaine est finie, le logiciel ***C Scope*** accessible par Microsoft Excel, est utilisé. Ce logiciel établit un tableau regroupant plusieurs données : le nom du pollen, les dates des sept jours comptés, le nombre de pollens classés suivant le jour et l'espèce, et une dernière colonne représentant le total pour chacune des espèces observées. De plus, *C Scope* présente une hiérarchie décroissante du nombre de pollens comptés. Ainsi, les premiers pollens dans le tableau, correspondent aux plus fortes quantités présentes dans l'atmosphère pendant la semaine (**Annexe 2**). Ce logiciel permet d'enregistrer les données polliniques en deux fichiers distincts : le rapport hebdomadaire et le fichier des données. Ces deux documents sont ensuite envoyés par mail au rnsa@rnsa.fr, après chaque analyse, afin de conserver et d'enregistrer les données dans la base de données polliniques.

La lecture est faite à l'objectif X40 du microscope, suivant la méthode de lecture par deux lignes horizontales (**Figure 7**). Une fois tous les logiciels ouverts, le micro est allumé sur le logiciel *Via Voice* et le début de l'enregistrement est commencé sur le logiciel *Stamp*. Le *Voice Pad* permet de noter les pollens comptés. Avant de débiter la lecture, le réglage du nombre de tranches horaires est fait suivant l'heure du changement du tambour. Seulement après tous ces réglages, le zéro est effectué sur le logiciel *Stamp* et l'objectif est décalé vers le bas jusqu'aux lignes horizontales souhaitées : une localisée à 4,5 mm et l'autre située à 9,5 mm.

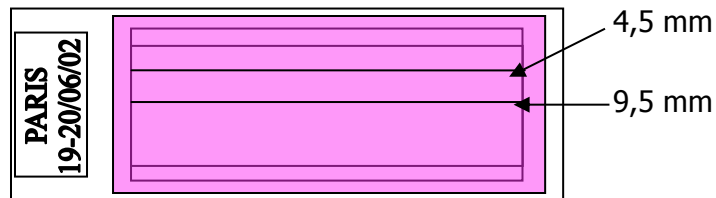


Figure 7 - Méthode de lecture de deux lignes horizontales

Tous les pollens disposés sur ces deux lignes sont comptés suivant les différents taxons enseignés lors de la formation initiale. Lors de la lecture, les « Bip sonore » retentissant dans le casque audio préviennent les limites des tranches horaires. Lorsqu'un « Bip sonore » continu annonçant le minuit est entendu, l'analyse est arrêtée. Le jour actuellement en cours est enregistré et un nouveau fichier journalier est commencé pour le jour suivant.

1.6 Bulletins polliniques de Paris et de Lyon

Pour chaque semaine, le R.N.S.A. s'engage à établir deux bulletins polliniques et à envoyer les résultats pour les villes de Paris et Lyon. Ainsi Paris reçoit deux bulletins résultant d'une analyse de 4 et 3 jours ; et pour Lyon, 5 et 2 jours.

A partir des rapports hebdomadaires et des prévisions météorologiques de chacune des deux villes, deux bulletins respectifs sont rédigés afin d'informer la population locale des principaux pollens allergisants de la semaine et du RAEP (Risque Allergique lié à l'Exposition aux Pollens) suivant le gradient de gravité du risque allant de 0 (Nul) à 5 (Très Elevé).

Ces bulletins sont rédigés grâce aux fichiers des bulletins précédents, à la météo prévue pour les jours à venir, aux rapports hebdomadaires contenant les résultats de l'analyse de la ville et à un fichier comportant les quantités de pollens par m⁻³ et par jour suivant l'espèce et le RAEP.

Pour Lyon, le bulletin pollinique est envoyé sous format PDF au Grand Lyon (**Annexe 3**) ainsi que par fax et un autre bulletin par fax également pour le Progrès. Pour Paris, un bulletin pollinique est envoyé sous format PDF au LHVP de Paris et un autre, toujours en PDF, pour Air Parif (**Annexe 4**).

1.7 Cartes de vigilances des pollens de France

Chaque fin de semaine, la carte de vigilance est élaborée suivant les données cliniques, phénologiques, météorologiques et polliniques. Cette carte permet de visualiser le RAEP sur toute la France, pour tous les pollens confondus, accompagnée par le bulletin allergo-pollinique de la semaine.

A partir des bulletins réunissant les RAEP classés par type pollinique et département, les codes couleurs, permettant d'indiquer le niveau de risque allergique pour chaque pollen, sont créés. Avec le logiciel **Inkscape**, le fond de la carte de France peut être réalisé par coloration des différents départements suivant la carte présente sur internet, préalablement mise à jour par nos données de l'étape précédente. Une fois la carte colorée, l'image est pixélisée afin de réaliser la petite carte clignotante sous le format **Graphic Interchange Format** (format GIF) présente sur la page d'accueil du site du R.N.S.A. (**Figure 8**).



Figure 8 - Carte de vigilance clignotante depuis la page d'Accueil du site du R.N.S.A. (Source R.N.S.A.)

Une fois que les bulletins allergo-pollinique français et anglais sont insérés dans le logiciel **Notepad++**, tous les documents qui ont servi à la réalisation de cette carte sont téléchargés sur le site <http://www.admisite.com> afin de permettre la mise à jour du site internet du R.N.S.A. et ainsi de faire apparaître les modifications, tel que cette carte de vigilance.

Lorsque l'on clique sur « Carte vigilance » à partir de la page d'accueil, une nouvelle fenêtre est alors ouverte, laissant place à la carte de vigilance auquel est inclus le bulletin allergo-pollinique. La spécificité de cette carte agrandie est que, lorsqu'on place la souris de l'ordinateur sur un département quelconque, le risque allergique des différents pollens apparaît par notre code couleur comme nous le montre la flèche bleue de la **Figure 9**.

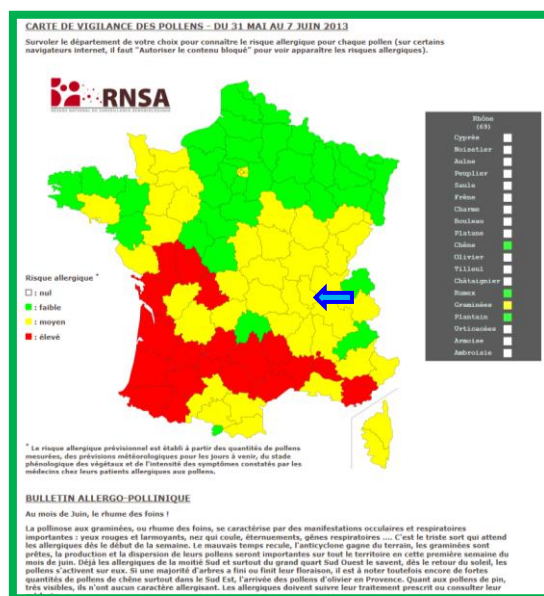


Figure 9 - Carte de vigilance accompagnée des différents risques allergiques pour le département du Rhône (Source R.N.S.A.)

1.8 Cartes de France d'index clinique

A partir des données cliniques et polliniques, le R.N.S.A. réalise des bilans en début de chaque semaine, confrontant la carte d'exposition aux pollens à celle de l'impact sanitaire sur tout le territoire français.

Le regroupement de la carte de vigilance (exposition aux pollens) et de l'**index clinique** (impact sanitaire) permettent de diffuser l'information des résultats du bulletin clinique de la semaine passée et des RAEP prévisionnels pour la semaine en cours aux médecins et allergologues. Ainsi les professionnels peuvent mettre en place des dispositions pour leurs patients vis-à-vis de leurs allergies.

La carte de l' « index clinique - impact sanitaire » est conçue à partir des index cliniques que les médecins et allergologues ont constaté chez leur patient pendant la semaine. Pour chaque ville, une moyenne des réponses obtenues est faite. Cette valeur correspondant à l'index clinique est comprise entre 0 (Nul) et 18 (Elevé). La carte est ensuite créée sur le logiciel **Inkscape** mettant à disposition un panel d'outils et permettant l'obtention d'images pixélisées. Plusieurs niveaux de gravité sont alors visibles et traduits par un code couleur: Blanc (Nul), Vert clair (Très faible), Vert foncé (Faible), Jaune (Moyen), Orange (Elevé) et Rouge (Très élevé).

La carte de vigilance est élaborée le vendredi par un technicien du R.N.S.A. (**page 12**). Une fois la diapositive sur Power point mise à jour (**Figure 10**), elle est enregistrée sous format PDF et envoyée par mail aux médecins et allergologues appartenant au réseau.

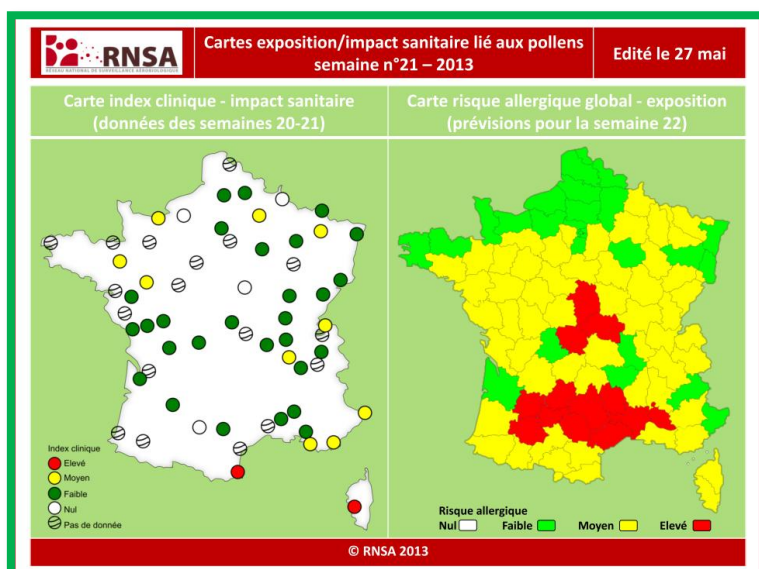


Figure 10 - Cartes d'exposition aux pollens et de l'impact sanitaire pour les bilans cliniques et polliniques de la semaine (Source R.N.S.A.)

DISCUSSION DE L'ETUDE DU CONTENU DE L'AIR ATMOSPHERIQUE EN POLLENS

Pour être opérationnelle, j'ai suivi une formation sur l'identification des pollens pendant **56 heures** durant laquelle plusieurs notions de bases en aérobiologie et en palynologie m'ont été enseignées. Ainsi, j'ai pu apprendre à différencier plus de 144 taxons polliniques. Une fois mes connaissances qualifiées et certifiées, chaque semaine j'ai pu me lancer dans la reconnaissance pollinique de plusieurs villes différentes et ainsi gagner de l'assurance ainsi que de l'expérience dans ce domaine. En cette fin d'alternance, j'ai observé **742 lames d'analyse** soit plus de **90 000 pollens identifiés**.

Dans le cas de Paris et de Lyon, deux fois par semaine, un bulletin pollinique a été réalisé suite aux résultats obtenus après l'analyse des pollens. J'ai alors été amenée à rédiger et envoyer pas moins de **39 bulletins** pour Paris et **36 bulletins** pour Lyon.

J'ai également eu la responsabilité de diffuser sur l'ensemble de la France la carte d'exposition aux pollens pendant **17 semaines** et une diffusion de la carte de vigilance sur le site internet du R.N.S.A., pendant **10 semaines**.

Tout ceci m'a permis d'avoir l'opportunité de développer des compétences en communication envers des lecteurs de natures différentes : à la population, aux maires des communes, aux journalistes, aux médias (je suis passée au journal télévisé du 20h sur TF1 le 18 mai), etc. De plus, j'ai eu l'occasion de participer aux journées d'études scientifiques (JES) du R.N.S.A. organisé à Metz afin d'assister aux interventions et d'en élaborer un résumé qui comptabilise **61 pages**. Il a été mis à disposition sur le site internet et il permet la diffusion des informations scientifiques des études et avancées actuelles.

2 Etude du rythme nyctéméral de la production des principaux pollens allergisants

2.1 Présentation de l'étude

Au cours des années, le nombre d'allergique n'a jamais cessé de croître. Ce taux est devenu de plus en plus significatif voir même inquiétant aux yeux des médecins, allergologues et aérobiologistes. Dans le cadre d'une meilleure prévention, plusieurs études ont été menées afin de connaître le moment où les pollens, de certains taxons, sont les plus allergisants dans une journée.

Selon le type de taxons, les horaires de présences des pollens dans l'atmosphère appelé « pic » dans une journée varient. Ce pic peut changer suivant les années et les zones de localisation rurales ou urbaines (Norris-Hill, 1999). D'autres chercheurs ont essayé de mettre en évidence que la position du capteur pollinique peut modifier la quantité de pollens dans l'atmosphère pour la région étudiée (Alcázar et al., 1999). La hauteur minimale pour positionner le capteur est de 1,5 mètres, ce qui correspond à la hauteur de la respiration humaine. Ce facteur permet de mettre en évidence, pour tout homme confondu, la quantité de grains de pollens respirée en fonction du temps (heures, jours mois, années) et l'impact sanitaire que produit cette quantité sur les allergiques.

