



SOLUTIONS
POUR
**NOTRE
AIR**

**Expérimentation
«Pollens» - Étude
bibliographique :
Solutions innovantes
de métrologie des
pollens et des spores
fongiques**

Juin 2023



ETUDE POLLENS_IDF

Etude Bibliographique

Solutions innovantes de métrologie des pollens et des spores fongiques

14/06/23

Table des matières

A.	LA METHODE « HIRST ».....	4
B.	CAPTEURS AUTOMATIQUES : LES PRINCIPES DE METROLOGIE	5
1.	LA MICROSCOPIE DIGITALE.....	5
1.1.	POLLENSENS.....	5
1.2.	BAA500.....	5
2.	L'HOLOGRAPHIE	6
2.1.	SWISENS POLENO MARS.....	6
3.	FLUORESCENCE INDUITE PAR LA LUMIERE	12
3.1.	WIBS-NEO.....	12
3.2.	PLAIR RAPID-E	13
3.3.	OBERON AEROTAPE	13
3.4.	SWISENS POLENO JUPITER.....	14
4.	DIFFUSION ELASTIQUE DE LA LUMIERE	17
4.1.	KH-3000.....	17
C.	TECHNIQUES DE TRAITEMENT DES IMAGES.....	18
1.	HUND-WETZLAR BAA500	18
2.	PLAIR RAPID-E	19
3.	POLLENSENSE APS.....	19
4.	SWISENS POLENO.....	19
5.	DROPLET MEASUREMENT TECHNOLOGIES WIBS	19
6.	YAMATRONICS KH-3000.....	20
D.	ANNEXE 1	21
	PRESENTATION DE LA TECHNOLOGIE DEVELOPPEE PAR LIFYAIR.....	21
	« Introduction ».....	21
	« Courbes de polarisation ».....	23
	« Courbes d'intensité ».....	24
	« Discussion »	26
	« Conclusion »	26
E.	ANNEXE 2 : REFERENCES	27

A. La méthode « Hirst »

Lorsqu'il a été utilisé pour la première fois dans les années 1950, le piège de Hirst a représenté un bond en avant considérable en termes de capacité d'observation, car avant son développement, seuls des échantillonneurs passifs sans contrôle de flux ni résolution temporelle étaient disponibles (Hirst, 1952). Depuis lors, la grande majorité des études aérobiologiques ont utilisé des pièges volumétriques basés sur le modèle de Hirst. Il convient toutefois de noter que, malgré leur utilisation généralisée, les recherches menées depuis lors ont montré que l'échantillonneur de Hirst présentait un certain nombre d'inconvénients, notamment :

- Le débit d'air : selon la méthode utilisée pour régler le débit d'air, un biais et/ou une erreur d'environ 30 % sont courants. Cette erreur peut être contournée en utilisant un débitmètre sans résistance pour ajuster la pompe Hirst chaque fois que cela est nécessaire (Oteros et al., 2016).
- La distance entre l'entrée et la surface de dépôt est critique pour un impacteur, cependant, aucune procédure ni recommandation pour contrôler périodiquement cette distance n'a été publiée.
- Effet tsunami : pendant la préparation d'un échantillon pour le microscope, le pollen peut changer de position ou être entièrement éliminé (Galan et al., 2014).
- Sensibilité des colles à la température ambiante : le pollen adhère différemment en fonction de la température. En outre, différentes colles ont des propriétés adhésives différentes (Maya-Manzano et al., 2016).
- L'incertitude relative diminue avec la surface échantillonnée de la lame. Une erreur de plus de 30 % est signalée (Smith et al., 2018 ; Adamov et al., 2021), principalement lorsque la zone échantillonnée est inférieure à la recommandation minimale de 10 % (Galán et al., 2014).
- Lors de très forts pics polliniques, il peut y avoir plusieurs couches de grains de pollen, dont certains peuvent ne pas arriver à toucher la surface adhésive et donc se perdre.
- Erreur humaine : il est généralement admis que l'erreur humaine associée à l'identification et au comptage des grains de pollen est d'environ 30 % (Smith et al., 2018).
- L'efficacité de l'échantillonnage varie en fonction de la vitesse du vent et des propriétés physiques de la particule, en particulier la taille (par exemple, Frenz 2000 ; West et Kimber, 2015), car l'approche n'est pas isocinétique.
- Il n'existe actuellement aucun "étalon-or" permettant de tester de manière approfondie les nouveaux instruments automatiques. Il est donc important que les erreurs susmentionnées soient corrigées ou, à tout le moins, prises en compte lors de toute comparaison.

B. Capteurs automatiques : les principes de métrologie

1. LA MICROSCOPIE DIGITALE

Les microscopes numériques ne diffèrent des microscopes optiques traditionnels que dans le sens où un appareil photo numérique est utilisé pour obtenir des images de la surface sur laquelle les particules sont tombées. Habituellement, des images à différentes profondeurs focales sont prises et empilées pour fournir une image unique avec une profondeur de champ étendue afin d'améliorer l'identification des particules. Les images sont analysées par un ordinateur qui isole les particules d'intérêt en utilisant des méthodes de reconnaissance d'image. Les concentrations dans l'air sont estimées en utilisant le nombre de particules par surface de dépôt et le volume d'air échantillonné. Le taux d'échantillonnage dépend donc du volume d'air et de la proportion de la surface analysée, ainsi que de l'efficacité de l'impaction. Cette technique est utilisée dans le BAA500 ([Un réseau robotique opérationnel de surveillance du pollen basé sur la reconnaissance automatique d'images - ScienceDirect](#)) et le Pollensense.