Les botanistes ont néanmoins argumenté que pour expliquer les bonnes quantités de pollens lors d'une saison, il faut que la plante d'origine ait obtenu tous les facteurs régulateurs dont elle a besoin pour permettre l'ouverture de la fleur (Van Doorn, 2003). Ceci implique donc que les quantités de pollens produites varient suivant les conditions météorologiques. Ces études sont d'ailleurs déjà réalisées, dans plusieurs pays notamment l'Espagne (Pérez-Badia et al., 2010 ; Cariñanos et al., 2012), la Finlande (Käpylä, 1981 ; Käpylä, 1984) et la Belgique (Spieksma et al., 1985). En Pologne, il y a eu la mise en évidence de différences suivant les taxons d'arbres et les taxons d'herbes (Latalowa et al., 2005). La plupart des études font la distinction entre les localisations longitudinales, une différence entre les villes du Nord et du Sud, car ils apportent une variabilité dans les données polliniques (González Minero et al., 1998).

Cette étude n'a cependant pas encore été réalisée sur la France. Il n'y a eu qu'une seule étude relative à 4 taxons allergisants, sans prendre en compte la variabilité géographique (Laadi et al, 2002), le risque sanitaire et le seuil de concentration de l'apparition des symptômes. Toutes ces informations ont permis de mettre en place un sujet pour lequel, il n'y a jamais eu de parution internationale.

L'objectif de l'étude scientifique confiée est donc de déterminer les pics horaires moyens de grains de pollens les plus élevés sur la période de 2008 à 2012 inclus.

2.2 Matériels et Méthodes

2.2.1 Choix des données sélectionnées

Le choix des principaux pollens allergisants pour cette étude sont : les Cupressacées-Taxacées, le Bouleau, les Poacées (ou Graminées) et l'Ambroisie (**Figure 11**).

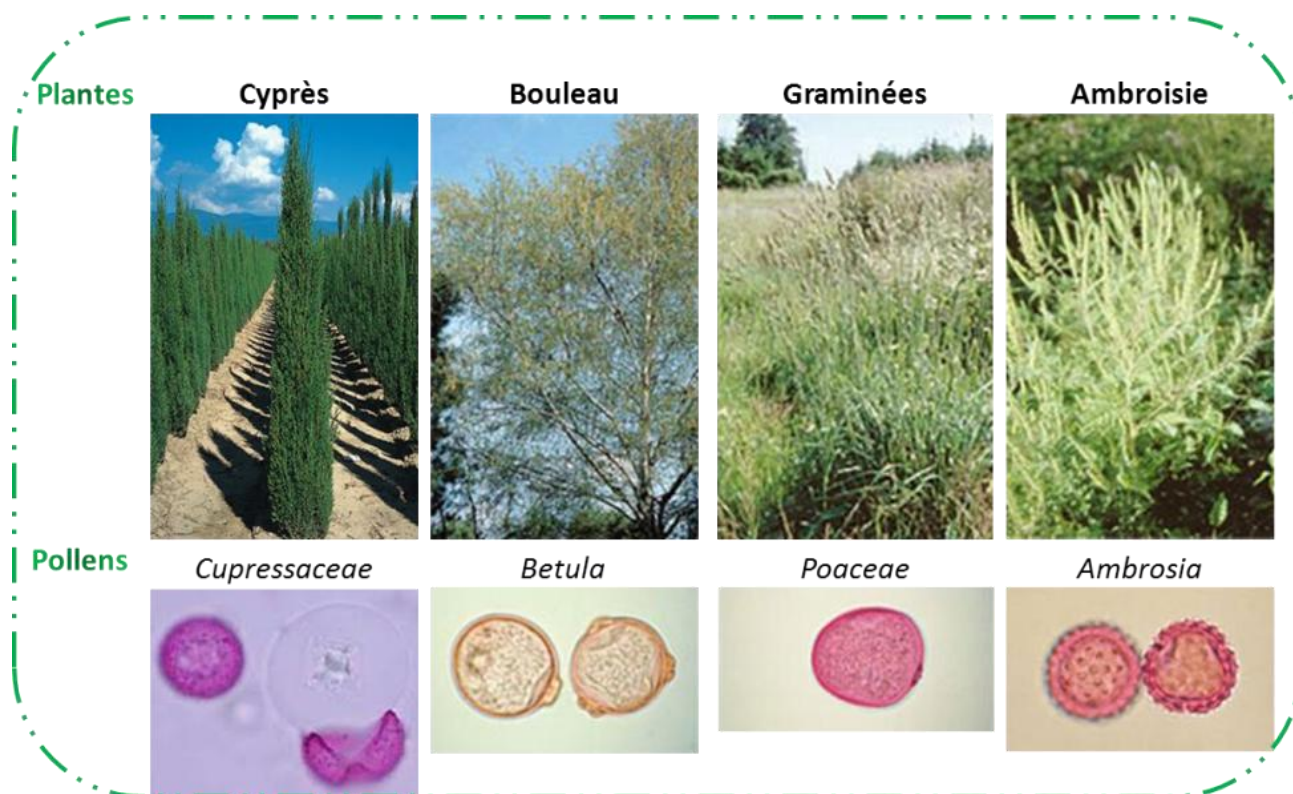


Figure 11 - Photos des différents pollens de l'étude (Source R.N.S.A.)

Les **cupressacées-taxacées** font partie de deux familles polliniques dont les grains de pollens sont impossibles à différencier lors de l'analyse pollinique. D'un point de vue microscopique, le grain de pollen est inaperturé, sphérique avec un diamètre moyen de 30 μm , dont l'exine est parcourue de granulations arrondies (gemmules) et l'intine qui entoure un cytoplasme étoilé.

Le **bouleau (*Betula*)** est un arbre de climat septentrional appartenant à la famille des Bétulacées. Au niveau microscopique, le grain de pollen est triporé, très sphérique avec un diamètre moyen de 27 μm .

En France l'allergie au Bouleau est très répandue surtout dans la région Nord-Est du pays. Ce pollen est présent en grande quantité dans l'atmosphère à partir de Mars, pendant la fin de l'hiver, jusqu'à l'arrivée du printemps fin Avril.

Les allergies polliniques les plus constatées dans la population, sont celles causées par les pollens de **poacées**. Il s'agit de plantes herbacées telle que l'herbe en bordure de routes (origine sauvage) avec un diamètre moyen de 35 μm ou encore de plantes céréalières avec un diamètre moyen de 60 μm , comme le seigle ou le maïs . En microscopie, le grain de pollen est monoporé et sphérique ou ovoïde.

L'**ambroisie** est une herbacée originaire d'Amérique du Nord (*Ambrosia artemesiifolia L.*) très allergisante et envahissante. De nos jours, en France, la région Rhône-Alpes est la plus touchée. Au niveau microscopique, le grain de pollen est tricolporé, sphérique avec un diamètre moyen de 19 μm . Selon le Centre Rhône-Alpes d'épidémiologie et de prévention sanitaire (CAREPS), les allergiques peuvent manifester des symptômes cliniques au cours du mois d'Août, dès que la concentration en grains de pollen a atteint 5 grains/ m^3 d'air (Montestrucq L. et al, 2007).

Afin de représenter la globalité des climats (**Annexe 5**) et des régions présents sur le territoire français, 10 villes ont été sélectionnées : Amiens, Aix en Provence, Bordeaux, Cholet, Lyon, Montluçon, Paris, Rouen, Strasbourg et Toulon (**Figure 12**).



Figure 12 - Carte de France représentant les sites de l'étude (Source R.N.S.A.)

METROLOGIE

Le capteur utilisé est de type HIRST (voir paragraphe **page 6**) et la méthode suivie est celle enseignée au R.N.S.A. (voir paragraphe **page 11**).

2.2.2 Extraction des données polliniques

Dans un souci de cohérence géographique, toutes les villes de l'étude n'ont pas été analysées avec les 4 taxons. Les données récupérées sont alors :

Pour les **cupressacées-taxacées**, la sélection a été faite suivant les quantités de pollens dans les villes. Les zones ayant beaucoup de pollens sont Aix en Provence, Bordeaux, Cholet et Rouen. Pour ce type de taxon, il n'y a pas eu de distinction entre les Cupressaceae et les Taxaceae. Le but est donc d'obtenir des résultats démontrant un éventuel élément de différenciation entre les Cupressaceae et les Taxaceae.

Pour le **bouleau**, les villes ont été choisies en fonction de la présence de pollens de bouleau ou dans le cas d'une implantation locale. Amiens, Bordeaux, Lyon, Montluçon, Paris, Strasbourg et Rouen sont les seules où l'on observe des années « robustes », c'est-à-dire des années où l'analyse est fiable (pas de problème de tambours ni de manques de données).

Pour les **poacées**, les villes ont été choisies en fonction de la présence de pollens de graminées ou dans le cas d'une implantation locale. Ainsi, les 10 villes (Amiens, Aix en Provence, Bordeaux, Cholet, Lyon, Montluçon, Paris, Strasbourg, Rouen et Toulon) ont été gardées.

Enfin pour l'**ambroisie**, les villes sont Aix en Provence qui sert de « témoin négatif » car il n'y a pas de plants d'ambroisie trouvés dans cette ville, Lyon qui est situé en zone d'infestation par cette plante et Montluçon qui est en bordure de zone d'infestation.

Pour déterminer les pics moyens de grains de pollens les plus élevés sur 5 ans en fonction des tranches bi-horaire contenues dans 24 heures, il a fallu récupérer les données polliniques dans la base de données du R.N.S.A. Ces données polliniques sont répertoriées pour chacune des 10 villes et par années dans un format Excel. Ce fichier contient pour une année et une ville donnée, la totalité des taxons et des quantités comptés par jour et par tranche bi-horaire. Par exemple, pour Amiens en 2010, un extrait des résultats obtenus lors de l'analyse pollinique est montré dans la **Figure 13**.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U
1	Analyses	sur site	AMIENS	0100	0300	0500	0700	0900	1100	1300	1500	1700	1900	2100	2300	Total					
2	16/02/2010	AMIENS	ALNUS	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10				
3	16/02/2010	AMIENS	CORYLUS	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10	0,00	1,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,20	0,00	1,10			
4	18/02/2010	AMIENS	CORYLUS	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,20	0,00	1,10	3,30					
5	19/02/2010	AMIENS	CORYLUS	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10	1,10	1,10	1,10	0,00	4,40					
6	20/02/2010	AMIENS	ALNUS	0,00	0,00	0,00	1,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10					
7	21/02/2010	AMIENS	CORYLUS	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,20	1,10	1,10	1,10	5,50					
8	22/02/2010	AMIENS	ALNUS	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10	0,00	0,00	1,10					
9	22/02/2010	AMIENS	CORYLUS	0,00	0,00	0,00	2,20	5,50	2,20	1,10	2,20	15,40	5,50	0,00	0,00	34,10					
10	22/02/2010	AMIENS	CUPRESSA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10					
11	23/02/2010	AMIENS	CORYLUS	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10	0,00	0,00	1,10	1,10	2,20	5,50					
12	24/02/2010	AMIENS	ALNUS	1,10	1,10	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10	4,40	15,40	2,20	0,00	0,00	25,30					
13	24/02/2010	AMIENS	BETULA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10	0,00	0,00	0,00	1,10					

Figure 13 - Extrait des données de l'analyse pollinique pour Amiens en 2010

Sur cette figure sont renseignés le site et le nom des taxons comptés dans la journée lue. Pour chaque taxon reconnu est associée la quantité de grains de pollens/m³ d'air aspirée par tranche bi-horaire analysée.

Ces tranches bi-horaires sont inscrites par une suite de chiffres, telle que « 0100 » correspondant à la tranche bi-horaire de minuit à 2 heures du matin. Pour finir la journée de comptage, la dernière tranche bi-horaire est celle numérotée « 2300 » correspondant à l'analyse de 22 heures à minuit.

A partir de ces fichiers, l'extraction des données polliniques voulus a pu être réalisée. Ainsi, pour chacune des 10 villes, un nouveau fichier pour les 4 taxons étudiés (Ambrosia, Betula, Cupressaceae et Poaceae) a été créé pour regrouper les données sur 5 ans. Par exemple, pour Betula à Cholet, les données de 2008 à 2012 inclus ont été consignées dans un même fichier.

2.2.3 Affinage des paramètres

Parmi tous les comptages polliniques récoltés en une année, les saisons polliniques diffèrent suivant le type de taxons. Les données sont basées sur la période de floraison, constatée depuis de nombreuses années, de chaque type pollinique afin de déterminer précisément la saison pollinique pour chacune des villes.

- Cupressaceae-Taxaceae : du 1^{er} Janvier au 31 Mars
- Betula : du 1^{er} Mars au 30 Avril
- Poaceae : du 1^{er} Avril au 31 Juillet
- Ambrosia : du 1^{er} Août au 30 Septembre

Ceci permet alors une meilleure sélection des données et d'obtenir des résultats plus précis pour cette étude.

Deux types de graphiques ont été créés montrant d'une part, les quantités de grains de pollens/m³ d'air/h en fonction des jours dans l'année pour sélectionner une période de pollinisation plus significative. Et d'autre part, les quantités de pollens/m³ d'air/j en fonction des tranches bi-horaires afin d'analyser les années ayant de bon rendement dans les quantités de pollens. Dans ces graphiques, les années de 2008 à 2012 inclus ont été différenciées par des courbes de couleur (**Annexe 6**).

Le graphique représentant la quantité de grains de pollens/m³/h en fonction des jours dans l'année, a permis de sélectionner la zone ayant tous les pics de pollens. Ce processus a permis de réduire l'étendue des données. Chaque ville a donc sa propre période pollinique pour chacun des taxons étudiés (période inscrite en violet sur les graphiques de l'**Annexe 7**).