1.1. POLLENSENS

Il utilise une technologie automatique de détection du pollen en temps réel.

Il utilise un film pour capturer les particules en suspension dans l'air qui sont ensuite imagées à travers une caméra et un microscope. Les images sont ensuite traitées en utilisant l'intelligence artificielle pour valider et identifier les particules imagées. Pollensens possède actuellement des bibliothèques de plus de 30 différents pollens et 10 types de moisissures. Toutes les données sont alors rapportées en temps quasi réel sur le « Pollen Sense Portal » où les images et les données peuvent être visualisées par l'utilisateur.

Il y a un délai d'environ 90 secondes entre le moment où l'échantillon est prélevé, imagé et identifié et le moment où il est téléchargé dans le Pollen Sense Portal.

Les constructeurs indiquent que 3-5 ans peuvent s'écouler sans qu'il y ait besoin de remplacer une pièce. La consommation électrique est de 15W.

275 systèmes de ce type ont déjà été installés.

1.2. BAA500

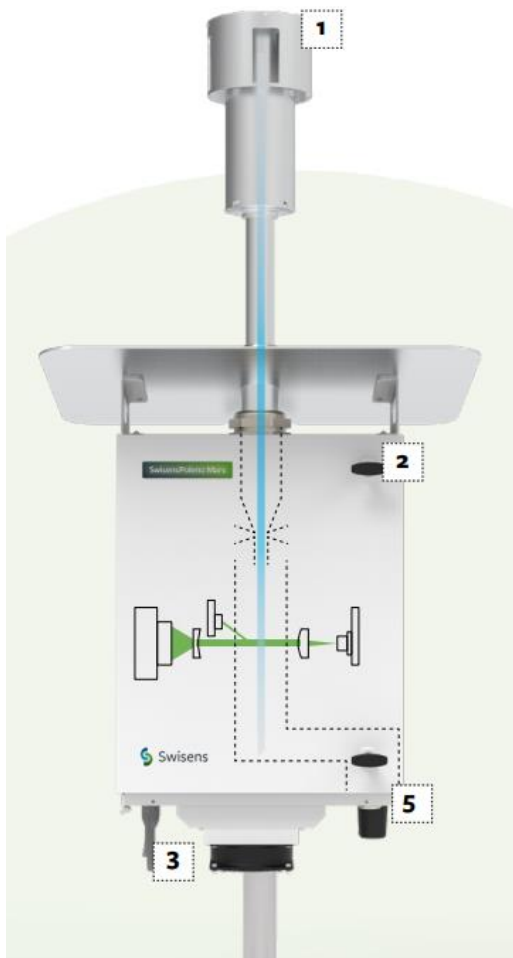
Le BAA500 échantillonne l'air collecté en moyenne à 100 l/min soit dix fois plus que le Hirst. Le Hund-Wetzlar BAA-500 automatise essentiellement le processus manuel standard actuel, l'air est pompé à travers l'instrument et les échantillons sont sur des lames de verre, qui sont ensuite analysées à l'aide d'un microscope optique et un système d'analyse d'images. Huit positions focales sont balayées à travers la verticale et, en général, environ 25 % de la surface de la lame est échantillonnée. L'air est pompé à travers le dispositif à 100 l/min, la pompe étant mise en marche toutes les dix minutes pendant une minute. Le mécanisme d'échantillonnage exclut la plupart des particules les plus petites (diamètre aérodynamique < 10 µm) à l'aide d'un impacteur virtuel afin de garantir que les lames restent aussi propres que possible pour accélérer l'analyse ultérieure des images.

Les données de surveillance en direct peuvent être étiquetées manuellement pour améliorer les performances du logiciel d'analyse. L'appareil est actuellement utilisé dans le réseau ePIN de l'État allemand de Bavière et s'est révélé capable d'identifier un certain nombre de taxons de pollen et certaines spores (Oteros et al, 2020). Les concentrations de pollen pour les différents taxons ont été obtenues à partir du logiciel commercial installé sur l'appareil.

2. L'HOLOGRAPHIE

Les hologrammes sont des enregistrements d'un champ lumineux sous la forme d'un motif d'interférence plutôt que d'une image formée par une lentille. Ils sont généralement produits à l'aide d'un faisceau laser qui illumine un objet, par exemple un grain de pollen, ainsi que la référence. Le faisceau de référence et la lumière diffusée par l'objet forment ensemble une figure d'interférence qui est enregistrée, dans le cas de l'holographie numérique, par un réseau de capteurs. Les interférogrammes résultants peuvent alors être utilisés pour reconstruire une image 3D de l'objet original mais peuvent également fournir des informations supplémentaires, par exemple la taille des particules, potentiellement utiles pour la discrimination entre les particules d'intérêt. Cette technique est utilisée dans le Poleno.

2.1. SWISENS POLENO MARS



La concentration de pollen étant très petite dans l'air par rapport aux autres particules (**10-10000 grain de pollen par mètre cube**), le taux d'échantillonnage doit être élevé. **Le pollen provoquant l'allergie d'un individu est encore plus discret** (quelques unités à quelques dizaines par mètre cube dépendant du taxon).

Dans le Swisens Poleno, ce niveau d'échantillonnage est atteint à l'aide d'un concentrateur basé sur le principe d'un impacteur virtuel qui permet un débit de 40 L/min.

Il est donc facile d'atteindre les concentrations correspondant aux seuils d'exposition au pollen avec ce taux d'échantillonnage.

Suite d'opérations avec détection et identification des particules individuelles :

- Passage dans un concentrateur qui focalise le flux de particules sur une veine fluïdique
- Détection individuelle par diffusion qui active un imageur dual

- c. Activation de l'imageur (2 angles de vues à 90°) de la particule avec une vision « holographique » de chaque particule détectée.

L'**holographie** est un procédé d'enregistrement de la phase et de l'amplitude de l'onde diffractée par un objet. Ce procédé d'enregistrement permet de restituer ultérieurement une image en trois dimensions de l'objet. Ceci est réalisé en utilisant les propriétés de la lumière cohérente issue des lasers.

Pour le principe de base, le système récupère les images holographiques des aérosols, utilise un algorithme « two-step » pour déterminer le taxon (espèce). L'algorithme permet la reconnaissance de plus de 30 espèces de pollen et 11 spores.

Première étape de l'algorithme :

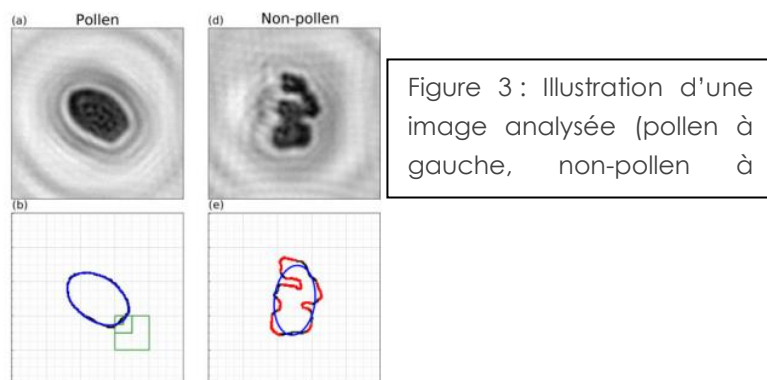
En général, les particules biologiques ont une forme lisse et convexe, tandis que la poussière, les débris ou d'autres particules non biologiques ont des formes plus rugueuses, plus chaotiques (voir, pour exemple, Fig. 3). Deux méthodes d'analyse d'images (silhouette et fractale) ont été élaborées et évaluées pour sélectionner les meilleures méthodes pour distinguer le pollen des autres particules détectées. Les deux utilisent le contour de chaque particule, qui est extraite à partir des images holographiques reconstruites.

En trois étapes :

- Les pixels sont séparés en deux classes à l'aide de l'algorithme de binarisation d'Otsu (Méthode d'Otsu — Wikipédia (wikipedia.org)), qui est basé sur un seuil de tension dynamique.
- Le plus grand groupe correspondant aux particules d'intérêt est alors identifiée.
- Une opération de convolution extrait le contour de la particule.

La première étape pour l'identification biologique des particules utilise la bibliothèque OpenCV2 (Bradski, 2000) pour s'adapter à un contour elliptique.

Identification des particules biologiques en fonction de sa différence de forme avec la forme elliptique de référence (en bleu sur Fig.3).



Estimer la dimension fractale d'un objet à partir d'une image holographique est sensible à la résolution de l'image, qui a une influence importante sur la détermination de la dimension fractale (voir Baveye et al., 1998). En effet, des images plus détaillées ont tendance à améliorer l'estimation de la dimension fractale d'un objet à mesure que les détails du contour deviennent apparents.

Des images à haute résolution devraient être disponibles dans les futures versions de Poleno, la méthode de la dimension fractale peut être utile. À ce stade, étant donné la meilleure précision de la technique d'ajustement ellipse, nous utilisons cette méthode dans le dernier algorithme.

Le modèle utilisé pour classer les grains de pollen est basé sur l'architecture VGG16, qui a été appliqué avec succès à un large éventail de problèmes de classification des images (Russakovsky et al., 2015). Le modèle de base est représenté à la fig. 4, le modèle de vision étant appliqué séparément aux deux images orthogonales.

Deuxième étape de l'algorithme :

Une fois qu'une particule a été identifiée comme un grain de pollen, elle a besoin d'être classée dans le taxon approprié. À l'aide du « convolutional neural network » (CNN), une particule est assignée à un taxon spécifique.

Les résultats du modèle de classification sont présentés comme une matrice de confusion (Matrice de confusion — Wikipédia (wikipedia.org)) normalisée dans Fig. 6. La somme de chaque ligne est normalisée à 1, et les valeurs diagonales indiquent le rappel pour les différents taxons polliniques. Dans l'ensemble, l'algorithme de classification fonctionne très bien, avec six des huit taxons polliniques classés avec une teneur en pollen supérieure à 90 %. Les exceptions sont Corylus (noisetier), qui est confondu dans 10 % des cas avec Fraxinus (frêne), et Dactylis (graminée), qui est confondu 22 % du temps avec Corylus.