Le graphique représentant la quantité de pollens/m³/j en fonction des tranches bi-horaires, a permis de valider les années propices, c'est-à-dire les années ayant des quantités de pollens cohérentes au schéma créé par la majorité des autres années (sélection des années inscrites dans le titre des graphiques de l'**Annexe 7**).

2.2.4 Détermination du rythme nyctéméral des pollens utilisés

Les diverses publications utilisées pour cette étude ont utilisé des quantités polliniques sous la forme de pourcentage. De ce fait, pour les données gardées sur les cinq années, nos quantités de grains de pollens/m³ d'air/h ont été converties en pourcentage/h pour chacune des tranches bi-horaires.

Dans certains cas, les quantités obtenues sont réparties sur seulement 1, 2 ou 3 tranches bi-horaires. Afin d'éliminer le biais causé par une trop forte valeur (en %) dans une tranche, les jours ayant moins de 4 pourcentages ont été supprimés, comme nous le montre la **Figure 14**. Ce biais correspond alors aux jours liés à une concentration totale trop faible pour être représentative.

10/05/2008	0,0	0,0	14,3	0,0	42,9	14,3	14,3	7,1	0,0	0,0	7,1	0,0
11/05/2008	15,4	0,0	0,0	0,0	7,7	30,8	15,4	15,4	0,0	7,7	7,7	0,0
12/05/2008	0,0	0,0	0,0	0,0	66,7	0,0	0,0	33,3	0,0	0,0	0,0	0,0
13/05/2008	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
14/05/2008	0,0	5,9	0,0	5,9	11,8	41,2	11,8	11,8	11,8	0,0	0,0	0,0

11/05/2008	15,4	0,0	0,0	0,0	7,7	30,8	15,4	15,4	0,0	7,7	7,7	0,0
12/05/2008												
13/05/2008												
14/05/2008	0,0	5,9	0,0	5,9	11,8	41,2	11,8	11,8	11,8	0,0	0,0	0,0

Figure 14 - Procédure d'élimination du biais sur les données

La moyenne de tous les pourcentages est faite pour chacune des 12 tranches bi-horaires et un écart-type ou « σ » est calculé afin de mesurer la variabilité des données. Pour délimiter la dispersion des données de l'analyse pollinique, la valeur de σ pour une tranche bi-horaire donnée est additionnée et soustraite à la moyenne de cette même tranche.

Ceci est appliqué pour les 11 autres tranches restantes. Le graphique de la quantité de pollens en pourcentage en fonction des tranches bi-horaires peut alors être créé. Ainsi, un graphique de chaque ville et de taxon est obtenu. Une confrontation des différentes moyennes obtenues pour chaque ville d'un même taxon est exécutée par l'intermédiaire d'un graphique. Ce résultat a été analysé parallèlement au graphique comprenant la moyenne faite à l'échelle du pays.

Toute cette méthodologie a été effectuée sur les mêmes saisons polliniques sélectionnées dans la partie précédente, mais les jours ayant une quantité totale supérieure à 12 grains de pollens/m³/h ont été éliminés afin de mettre plus en évidence les pics de pollens à déterminer.

2.3 Résultats

2.3.1 Détermination du rythme nyctéméral des pollens utilisés

Pour toutes les courbes suivantes, la journée est séparée en 4 zones bien distinctes : le matin de 4 à 10 heures, le jour de 10 à 16 heures, le soir de 16 à 22 heures et la nuit de 22 à 4 heures.

2.3.1.1 LES CUPRESSACEES-TAXACEES

Pour la France (**Figure 15 à gauche**), la courbe admet plusieurs pics polliniques plus ou moins élevé. La période pollinique maximale étant présente toute la journée et la soirée, de 10 à 19 heures avec un point culminant de 14 à 15 heures pour un taux de pollens supérieur à 14 %. Les deux pics secondaires, sont plus présents dans la nuit, avec un pic à la fin de la nuit de minuit à 1 heures et un autre de 4 à 5 heures. Le creux de pollinisation intervient plus au milieu de matinée, de 6 à 7 heures.

Lorsqu'on observe toutes les villes ensemble (**Figure 15 à droite**), le graphique est séparé en deux périodes. D'une côté, pour trois villes, le pic maximal de pollinisation est plus aux alentours de 10-11 heures, tandis que pour Cholet cette période est plus vers 14-15 heures. Quant aux creux de pollinisation, ils se trouvent bien dans la nuit et au début de matinée jusqu'à 7 heures où les quantités se dispersent de 2,5 à 8,75 %.

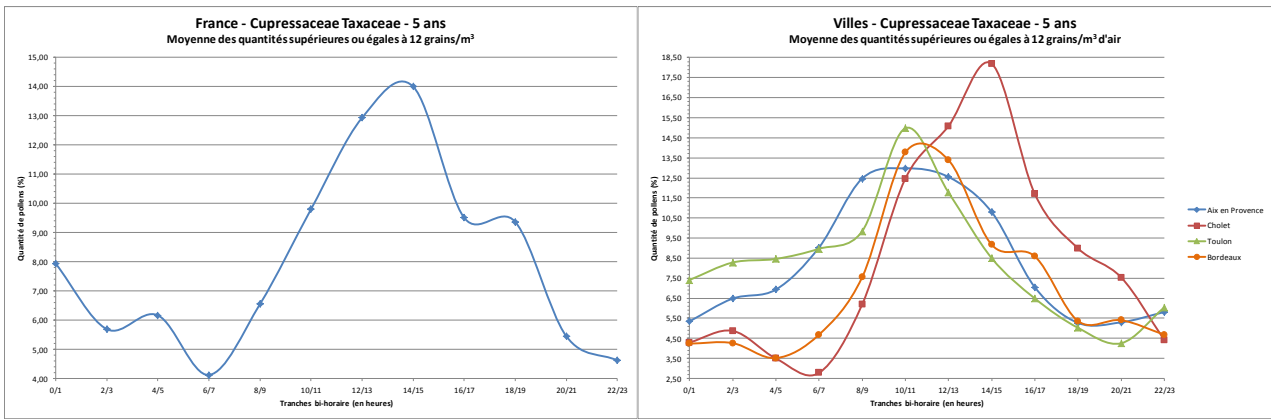


Figure 15 - Rythme nycthéral de la pollinisation des cupressacées-taxacées

2.3.1.2 LE BOULEAU

A l'échelle de la France (**Figure 16 à gauche**), le cycle diurne montre parfaitement une période de pollinisation maximale de 8 à 19 heures dans laquelle deux pics sont visibles. Le premier et le plus fort se trouve à une hauteur de 11 % de pollens de 12 à 13 heures et le second est légèrement inférieur à 10,5 % de pollens de 16 à 17 heures. En fin de journée et en fin de nuit, les quantités ne cessent de diminuer progressivement pour atteindre une quantité minimale en début de matinée de 6 % à 6-7 heures.

Lorsqu'on regard plus en détails (**Figure 16 à droite**), le schéma bi-modal montre une période maximale en fin de matinée et début de journée, de 10 à 13 heures pour la majorité des 7 villes étudiées (Bordeaux, Lyon, Montluçon, Strasbourg et Rouen).

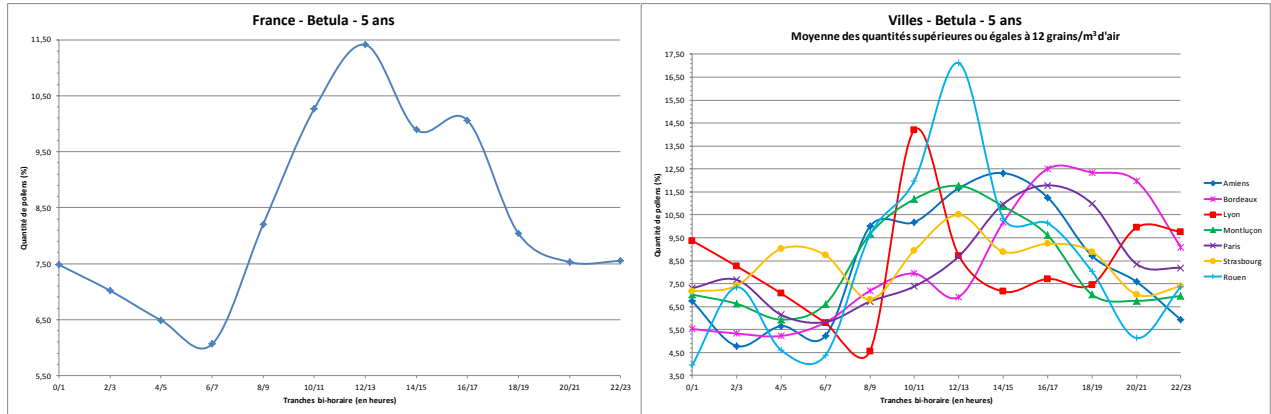


Figure 16 - Rythme nycthéral de la pollinisation du bouleau

2.3.1.3 LES POACEES

Au niveau national, la période de pollinisation est très large (**Figure 17**), de 6 à 23 heures, ce qui est extrêmement grand pour une journée comprenant 24 heures. Cependant, la période maximale de pollinisation est de 14 à 19 heures avec un pic optimal de 16 à 17 heures. La plus faible concentration en pollen est située dans la nuit, de minuit à 5 heures avec un taux de pollens de 6,3 %.

La graphique ville par ville montre une grande variabilité dans la dispersion des pollens journalière. Cependant, la tendance pollinique reste principalement dans la journée.

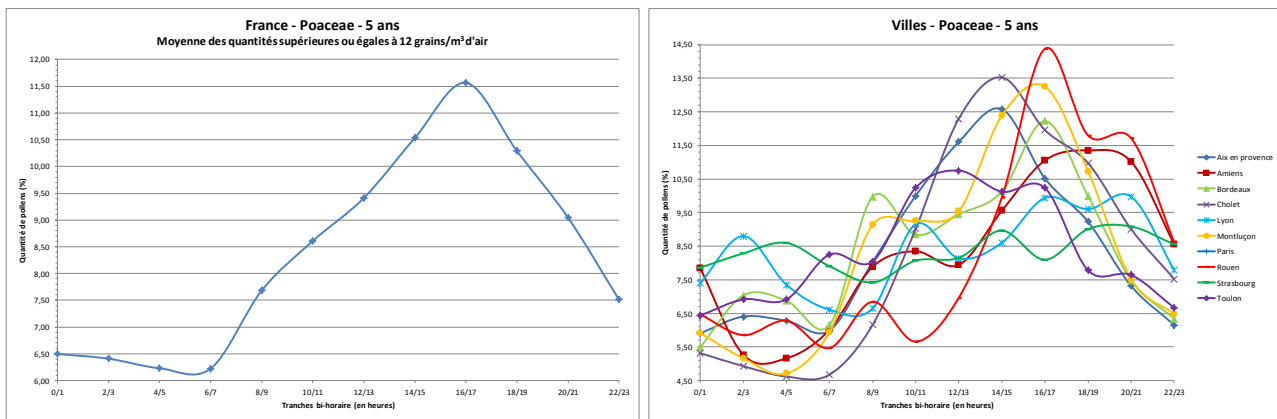


Figure 17 - Rythme nycthéral de la pollinisation des poacées (graminées)

2.3.1.4 L'AMBROISIE

A Lyon, le cycle diurne (Figure 18) est bien marqué, avec une période de pollinisation maximale de 8 à 15 heures ayant un point culminant de plus de 16 % de pollens entre 10 et 11 heures. Une faible augmentation est visible la nuit de 2 à 3 heures. La pollinisation la plus faible est en fin de soirée et au commencement de la nuit, de 20 à 23 heures avec un peu plus de 4 % de pollens. Il en va de même pour Montluçon, même si la période de pollinisation maximale est plus longue et s'étend de 8 à 19 heures, avec un maximum bi-horaire entre 12 et 13 heures. Ici, la faible pollinisation est plus longue et sans changement particulier dans la nuit et même en début de matinée, de 22 à 7 heures où le pourcentage en pollens est aux alentours de 2 %. Pour Aix en Provence, le schéma bi-modal est plus varié, avec 2 pics de pollinisation maximale entre 12 et 14 % de pollens. Là encore, cette pollinisation s'étend de 12 à 21 heures avec une baisse de 16 à 17 heures. La pollinisation est très faible et plus tardive que les deux autres villes, soit en fin de matinées, de 8 à 9 heures.

Le graphique pour la France entière n'a pas été fait car ce pollen est essentiellement régional.

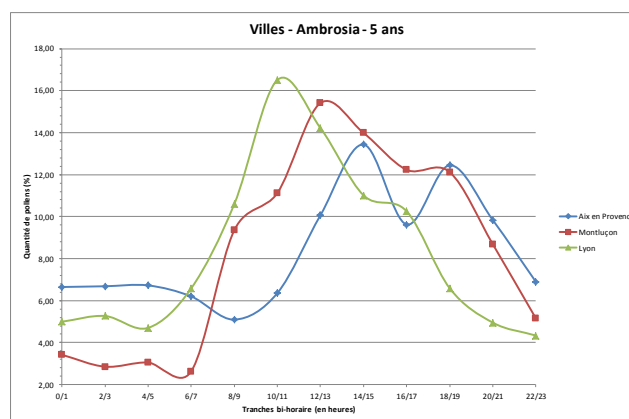


Figure 18 - Rythme nycthéral de la pollinisation de l'ambrosie

2.4 Discussion

Cupressacées-Taxacées : le cycle diurne est très particulier avec un pic principal assez large pendant toute la journée et l'après-midi. Un point culminant est distinct de 10 à 11 heures regroupant ainsi l'ensemble des régions étudiées qui représentent les espèces allergisantes, puis un second point pour Cholet à 14-15 heures où sont présents des espèces non allergisantes.

Le creux pollinique est localisé de minuit à 7 heures. D'après le site « **Végétation en ville** », les deux seules espèces allergisantes sont *Cupressus sempervivens L.* et *Cupressus arizonica Greene.* De plus, les différentes courbes des 5 années de Cholet montrent deux périodes bien délimitées. La première regroupant 2008, 2009 et 2011, et l'autre les 2 années restantes. Ceci confirme l'hypothèse que Cholet présente plus que deux espèces de Cupressacées-Taxacées.

Bouleau : le rythme nyctéméral est très irrégulier. Cependant, une partie distincte en ressort, de 9 heures à 23 heures des pics élevés sont visibles pour toutes les villes. Le second pic plus faible peut être aperçut en fin de nuit vers 2-3 heures, mais il représente également le moment du creux pollinique pour certains sites. Les observations du graphique ont menés à la constatation des pics polliniques en décalés entre les différentes villes.

Ainsi, la hiérarchie du pic le plus tôt dans la journée est Lyon, suivi de Rouen avec Strasbourg et Montluçon, ensuite Amiens, puis Paris pour finir avec Bordeaux. A l'échelle du pays, cette variabilité a néanmoins résulté de 2 pics polliniques présents pendant la journée seulement, dont le creux pollinique s'étend de minuit à 7 heures puis reprend de 18 à 23 heures avec un minimal à 6-7 heures. Contrairement à Käpylä (1984), cette étude confirme les résultats de Laaidi (2002).

Poacées (Graminées) : elles présentent un rythme circadien très aléatoire sur ces 10 villes. Le graphique montre une période beaucoup plus élevée en quantité de pollens qui est visible entre 7 et 23 heures. Il reste encore bien compliqué d'isoler un pic précis pour estimer la tranche bi-horaire où il y a le plus de pollens. Les valeurs maximales sont atteintes entre 14 et 17 heures. Pour 5 villes, un second pic important est présent entre la nuit et la matinée alors que les autres ont leurs creux polliniques.

Paris présente une situation particulière, avec la présence d'un pic principal la nuit. Après plusieurs analyses et conclusions, d'autres courbes ont été réalisées pour l'année 2012 et 2013 en ciblant la région parisienne : Saint-Quentin en Yvelines (SQY), Gonesse, Paris et Melun. Toutes ces villes possèdent des capteurs polliniques à différentes hauteurs au-dessus du sol, qui sont respectivement 10 mètres, 10 mètres, 55 mètres et 50 mètres. L'année 2012 montre bien la présence de pic nocturne pour les villes de Paris, Gonesse où il est très marqué et à Melun où il est en retrait par rapport à celui présent en fin de matinée et dans l'après-midi. Par contre à SQY les taux de pollens nocturnes sont relativement très faibles. Pour 2013, Paris obtient une nette culmination nocturne surtout entre 20 et 23 heures ainsi qu'entre 2 et 3 heures. A l'opposé, Gonesse montre des taux nocturnes beaucoup moins nets et pas du tout pour Melun.

Suite à ces nouvelles informations, le même processus a été appliqué sur d'anciennes données de Paris intramuros. Le choix s'est porté sur Audubon (2003 et 2004) dans le 12^{ème} arrondissement, avec un capteur à 43 mètres et Tocqueville (2005 à 2007) dans le 17^{ème} arrondissement, avec un capteur à 30 mètres. Le graphique d'Audubon, en 2004, confirme la présence d'un pic nocturne comme celui présent à Paris. Pour Tocqueville, il y a une forte variabilité interannuelle, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de culmination nocturne sur 3 années consécutives mais qu'en revanche un pic est assez net entre minuit et 1 heures pour l'année 2005.

La procédure a été également réalisée dans une autre région afin de déterminer si ce phénomène est seulement local. Le choix a été fait sur Bordeaux avant (2008 et 2009) et après (2011 et 2012) le déménagement du capteur pollinique. Pour la situation de Bordeaux en 2008 et 2009, le capteur situé à 45 mètres récolte un taux nocturne plus élevé que celui de la journée. Pour celle de 2011 et 2012, le pic nocturne n'existe plus alors que le capteur est localisé à 15 mètres.

L'hypothèse possible qui résulte de l'ensemble de ces observations serait que la hauteur du capteur pollinique aurait un impact sur la quantité de pollens de poacées récoltés. La question posée alors est le rôle de la hauteur du capteur par rapport au sol ?

Pour la France, qui reste plus simple à analyser en n'incluant pas Paris, il y a des concentrations en pollens continuellement durant la journée entière. Un pic principal s'étale entre 8 et 23 heures avec un point culminant à 16, 17 heures. Ceci correspond à une période critique pour les personnes allergiques.

Ambroisie : elle pollinise essentiellement en fin de matinée et pendant la journée, puis il est transporté par le vent (mistral) de la fin de matinée jusqu'en début de soirée. Les grains de pollens aéroportés peuvent atteindre une distance de plus de 300 km en ayant un impact sur la santé, en milieu de journée jusqu'en fin de soirée. Le creux pollinique a toujours lieu dans la nuit, de minuit à 7 heures. Les pics polliniques de chacune des villes confirment que les pollens sont bien dispersés par le vent, le mistral et que Lyon possède bien des plants d'ambroisie, donc des pollens d'origine locale.

CONCLUSION GENERALE : La détermination des rythmes nycthémeraux permet de connaître le moment de la journée où la plante émet préférentiellement son pollen. Cette étude est importante sur deux points : le premier est sur l'étude de l'activité de la plante et l'autre sur l'aide sanitaire vis-à-vis des allergiques. En effet, les études permettent de tenir informer cette population afin de les renseigner sur les précautions à prendre lors des saisons polliniques allergisantes. De plus, ces informations servent également comme outil pour programmer son emploi du temps par exemple et éviter les activités extérieur lors des périodes critiques pour les allergiques.

PERSPECTIVES : Afin de poursuivre cette étude et d'aboutir à un sujet de publication, il peut être envisagé une éventuelle unification de la hauteur des capteurs par rapport au sol mais également d'entreprendre la continuité de l'étude du rythme nycthémeral en incluant quelques conditions météorologiques : la température maximale et minimale, l'humidité relative, la vitesse et la direction du vent.

COMPETENCES MISES EN ŒUVRES

1 Organisation

PLANIFIER SON TEMPS DE TRAVAIL SUIVANT LES CONTRAINTES

Toutes personnes expérimentées doivent être capables de gérer et planifier ses diverses activités tout en prenant compte des contraintes rencontrées (respect des délais de rendu des résultats, disponibilité des appareils de manipulations, etc.). Au R.N.S.A., le travail principal est l'analyse pollinique des différents capteurs recueillis. Ainsi, chaque semaine, j'ai su adapter mon temps de travail suivant les jours de réceptions des tambours afin de finir mes analyses pour le jeudi soir.

EXERCER LES ACTIVITES PROFESSIONNELLES SIMULTANEMENT ET EN AUTONOMIE

Charlotte Sindt est l'une des deux techniciens permanents du R.N.S.A. Leur charge de travail est beaucoup plus conséquente que tous les étudiants. J'ai alors su développer mon autonomie après une parfaite intégration au sein de l'équipe pour toutes les missions réalisées dans l'entreprise ; mais aussi être une technicienne polyvalente, pour chacune des tâches programmées en journée.

2 Entretien et gestion des matériaux et équipements

GERER LES STOCKS POUR LE R.N.S.A. LABORATOIRE

Une fiche de gestion des stocks a été mise en place afin de connaître en temps réel les quantités des produits et consommables restant à disposition aux techniciens. Ce dispositif permet alors, de savoir quand il faut commander le matériel manquant. Ce système a été réalisé pour la gestion du stock des produits chimiques et la gestion du stock du R.N.S.A. Laboratoire (lames, gants, masques, scalpels, etc.).

REPERER LES DYSFONCTIONNEMENTS ET ASSURER LA DIFFUSION DE L'INFORMATION POUR Y REMEDIER

Chaque semaine, le R.N.S.A. réceptionne plusieurs tambours pour l'analyse pollinique hebdomadaire des différents sites reçus. Lors de la préparation des lames d'analyses, chaque technicien doit observer si les tambours ont tourné correctement pendant la semaine de collecte. Ce qui signifie que toute la bande doit présenter un dépôt légèrement visible correspondant à l'impaction des grains de pollens. Dans le cas contraire, le technicien est chargé de communiquer le problème (horloge du capteur mal réglée, tambour mal positionné dans le capteur, buse du capteur mal lavée, etc.) à ces supérieurs pour qu'ils puissent transmettre l'information au responsable du capteur présent sur le site.

3 Communication

S'INFORMER AUPRES DES PERSONNES APPROPRIÉES

Après avoir assisté à la formation initiale et pour être parfaitement autonome, j'ai dû solliciter les personnes du R.N.S.A. Laboratoire concernées pour répondre à mes questions. De plus, pour l'étude scientifique, j'ai eu l'occasion de solliciter l'aide de Mr Jean-Pierre BESANCENOT et de m'entretenir auprès de Mr Michel THIBAUDON.

REDIGER DES DOCUMENTS SCIENTIFIQUES A L'ÉCHELLE NATIONALE

En Novembre, j'ai eu l'opportunité de participer aux JES (Journées d'Etudes Scientifiques) à Metz. Suite aux différentes présentations réalisées, j'ai rédigé un compte-rendu détaillé de chacune des présentations qui a été mis à disposition sur le site pour tous les adhérents

J'ai également rédigé tous les bulletins polliniques pour les villes de Lyon et Paris.

J'ai eu aussi l'occasion d'élaborer des protocoles spécifiques dans la collecte de pollens (*Cupressaceae* et *Cedrus*) pour Mr Michel THIBAUDON afin qu'il puisse le transmettre à certains membres du réseau.

PRESENTER LES RESULTATS DE SON TRAVAIL

Pour la période de fin Février, j'ai pu exposer l'ensemble des résultats de mes recherches lors d'une présentation Power point.

4 Exécution des préparations et des analyses

ORGANISER SON ESPACE DE TRAVAIL

Pour tous professionnels, il est important de garder un espace de travail rangé. Dans le laboratoire, il est primordial de jeter ce qui doit être éliminé, nettoyer son plan de travail, et de ranger les matériaux utilisés pour ces techniques afin de laisser un poste de travail adéquat pour les autres techniciens.

APPLIQUER LES BPL (BONNES PRATIQUES de Laboratoire)

L'ensemble des techniciens doit appliquer et maîtriser les BPL basiques mais aussi celles qui ont été enseignées lors de la formation initiale dès l'entrée au sein du R.N.S.A. Une méthodologie est ainsi suivie pour toutes manipulations au laboratoire.

APPLIQUER LES NORMES D'HYGIENE ET SECURITE

Le R.N.S.A. Laboratoire suit les critères de la norme qualité ISO9001. En outre, le R.N.S.A. suit des procédures d'hygiène et de sécurité pour éviter ou au moins de limiter les dangers possibles dans le laboratoire. Chaque technicien doit être vêtu d'une blouse blanche de protection ainsi que d'une charlotte avec des cheveux attachés pour éviter les contaminations des souches ou des lames d'analyses. Le poste de travail doit être nettoyé avant et après chaque manipulation et sa pailleuse doit être rangée une fois son travail fini.

Ceci est une marque de respect vis à vis des autres et surtout un mode de vie au sein du laboratoire. Les protections, pour le technicien, doivent être adaptées en fonction des produits et des appareils utilisés (blouse, charlotte, gants et masques).

ENSEIGNER LES TECHNIQUES DE LA FORMATION INITIALE

Plusieurs formations initiales ont été enseignées quelques temps après mon arrivée. Pour apporter mon aide aux formatrices, j'ai été chargé d'enseigner les techniques liées aux pollens.

GARDER UNE TRACABILITE DES MANIPULATIONS REALISEES

Lors de la réception des tambours, plusieurs problèmes peuvent être présents tels que le colis non reçu, réception d'un tambour qui n'a pas servi ou qui n'a pas tournée pendant la semaine de collecte, etc. J'ai alors tenu un cahier de laboratoire afin de garder une traçabilité des lames d'analyses préparées suivant les villes et le nombre de lames réellement faites. Ceci permet de toujours connaître les données polliniques manquantes.

ORGANISER CES DONNEES DANS DES GRAPHIQUES

Pour mon étude, j'ai eu recours à 125 données polliniques de la banque du R.N.S.A. où il m'a fallu extraire un pic de quantité de pollens en fonction des tranches bi-horaires représenté dans un graphique comportant des valeurs maximales et minimales.

5 Information et traitement de l'information

ANALYSER ET SELECTIONNER LES INFORMATIONS DES ARTICLES SCIENTIFIQUES ANGLAIS ET FRANCAIS

Depuis la base documentaire du R.N.S.A., j'ai pu sélectionner et lire les articles liés au projet d'étude. J'ai pu m'améliorer dans la compréhension de l'anglais et de l'anglais scientifique spécifique au domaine de l'aérobiologie. Mes recherches ont donc abouti à utiliser plus de 20 publications en anglais et une en français.