Néanmoins, un plus grand mélange de pollen est susceptible d'être observé dans la réalité, mettant en évidence la nécessité pour des développements ultérieurs de l'algorithme d'une classification en un plus grand nombre d'espèces, y compris le pollen frais. En cette ligne, il sera essentiel d'inclure le bouleau dans l'algorithme d'identification (pas spécifiquement le bouleau dans l'algo mais famille des bétulacées). Cela peut toutefois s'avérer difficile étant donné les similitudes morphologiques des membres de la famille des bétulacées.

Pour mieux comprendre le fonctionnement du réseau neuronal du système, la fig. 7 présente des cartes de chaleur d'activation (Kotikalapudi et con tributors, 2017) des particules de pollen. Celles-ci montrent les parties de l'image sur lesquelles le réseau se concentre pour faire la prédiction des taxons. Dans notre cas, fortement sur le contour des particules.

Ceci peut être considéré comme un résultat évident mais confirme la validité de l'étape CNN de l'algorithme de classification et indique que les prédictions sont basées sur une caractéristique physique de la particule et non sur d'autres informations contenues dans les images.

Explication « Max pooling layer » : Max Pooling dans les réseaux de neurones convolutifs expliqué - deeplizard

Explication « CNN Layer » : Explication des réseaux de neurones convolutifs (CNN) - deeplizard

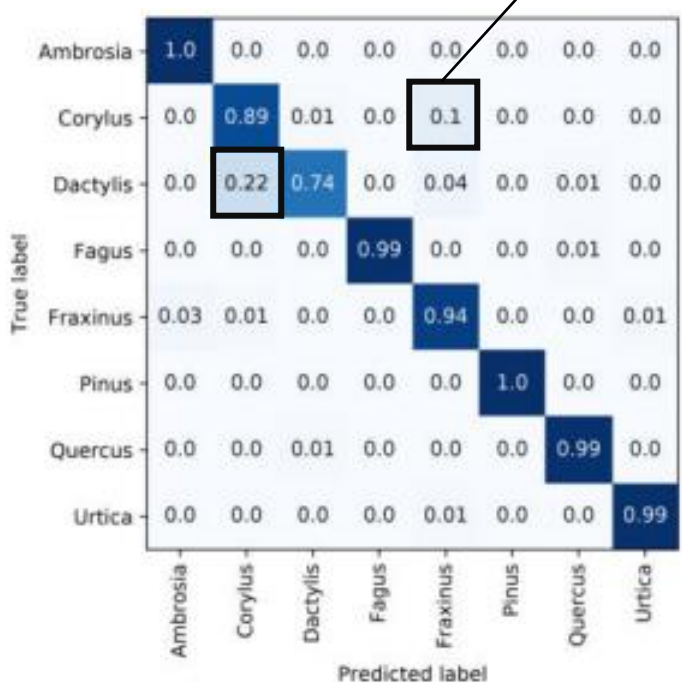
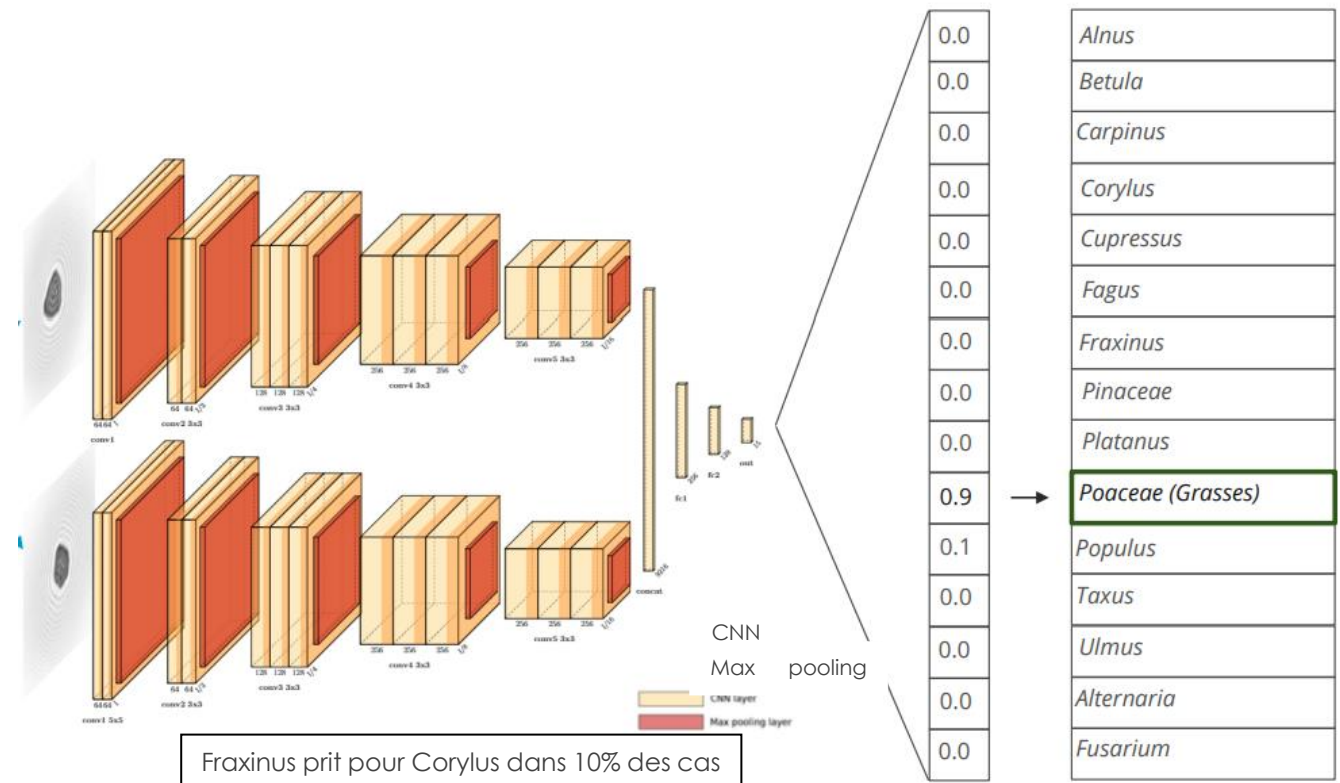