6 Apprentissage

ASSISTER A LA FORMATION INITIALE DE LA RECONNAISSANCE DES POLLENS

Pendant les deux premières semaines, j'ai assisté à la formation aux pollens afin de reconnaître plus de 144 taxons de pollens différents indispensables pour l'analyse pollinique.

CONCLUSION GENERALE

Les missions effectuées au sein du Réseau National de Surveillance Aérobiologique ont été diverses et variées, impliquant une autonomie sans égale et une polyvalence sans faille. C'est dans la convivialité, l'échange et l'enthousiasme que ces missions se sont déroulées tout au long de l'année d'apprentissage.

Au cours des missions hebdomadaires, j'ai eu recours à la communication lors de mes rédactions de bulletins polliniques et d'élaborations de cartes liées aux pollens et aux allergiques. J'ai pu également améliorer mes compétences dans le domaine de l'Assurance Qualité et en Production, pendant la préparation des réactifs destinés au réseau. La formation d'identification des pollens, m'a permis d'obtenir des notions de bases en aérobiologie et palynologie utilisé quotidiennement lors des analyses polliniques.

L'étude scientifique confiée, m'a permis de constater l'importance des données polliniques collectées. Le plus important, est que le R.N.S.A. compte sur tout un ensemble de personnes afin de permettre différentes études pour le bien de la population allergique et non allergique. J'ai appris à mettre en place une méthodologie pour obtenir un sens dans ma démarche et surtout pour apprendre à expliquer mon raisonnement à d'autres spécialistes. Ceci m'a permis d'aboutir à des résultats intéressants voir surprenants et ainsi d'avoir une observation critique de chacun des graphiques.

Cette expérience professionnelle a été pour moi très enrichissante. J'ai su développer des compétences (**Tableau 1**) mais également progresser dans les rédactions et la prise d'initiative.

Tableau 1- Récapitulatif des compétences développées au R.N.S.A.

Missions	Quantité réalisée	Temps sur l'année (en %)	Compétences développées
Analyses polliniques	367	27	Reconnaissance des pollens et manipulation du microscope optique
Elaboration de cartes de vigilance et mise en ligne sur le site internet	10	4	Diffusion de l'information auprès de la population
Elaboration de cartes d'index clinique	17	6	Diffusion de l'information auprès des médecins et allergologues
Rédaction des bulletins allergo-pollinique de Paris	39	7	Diffusion de l'information auprès des communes urbaines, destinée à la population
Rédaction des bulletins allergo-pollinique de Lyon	36	7	Diffusion de l'information auprès des communes urbaines, destinée à la population
Rédaction de document scientifique	1	3	Communication auprès des adhérents du site R.N.S.A.
Rédaction de protocoles	3	1	Assurance Qualité
Préparation du matériel pour le réseau (milieux, boîtes de bandes, tambours, etc.)	154	5	Production, Assurance Qualité
Etude scientifique du rythme nyctémérale de pollens allergisants	1	40	Recherche scientifique

L'autonomie m'a apporté un sens de l'organisation sans reproche, de programmer chacune de mes semaines au fil du temps en fonction des missions et contraintes demandées (**Figure 19**). Je me suis découverte une personnalité inconnue jusqu'à aujourd'hui, notamment dans la transmission de connaissances.

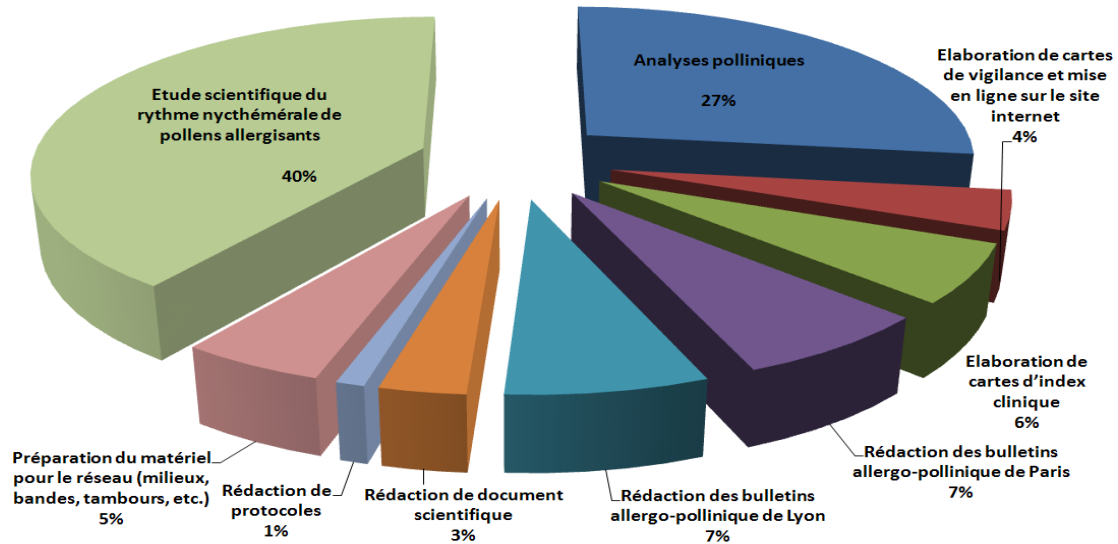


Figure 19 - Représentation graphique de la durée de chacune des missions du R.N.S.A. pendant l'année

Ce travail a confirmé mes convictions pour laquelle j'aime et je souhaite exercer dans les laboratoires. Cette conviction qui est celui de venir en aide aux personnes et à la population nationale et mondiale. Le R.N.S.A. m'a fait prendre conscience que beaucoup de gens souffrent d'allergies aux pollens.

J'ai été honoré de passer sur le journal de 20 heures de TF1 (le 18 mai 2013), c'est une expérience qui ne s'oublie pas !

Ce réseau est la preuve que le travail en équipe est important et gratifiant aussi bien au sein d'un même laboratoire mais aussi à l'échelle de la France voir même de l'Europe.

BIBLIOGRAPHIE

Extrait d'une revue:

Aboulaich N., Bouziane H., Kadiri M., del Mar Trigo M., Riadi H., Kazzaz M. et Merzouki A., 2009. Pollen production in anemophilous species of the Poaceae family in Tetouan (NW Morocco). *Aerobiologia*, 25 : 27-38.

Alcázar P., Galán C., Cariñanos P. et Domínguez-Vilches E., 1999. Diurnal variation of airborne pollen at two different heights. *Invest Allergol Clin Immunol* 9(2) : 89-95.

Cariñanos P., Galán C., Alcazar P. et Domínguez E., 1999. Diurnal variation of biological and non-biological particles in the atmosphere of Córdoba, Spain. *Aerobiologia* 15 : 177-182.

González Minero F. J., Candau P., Tomás C. et Morales J., 1998. Daily variation patterns of airborne allergenic pollen in southwestern Spain. *Invest Allergol Clin Immunol*. 8 (2) : 89-93.

Käpylä M., 1981. Diurnal variation of non-arboreal pollen in the air in Finland. *Grana* 20 : 55-59.

Käpylä M., 1984. Diurnal variation of tree pollen in the air in Finland. *Grana* 23 : 167-176.

Laaidi M., Thibaudon M., 2002. Rythmes nyctéméraux de la pollinisation de quelques taxons allergisants. *Acta Bot. Gallica* 149 (4) : 445-456.

Latalowa Corresp. Author M., Uruska A., Pe, dziszewska A., Góra M. et Dawidowska A., 2005. Diurnal patterns of airborne pollen concentration of the selected tree and herb taxa in Gdańsk (Northern Poland). *Grana* 44 (3) : 192-201.

Montestrucq L., Guye O., Peysson E. et Charvat H., 2007. Les pollens et l'ambroisie. Tableau de bord Santé-Environnement, Région Rhône-Alpes, Observatoire régional de la santé Rhône-Alpes.

Norris-Hill J., 1999. The diurnal variation of Poaceae pollen concentrations in a rural area. *Grana* 38 (5) : 301-305.

Pérez C.F, Gardiol J.M et Paez M.M, 2003. Comparison of diurnal variation of airborne pollen in Mar del Plata (Argentina). *Grana*, 42 (3) : 161-167.

Pérez-Badia R., Vaquero C., Sardinero S., Galán C. et Garcíá-Mozo H., 2010. Intradial variations of allergenic tree pollen in the atmosphere of Toledo (central Spain). *Ann Agric Environ Med* 17 : 269-275.

Spijksma F. Th. M., Van den Assem A. et Collette B. J. A., 1985. Airborne Pollen Concentration in Leiden, The Netherlands, 1977-1981. *Grana* 24 (2) : 99-108.

Van Doorn W.G et Van Meeteren U., 2003. Flower opening and closure: a review. *Journal of Experimental Botany*, 54 (389) : 1801-1812.

Hirst J. M., 1952. An automatic volumetric spore trap. Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Herts : 257-265.

Présentation:

Frenguelli G., 2003. Morphologie et Structure des pollens.

Extrait de sites internet:

<http://www.pollens.fr>

<http://fr.wikipedia.org>

<http://www.futura-sciences.com>

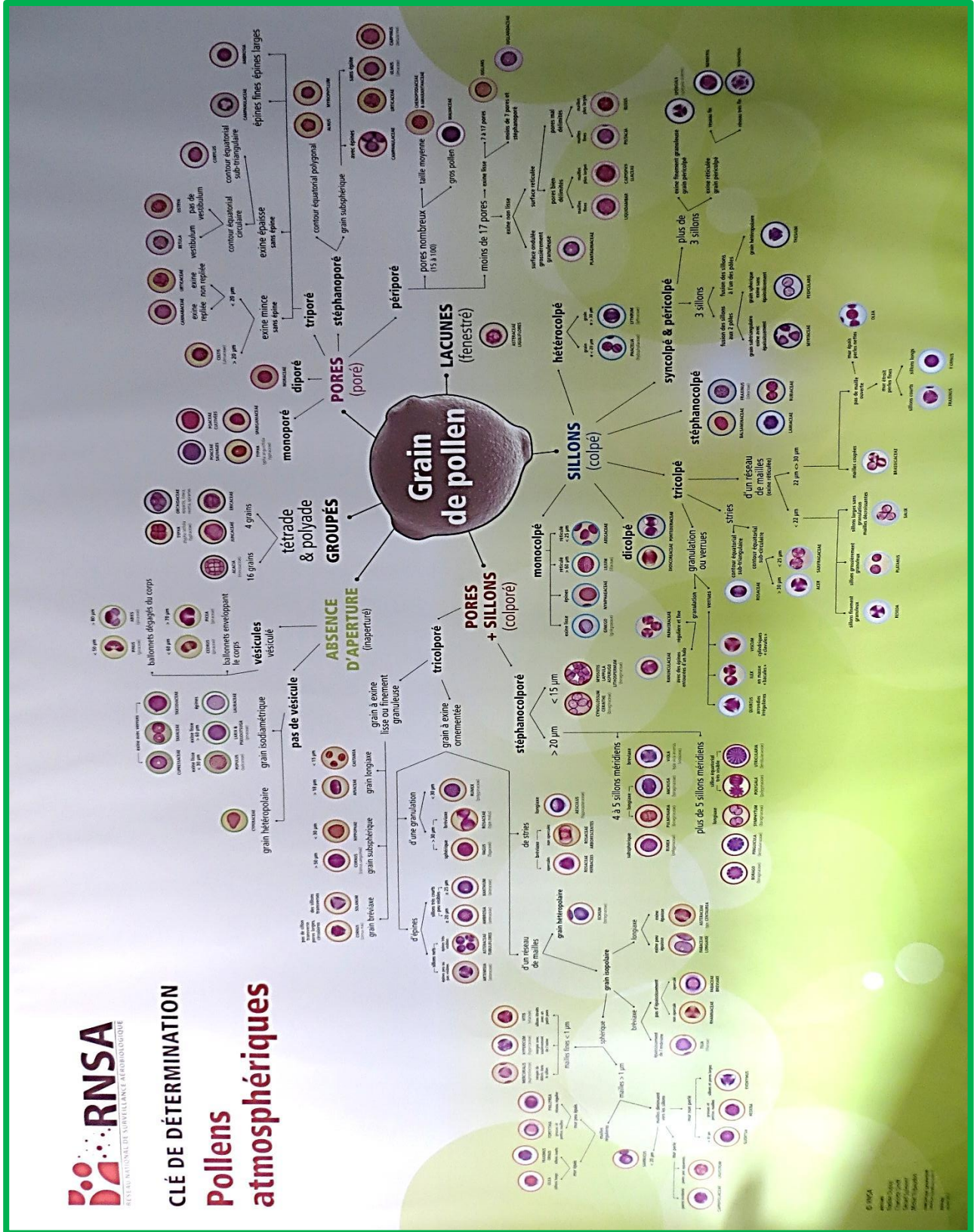
<http://www.vegetation-en-ville.org/PDF/cupressus.pdf>

<http://sante-medecine.commentcamarche.net>

ANNEXES

ANNEXE 1

Clé de détermination des pollens atmosphérique



ANNEXE 2

Récapitulatif de l'analyse hebdomadaire par C Scope



Analyste : Audrey JEAN

ANNEMASSE du 16/04/13 au 22/04/13

FOCUS : 0.97

	16/04/13	17/04/13	18/04/13	19/04/13	20/04/13	21/04/13	22/04/13	Total/m3	E
Fraxinus	2716	2262	1894	140	407	950	2596	10965	
Betula	522	771	673	29	64	70	274	2403	
Populus	181	324	162	14	32	82	407	1202	
Cupressaceae-									
Taxaceae	46	148	240	33	38	398	182	1085	
Carpinus	61	110	95	7	6	13	25	317	
Buxus	65	22	25	5	3	2	23	145	
Poaceae	17	88	17	2	1	-	5	130	
Salix	17	30	31	1	2	18	21	120	
Platanus	3	8	50	1	2	4	21	89	
Ulmus	7	13	22	2	6	22	16	88	
Pinus	1	9	27	-	-	-	6	43	
Juglandaceae	11	4	1	-	-	-	12	28	
Quercus	-	5	8	3	-	2	2	20	
Cyperaceae	3	1	2	-	-	1	4	11	
Rosaceae	-	1	2	-	4	1	2	10	
Joncaceae	1	4	-	-	2	-	2	9	
Plantaginaceae	2	5	2	-	-	-	-	9	
Alnus	-	-	3	2	2	1	-	8	
Juglans	2	-	-	-	1	-	4	7	
Sambucus	1	-	1	1	3	1	-	7	
Indetermines	-	1	1	2	1	1	-	6	
Morus	2	-	2	-	-	-	-	4	
Rumex	-	-	1	-	-	2	1	4	
Fagus	-	-	1	-	-	-	2	3	
Larix	-	-	-	-	1	-	1	2	
Ericaceae	-	-	1	-	-	-	-	1	
TOTAUX	3658	3806	3261	242	575	1568	3606	16716	

ANNEXE 3

Bulletin pollinique type de Lyon, envoyé au Grand Lyon.