Figure 6. Normalized confusion matrix for the pollen taxa identification, the second step of the classification algorithm.

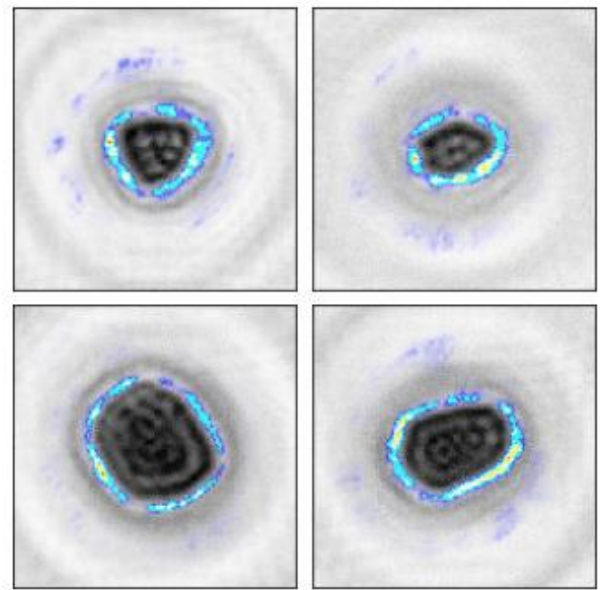
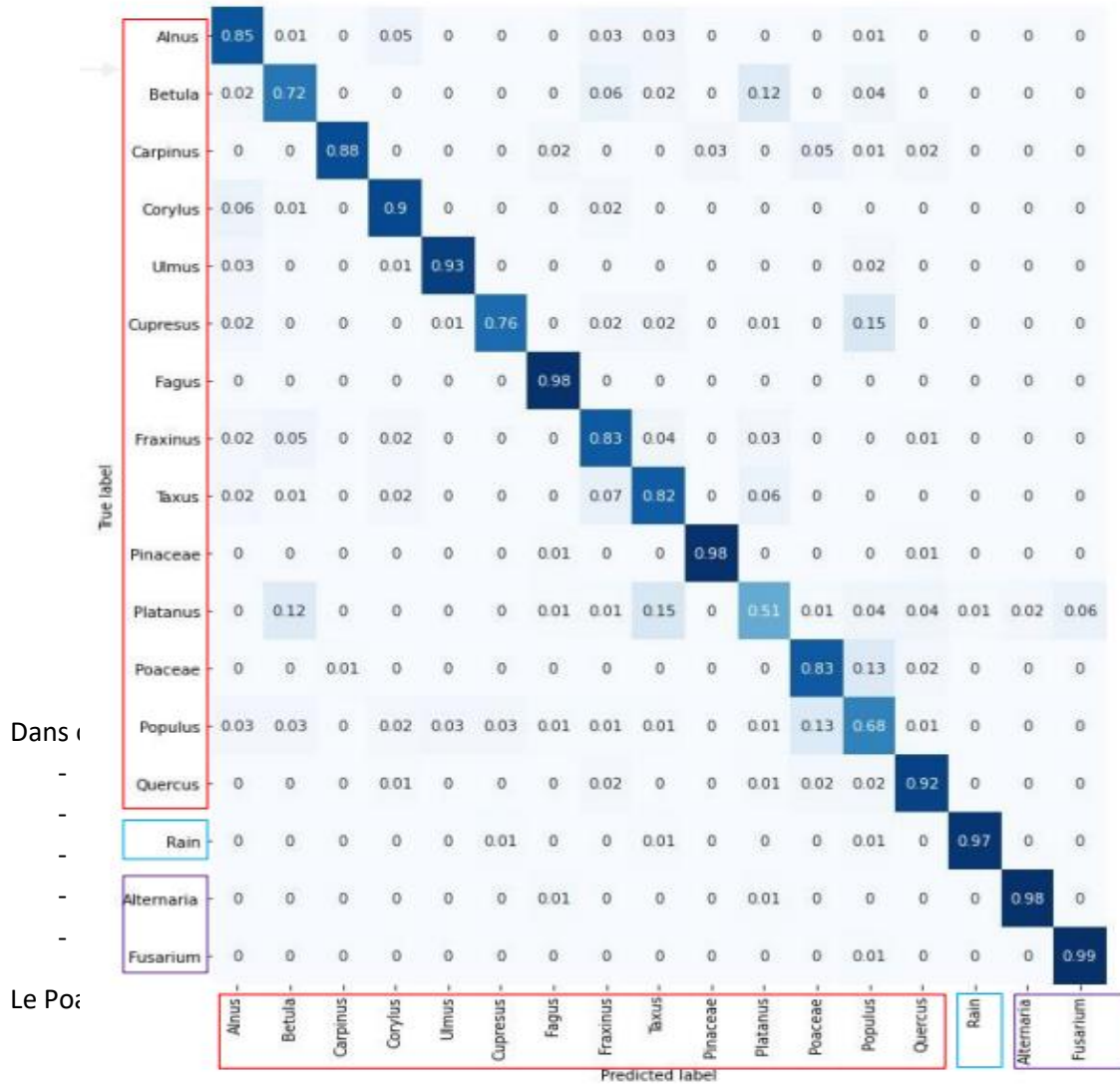


Figure 7. Visualization of the areas on which the convolutional neural network for pollen classification focuses.

Avec un autre document envoyé par Swisens, on a les résultats ci-dessous pour la matrice de confusion.



Transition de données :

La transmission des données peut se faire via une connexion câblée Ethernet ou via le réseau de données mobile. Un routeur mobile est intégré. Il suffit d'y ajouter une carte sim. Swisens dispose d'un logiciel de synchronisation des données brutes pour un réseau SwisensPoleno. Les données de mesure sont ainsi automatiquement synchronisées sur une base de données centrale. La capacité de mémoire disponible sur le SwisensPoleno suffit pour 3 à 6 semaines, selon la concentration de particules, et sert de tampon en cas d'absence de connexion à la base de données. Chaque SwisensPoleno Mars contient un PC industriel. Les données de mesure sont stockées dans la base de données interne du Poleno. Le client peut accéder au système via Internet et avec un accès protégé par un mot de passe.

SwisensPoleno Mars fournit les données de mesure au format JSON, qui sont faciles à comprendre. Swisens recommande l'échange de données brutes via la synchronisation de la base de données. Il existe également une interface REST-API pour l'accès à la base de données. Il peut s'agir de la base de données centrale ou de la base de données locale d'un instrument de mesure. REST API peut être utilisée pour lire périodiquement les valeurs de concentration et les utiliser ensuite dans une application ou sur un site web. De plus, il est possible de sauvegarder les données de mesure dans des fichiers. Cela permet d'importer, d'exporter et d'archiver des ensembles de données.

SwisensDataExplorer est un logiciel fourni par Swisens pour la visualisation, l'analyse et le traitement des données dans le navigateur web. L'exploitant du réseau dispose ainsi d'outils pratiques pour traiter les données. SwisensDataExplorer n'est toutefois pas une plateforme web accessible au public ou n'est pas conçu pour cette application. Le REST API est disponible pour la visualisation des données pour les utilisateurs finaux (dans ce cas, la population des Iles-De-Paris) sur une plateforme web. Cela permet d'accéder facilement aux données de la base de données. La visualisation doit être implémentée par le client lui-même.

Alimentation :

Les exigences en matière d'alimentation électrique pour le SwisensPolen Mars sont les suivantes : 100-240 VAC, 50/60 Hz. La puissance maximale est de 750 W en pointe. Ceci est atteint lorsque le système de climatisation interne doit refroidir au maximum et que le PC industriel interne mesure des concentrations maximales de particules. L'alimentation en courant continu est également possible. Les exigences sont 24VDC \pm 5%. La puissance maximale est de 240W (10A). Le principal consommateur est le système de climatisation, donc à des températures modérées, il est plutôt de 50-100W maximum, selon la charge du processeur. Pour l'installation, une borne de mise à la terre pour le paratonnerre est nécessaire.

Informations générales :

Le SwisensPoleno Mars est conçu pour être utilisé à l'extérieur, dans une plage de température comprise entre -20°C et +50°C, avec une humidité relative de 0% à 100%, dans un environnement non corrosif. Le cadre de base sur lequel le SwisensPoleno est monté dispose de plusieurs trous (diamètre 8 mm) pour fixer l'instrument au sol, afin que le vent ne puisse pas endommager le système. Sur le lieu de destination, il est nécessaire de prévoir un espace plat de 0,45m x 0,45m au sol avec quatre points de fixation. Le cadre de base peut ainsi être fixé au sol et le vent ne pose plus de problème.

Si la qualité de l'air est bonne, un intervalle de maintenance d'un an est suffisant.
18 instruments de ce type ont déjà été déployés en Suisse et une dizaine dans le reste du monde.