RNSA
Le plat du Pin
69690 BRUSSIEU

Tél : 33 (0)4 74 26 19 48
Fax : 33 (0)4 74 26 16 33
E-mail : rnsa@rnsa.fr
Site : www.pollens.fr

Le 24 avril 2013

Département Ecologie Urbaine de Lyon	04 72 83 14 40	Mairie de Feyzin	Mail
COPARLY – Monsieur LEPALLEY	04.72.14.54.21	Mairie de Bron	04 72 36 14 00
Mairie Saint Priest – C.S.U.	04 78 20 92 55	Mairie de Mions	04 78 21 08 64
Mission Arbres - Grand Lyon	04 78 95 70 98	Mairie de Villeurbanne	04 78 03 67 10
Mairie de Dardilly – Mr DORE	Mail	Le Grand Lyon (webmestre@grandlyon.org)	
		A l'attention des adjoint(e)s à l'Environnement	

BULLETIN ALLERGO POLLINIQUE - GRAND LYON - ANNEE 2013

Bulletin valable jusqu'au 26 avril 2013 (données sur 5 jours).

	DESIGNATION	QUANTITE	RAEP*
Pollen dominant	PLATANUS (Platane)	3855	4
Pollens secondaires	FRAXINUS (Frêne)	640	3
	BETULA (Bouleau)	462	5
	POPULUS (Peuplier)	185	1
	INDICE ALLERGIQUE	5692	5

(Evaluation du RAEP)

5

* RAEP : Risque Allergique d'Exposition aux Pollens

5 : Très élevé 4 : Elevé 3 : Moyen 2 : Faible 1 : Très faible 0 : Nul

Commentaire : Le risque allergique est maximal et il ne changera pas tant que le soleil sera présent !

Michel THIBAUDON - RNSA

Capteur LANZONI (10 Lt/Mn) situé à Lyon Gerland (h 26m) – Analyses et bulletins réalisés par le RNSA (financement partiel par le Grand Lyon – Mission Ecologie Urbaine).

ANNEXE 4

Bulletin pollinique type de Paris, envoyé pour Air Parif



RNSA
Le Plat du Pin
69690 Brussieu

Tél : 33 (0)4 74 26 19 48
Fax : 33 (0)4 74 26 16 33
E-mail : rnsa@rnsa.fr
Site : www.pollens.fr

INFORMATION SUR LE RAEP - Ville de PARIS

Édité le 14 mai 2013

A AIRPARIFF

communication@airparif.asso.fr

Informations fournies par le Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris grâce au capteur du Réseau National de Surveillance Aérobiologique.

Période du 9 au 12 mai 2013 (4 jours)

	Pollen	Quantité	RAEP
Taxon dominant :	Chêne	971	3
Taxons secondaires :	Pin	106	0
	Platane	53	1
	Graminée	38	2
TOTAUX		1339	3

RAEP (Risque Allergique lié à l'Exposition aux Pollens) Global : **3**

5 : Très élevé 4 : Élevé 3 : Moyen 2 : Faible 1 : Très faible 0 : Nul

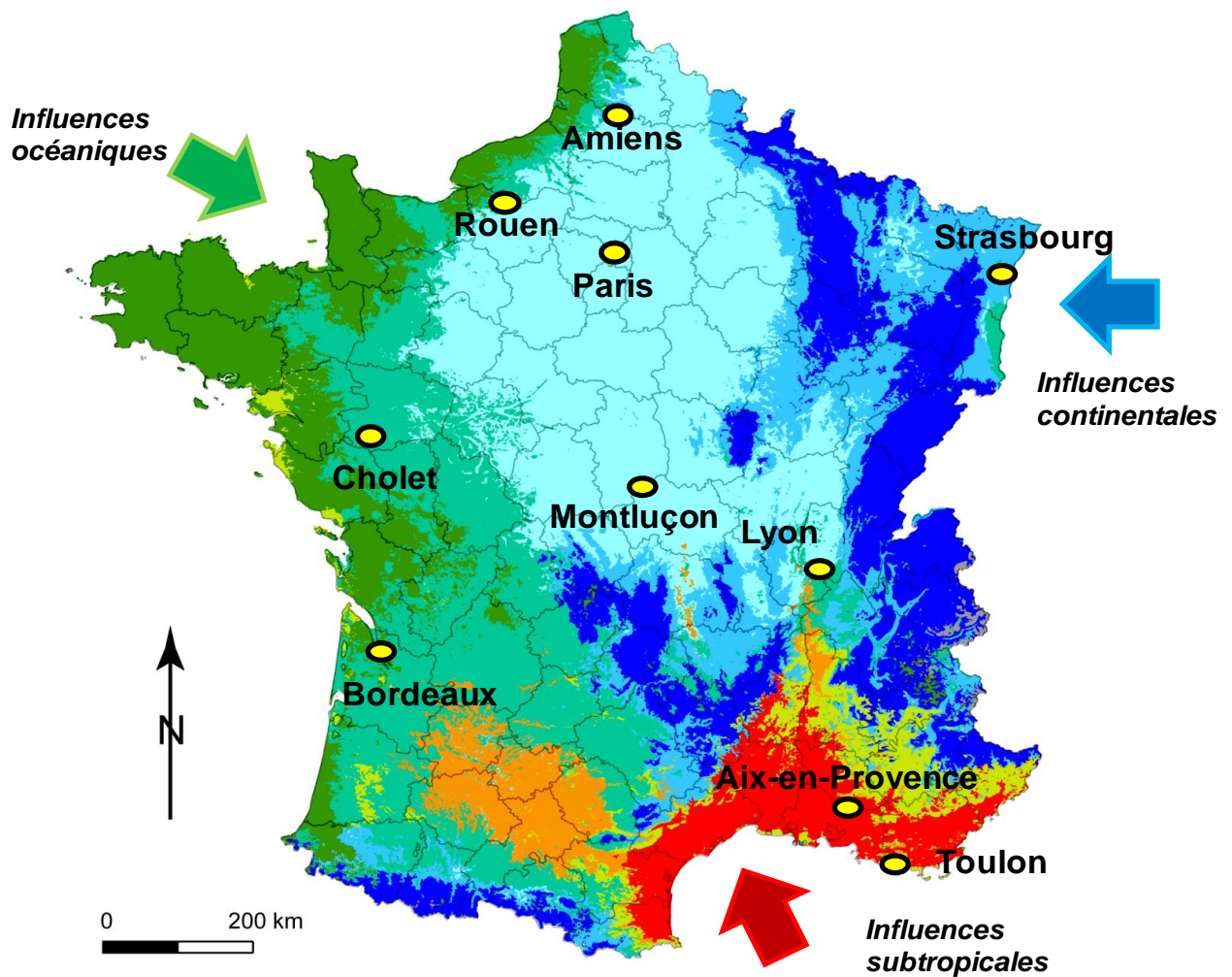
Commentaire : Le temps mitigé prévenu au cours de la semaine ne permettra pas aux pollens d'être très présents.










Prochain bulletin : 16 mai 2013

ANNEXE 5

Répartition des différents climats sur la France

Répartition des différents climats français

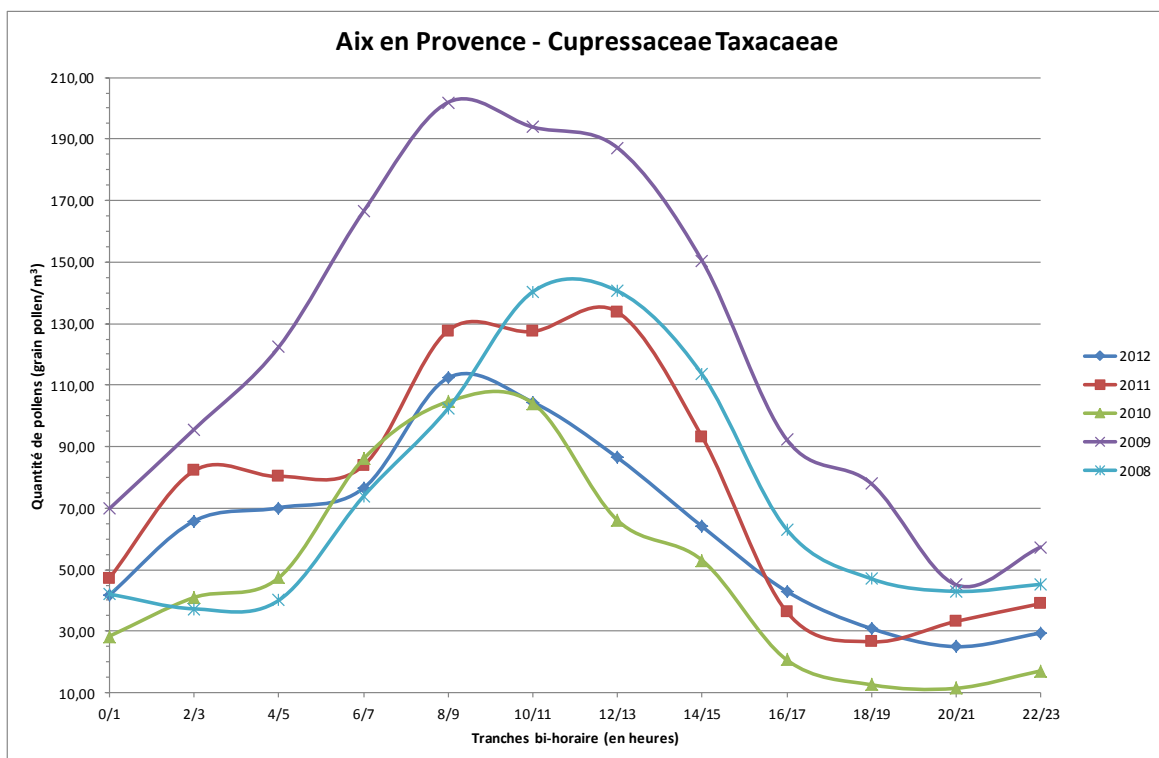
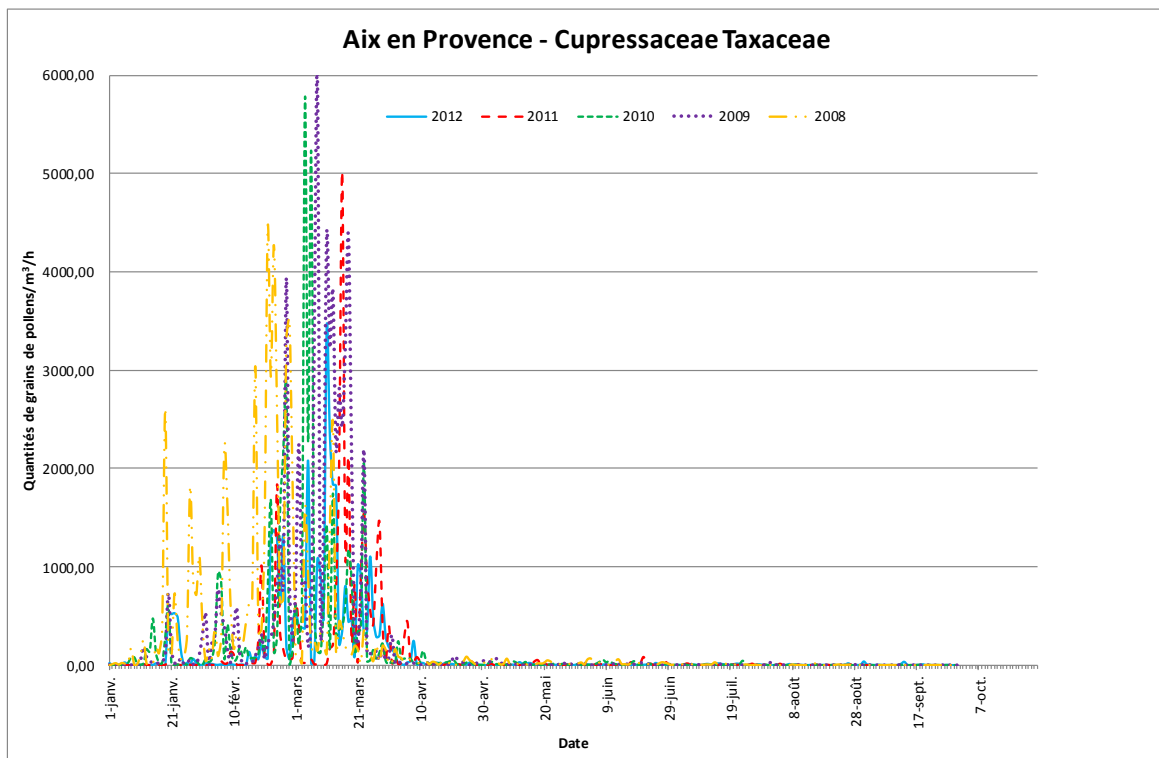