3. FLUORESCENCE INDUITE PAR LA LUMIERE

Certaines molécules, appelées fluorophores, deviennent fluorescentes lorsqu'elles sont excitées par la lumière à une longueur d'onde spécifique. Ce phénomène est généralement dû aux systèmes aromatiques conjugués qu'elles contiennent (par exemple, le tryptophane, la riboflavine) et peut indiquer que les particules proviennent d'une source biologique. Cette propriété est mise à profit dans la spectroscopie induite par la lumière, où une source lumineuse, le plus souvent un laser monochromatique, est utilisée pour induire une fluorescence dans les particules individuelles qui traversent le dispositif de mesure. Les longueurs d'onde des sources lumineuses sont généralement choisies pour correspondre aux largeurs de bande d'excitation d'un ou plusieurs fluorophores et la fluorescence résultante est mesurée sur les largeurs de bande d'émission correspondantes. Ce qui complexifie cette technique, c'est que de nombreux fluorophores peuvent être présents dans les particules biologiques en même temps ou en quantités variables au cours d'une saison, et que les signaux d'émission contiennent donc des informations sur toutes les molécules qui sont amenées à fluorescer. En outre, certaines particules non biologiques qui contiennent des hydrocarbures aromatiques polycycliques, comme les particules issues d'une combustion incomplète ou les microplastiques, peuvent également être fluorescentes, ce qui complexifie encore la différenciation des types de particules. En grande partie, cette technique a été utilisée simplement pour différencier les particules biologiques et non biologiques, bien que des instruments plus récents aient été utilisés pour caractériser divers types de particules biologiques (par exemple Perring et al., 2016). Ces techniques plus récentes s'appuient souvent sur des longueurs d'onde d'excitation multiples qui peuvent contribuer à améliorer la discrimination, bien que la caractérisation de différents taxons de pollen en utilisant uniquement cette technique n'ait pas été possible jusqu'à présent avec ces méthodes. Cette technique est utilisée dans le Rapid-E, le Poleno Jupiter et le WIBS.

3.1. WIBS-NEO

Le WIBS-NEO est le dernier de la série d'instruments WIBS et a été développé et fabriqué par Droplet Measurement Technologies (DMT). L'instrument utilise un laser de 635 nm pour déterminer la taille et l'asymétrie des particules optiques, tandis que deux lampes au xénon, qui sont déclenchées par le signal laser de dimensionnement et filtrées à 280 et 370 nm, excitent la fluorescence. Deux canaux de détection à large bande (310–400 nm et 420–650 nm) sont ensuite utilisés pour détecter trois bandes de fluorescence qui peuvent finalement être utilisées pour identifier divers types de particules. L'instrument fonctionne avec un débit de gaine de 2,1 L/min dont 0,3 L/min est échantillonné. Une description plus détaillée du WIBS-4, sur lequel le WIBS-NEO est basé, peut être trouvée ailleurs (Gabey et al., 2010; Healy et coll., 2012).

3.2. PLAIR RAPID-E

Le Plair Rapid-E est un cytomètre à flux d'air qui utilise un laser de 405 nm pour fournir des modèles de diffusion résolus dans le temps qui sont détectés par 24 détecteurs situés à des angles différents (± 45) ; la résolution temporelle des acquisitions de modèles de diffusion est de 1 μ s. En plus de la diffusion, un laser UV (337 nm) induit la fluorescence, qui est mesurée sur 32 canaux répartis dans une gamme spectrale de 350-800 nm (huit acquisitions séquentielles à 0,5 μ s d'intervalle). Enfin, la durée de vie de la fluorescence est enregistrée pour quatre bandes avec une résolution de l'ordre de la nanoseconde. L'air est échantillonné à travers l'instrument à un taux de 2,8 L/min (Kiselev et al., 2011, 2013). L'instrument et son prédécesseur (PA300) ont été utilisés pour identifier plusieurs taxons de pollen (Crouzy et al., 2016 ; Sauliene et al., 2019). Le Rapid-E a principalement été utilisé à des fins de recherche ainsi que pour un petit réseau de surveillance opérationnel entre la Serbie et la Croatie (Tesendic et al., 2020). Dans cette étude, nous utilisons un algorithme similaire à celui décrit dans Crouzy et al., 2016 pour extraire une série temporelle de concentrations moyennes de pollen total sur 1 heure. Alors que l'identification des taxons polliniques individuels nécessite la machinerie plus lourde des techniques d'apprentissage supervisé (réseaux de neurones convolutifs), une approche basée sur la physique est suffisante pour distinguer le pollen des autres particules. Pour ce faire, nous avons appliqué des seuils sur la taille des particules, que l'on estime être proportionnelle à la racine carrée de la lumière totale diffusée dans le régime géométrique (intégrale dans le temps et sur les 24 angles de diffusion). Nous avons ensuite restreint la sélection aux particules présentant un spectre de fluorescence induite bimodal, avec des seuils sur l'intensité des deux modes et des fenêtres bien définies pour leur position (voir Poehlker et al., 2013). Les moyennes horaires ont été obtenues en agrégeant les données obtenues sur une minute.