-  Les climats de montagne
-  Le climat semi-continental et le climat des marges montagnardes
-  Le climat océanique dégradé des plaines du Centre et du Nord
-  Le climat océanique altéré
-  Le climat océanique franc
-  Le climat méditerranéen altéré
-  Le climat du Bassin du Sud-Ouest
-  Le climat méditerranéen franc
-  Hors interpolation

ANNEXE 6

Type de graphique permettant l'affinage des paramètres

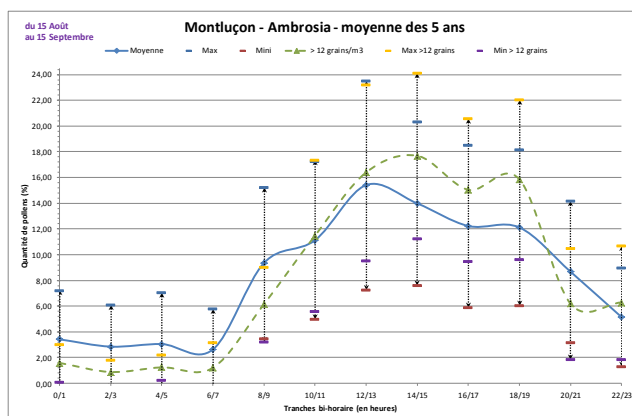
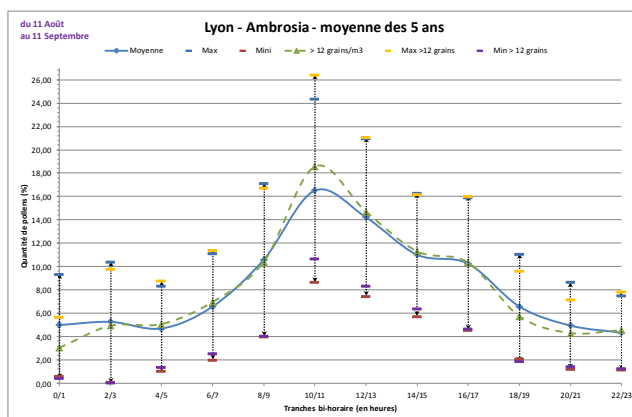
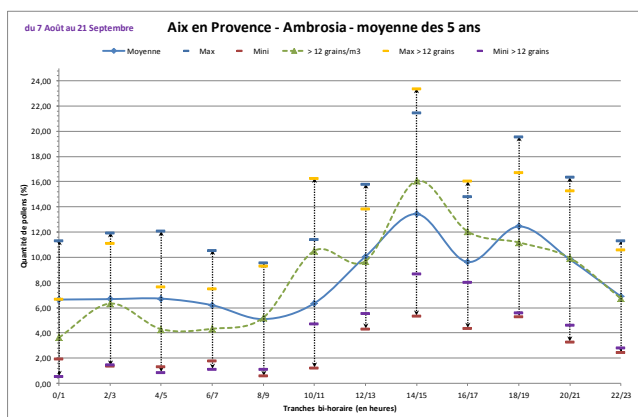
Exemple avec Aix en Provence pour le pollen de Cupressaceae-Taxaceae



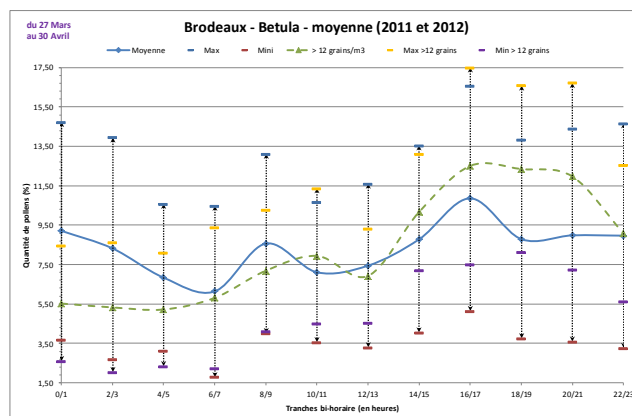
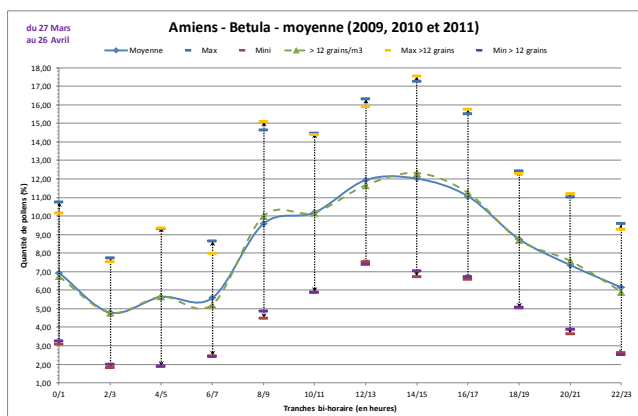
ANNEXE 7

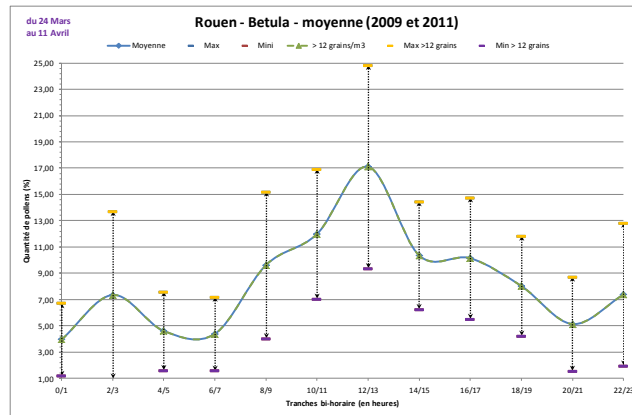
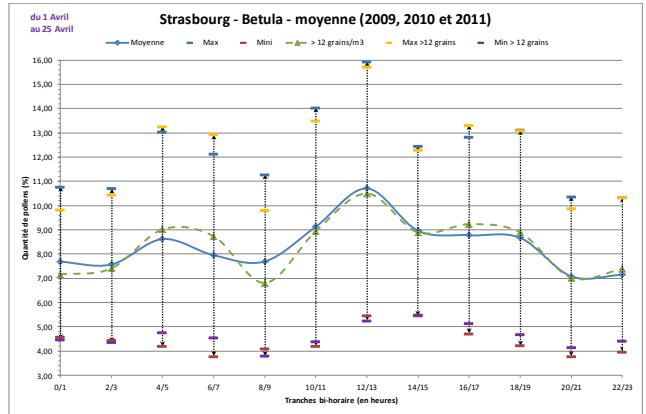
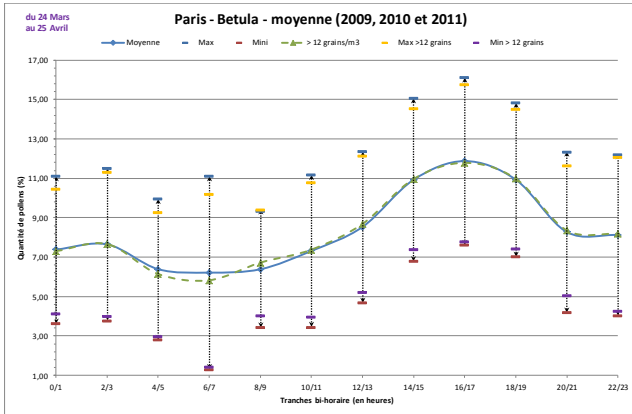
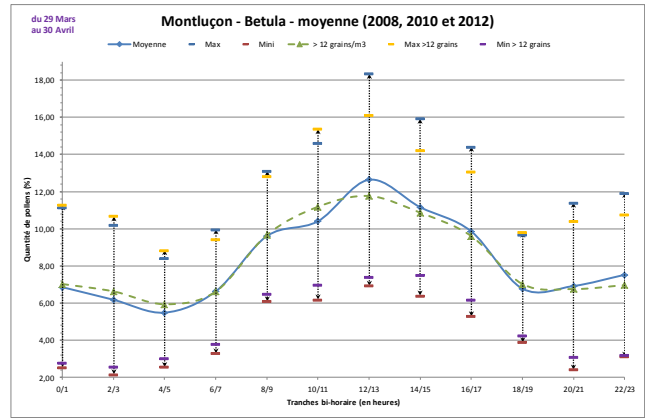
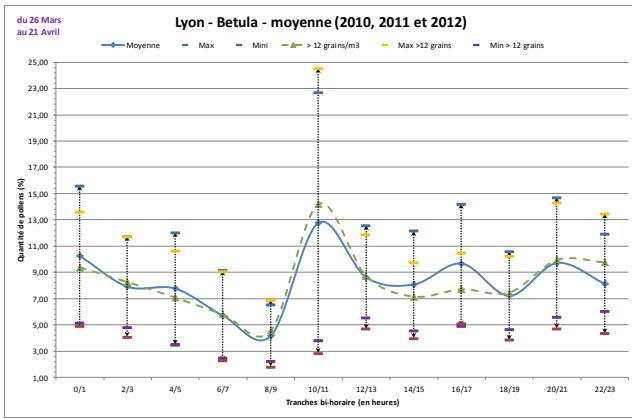
Courbes du rythme nycthéral de chacune des villes

AMBROSIA

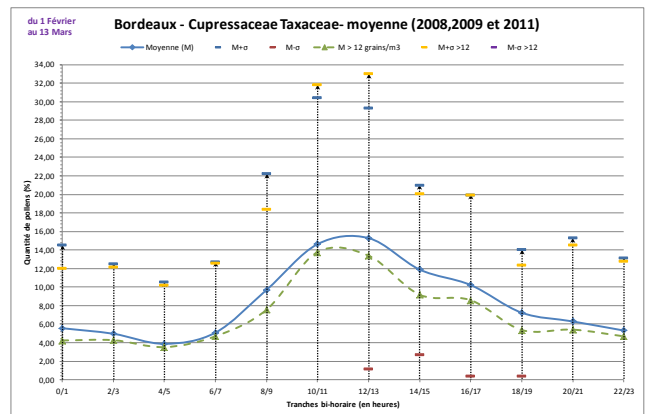
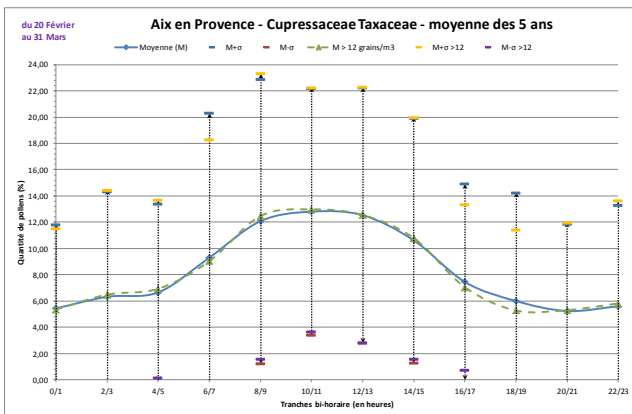


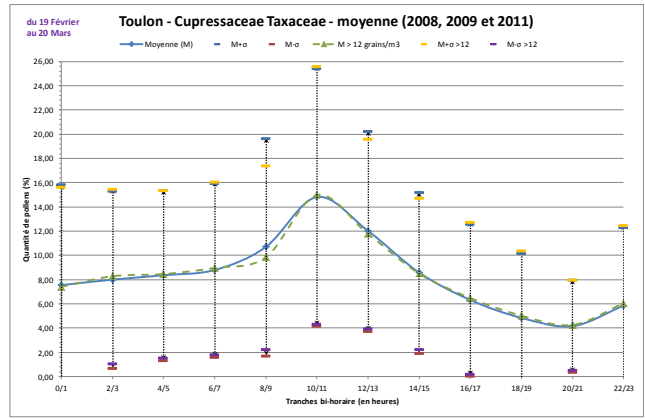
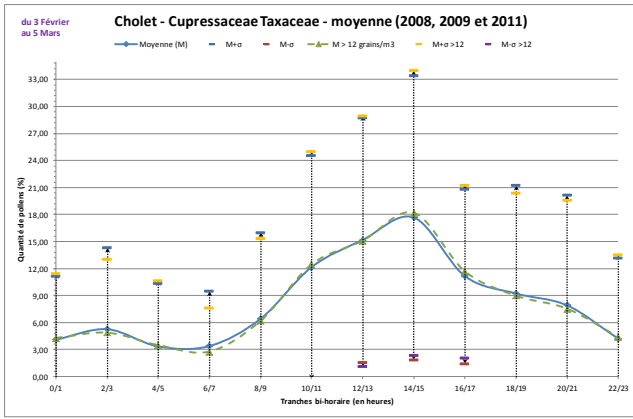
BETULA



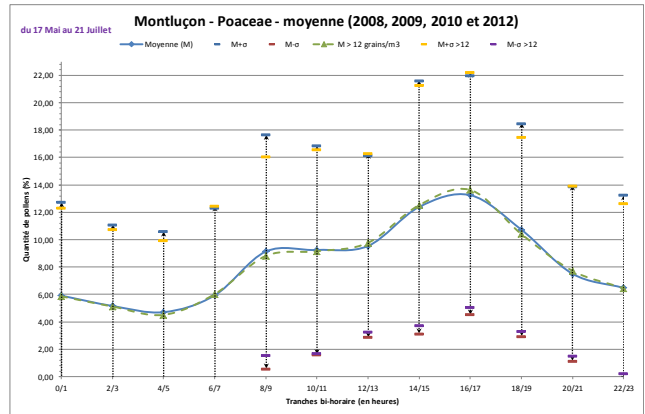
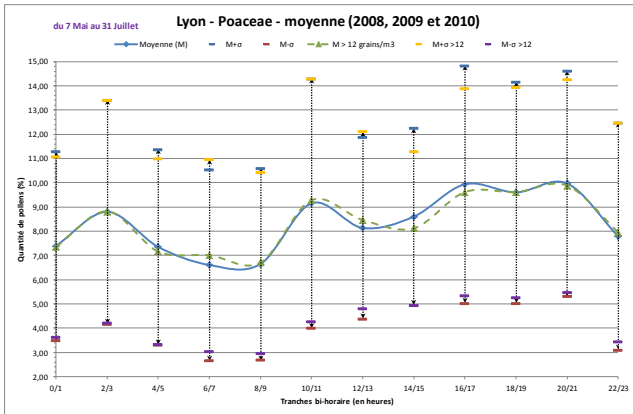
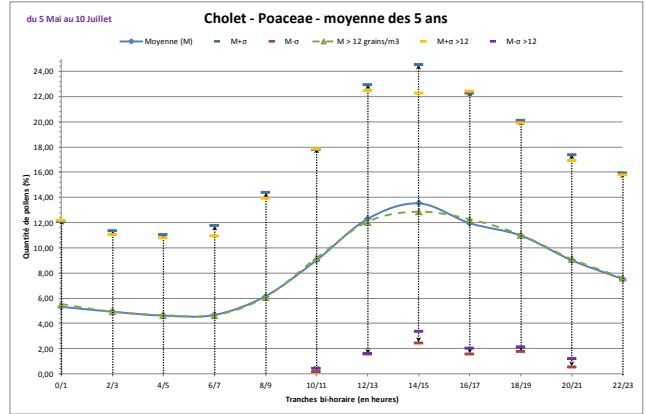
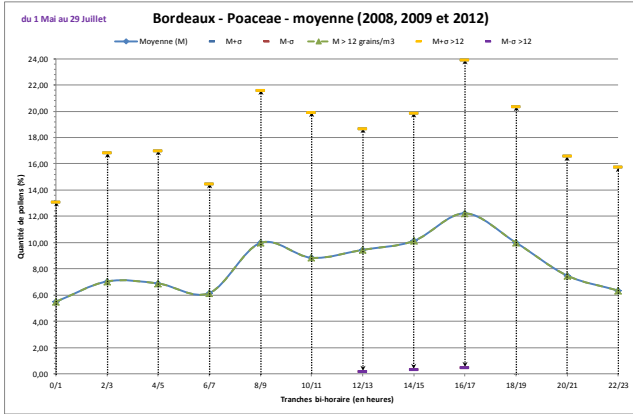
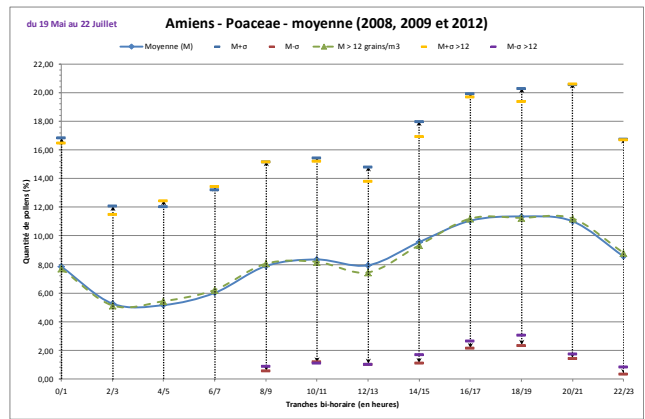
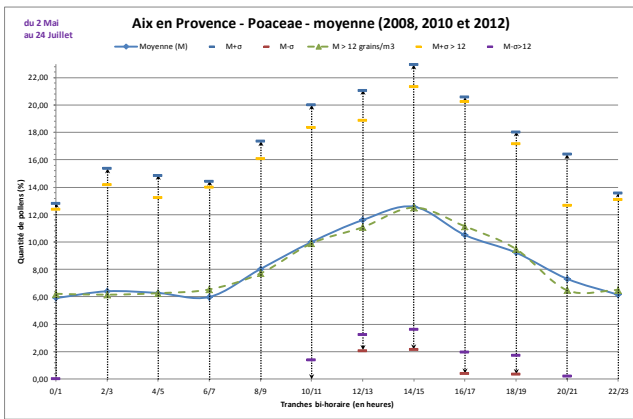


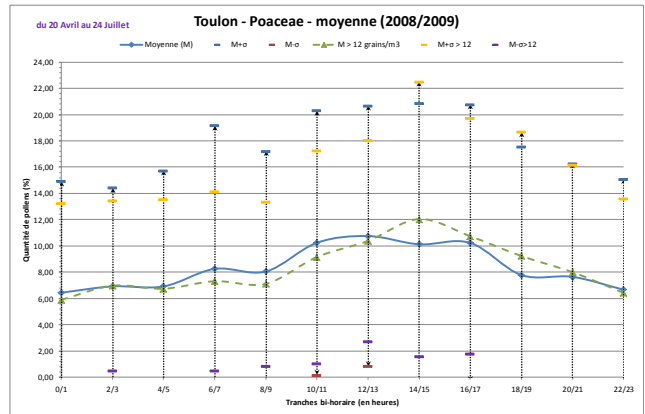
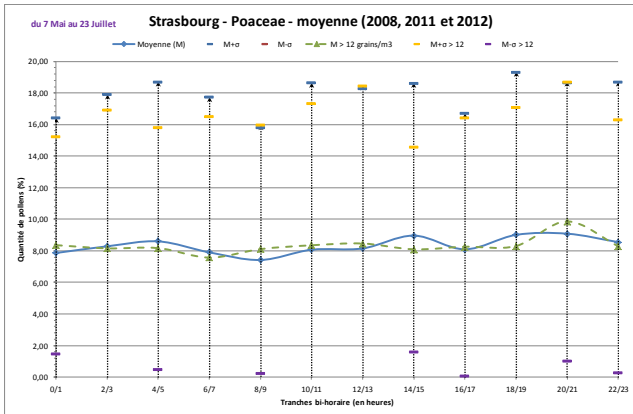
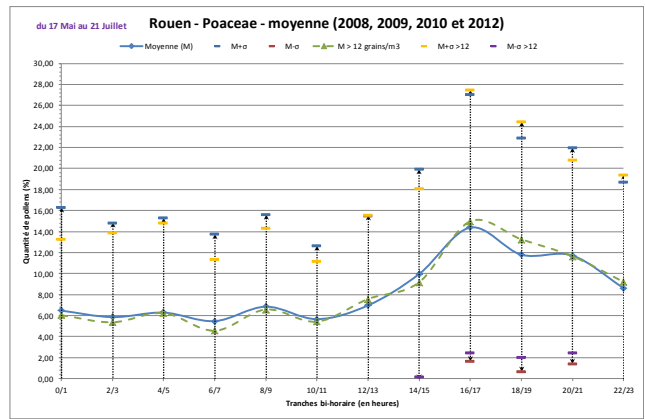
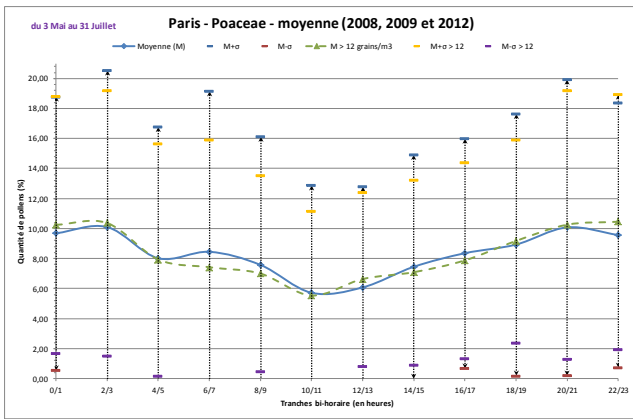
CUPRESSACEAE-TAXACEAE





POACEAE







Etude du rythme nycthémeral de la production des principaux pollens allergisants

Ce rapport de mission retrace la totalité du travail effectué au sein du R.N.S.A. pendant mon année d'alternance. Ce réseau étudie le contenu de l'air en pollens et moisissures et est chargé de recueillir les données cliniques associées afin d'observer l'impact des particules biologiques sur la santé.

La mission principale confiée a été la détermination des rythmes nycthémeraux de pollinisation de 4 pollens allergisants, les Cupressacées-Taxacées, le Bouleau, les Graminées et l'Ambroisie sur les différents climats présents sur le territoire français sur ces 5 dernières années. Cette étude regroupe pas moins de 10 villes : Amiens, Aix en Provence, Bordeaux, Cholet, Lyon, Montluçon, Paris, Rouen, Strasbourg et Toulon.

Pour mener à bien cette mission, les données polliniques issues de la base de données du R.N.S.A ont permis une détermination graphique des pics horaires de pollens. Ces pics sont dessinés par des courbes moyennes lissées par villes et par taxons. Ils représentent les fortes quantités de pollens pendant la journée, où le seuil de concentration de l'apparition des symptômes est atteint. Ces symptômes représentent des risques allergiques de plusieurs niveaux de gravité telle que, les rhinites et conjonctivites pour les bénignes, mais également l'asthme pour les plus graves.

Pour un résultat global, une courbe moyenne finale a été établie pour représenter le taxon au niveau national. Les résultats ont montrés que les Cupressacées-Taxacées pollinisent plutôt en journée et pendant l'après-midi. Le Bouleau à un cycle diurne de pollinisation très irrégulier. Les Graminées ont un rythme circadien très aléatoire entre chacune des villes. Seul Paris représente une situation particulière avec des taux polliniques nocturne. Enfin l'Ambroisie pollinisent de la fin de matinée jusqu'en début de soirée dans certains cas.

Afin de poursuivre ce projet et de permettre d'aboutir à un sujet de publication, il peut être proposé d'inclure dans les paramètres lors des déterminations graphiques : la hauteur du capteur par rapport au sol et les conditions météorologiques (températures maximales et minimales, humidité relative, vitesse du vent et direction du vent).

La seconde partie de mon travail s'est orientée sur l'étude du contenu de l'air en particules biologiques pouvant avoir un impact sur la santé. Pour mener à bien ses diverses tâches, des compétences théoriques (reconnaissance des pollens) et pratiques (préparation de réactifs et de lames) dans le domaine de l'Aérobiologie et de Palynologie m'ont été enseignées.

Mots clés : Pollens, Allergies, Rythme nycthémeral



Study of the circadian rhythm of production of the main allergenic pollen

This project report traces the entire work within the RNSA during my year of alternating training. The This project report traces the entire work within the RNSA during my year of alternating training. The network studies the pollen and mold content of the air and is responsible for collecting clinical data in order to observe the health impact of biological particles.

The main task was to determine the pollination circadian rhythms of four allergenic pollens on the different climates of the French territory in the last 5 years: *Cupressaceae-Taxaceae*, birch, grasses and ragweed. This includes 10 cities: Amiens, Aix-en-Provence, Bordeaux, Cholet, Lyon, Montluçon, Paris, Rouen, Strasbourg and Toulon.

To carry out this work, I used the pollen data from the RNSA database to determine a graphical schedule of pollen peaks. These peaks are drawn by the average curves smoothed by cities and taxa. They represent large amounts of pollen during the day, when the concentration threshold of the onset of symptoms is reached. These symptoms are various levels of severity such as rhinitis and conjunctivitis for the most benign, but also asthma for the most sensitive people.

In order to obtain a comprehensive result, a final average curve was established to represent the taxon at the national level. The results showed that Cupressaceae- Taxaceae pollinates rather during day and the afternoon. The birch has a diurnal cycle of very irregular pollination. Grasses have a very random circadian rhythm between each city. Only Paris is a special case with pollen night rates. Finally Ambrosia pollinates from late morning until early evening in some cases.

To continue this project and allow reaching a subject of publication, it can be proposed to include in the graphics settings (when determinations): the height of the trap relative to the soil and weather conditions (maximum and minimum temperatures, relative humidity, wind speed and wind direction).

The second part of my work focused on the study of how the biological particles content of the air may have a health impact. To carry out these various tasks, I was taught theoretical (recognition of pollen) and practical (preparation of reagents and slides) skills in the field of Aerobiology and Palynology.

Keywords: Pollen, Allergies, circadian rhythm