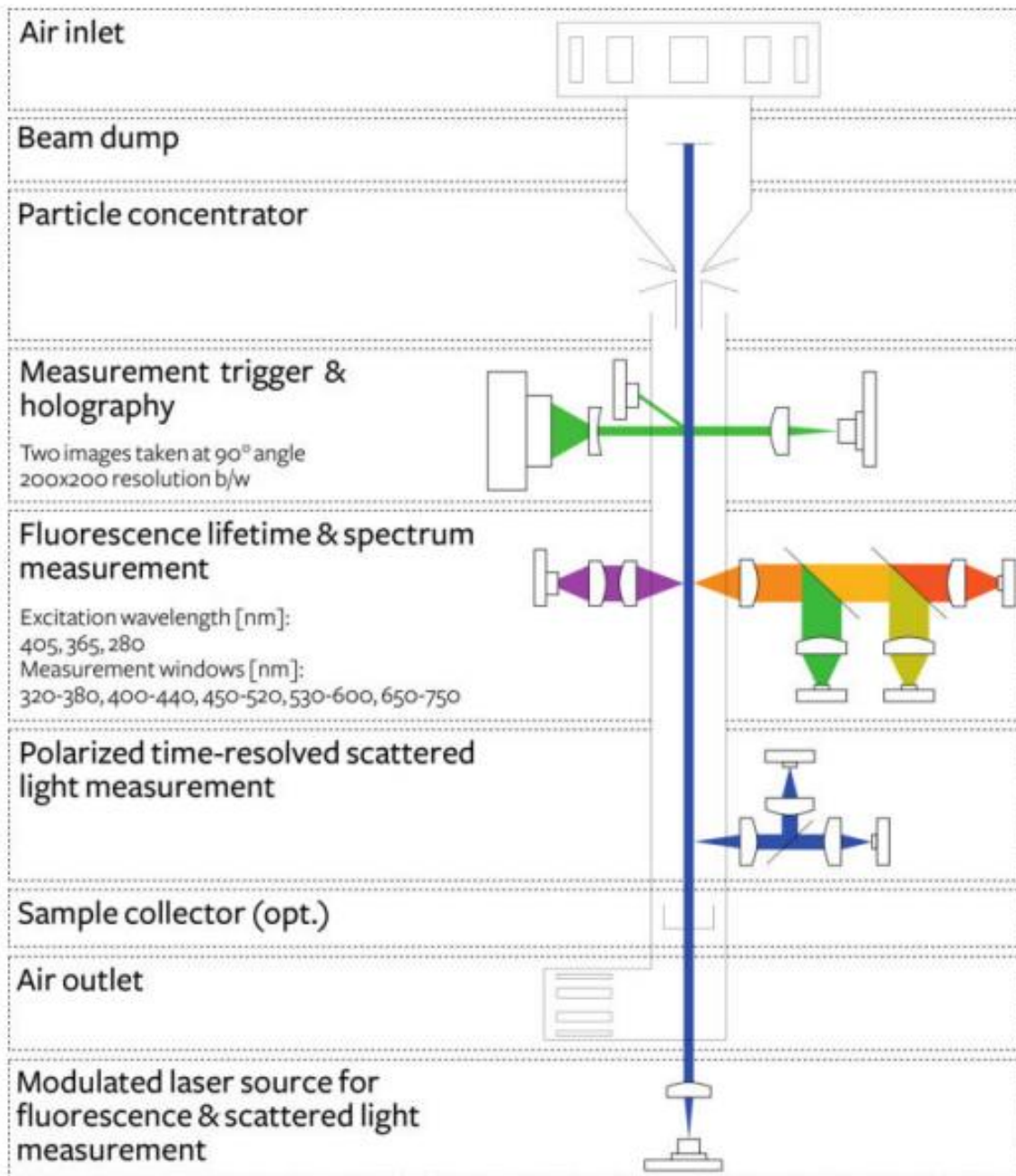
3.3. OBERON AEROTAPE

L'AeroTape est un analyseur d'aérosols IoT (Internet of Things) capable d'échantillonner les particules atmosphériques en suspension dans l'air dans la plage 500 nm - 200 μ m. Il s'inspire de la norme Hirst EN 16868-19 et est qualifié par rapport à celle-ci. L'AeroTape est doté d'un impacteur conçu pour précipiter les microparticules sur un ruban adhésif transparent qui est déroulé à différentes vitesses et modes (continu ou séquentiel) pour éviter la saturation de l'image. Cette méthode évite le surdépôt dans l'étage optique et permet ainsi l'échantillonnage d'environnements aérosols très concentrés. Ce principe permet à l'objectif de réaliser automatiquement des microscopies à lumière visible et fluorescente pour capturer des images en temps réel du matériau déposé. Les photographies peuvent être prises à une fréquence allant jusqu'à 0,5 Hz et sont ensuite envoyées à un serveur pour être traitées par une intelligence artificielle (IA) afin d'effectuer une discrimination bio/non bio en temps réel sur le mélange de particules, puis de réaliser la reconnaissance et le comptage des taxons de pollen. L'IA actuellement mise en œuvre est le réseau neuronal convolutif Inception v3 qui a une précision de 87 % pour la détection du pollen. En outre, les données de sortie peuvent être analysées en même temps que les informations météorologiques grâce à une station météorologique fixée au boîtier de l'AeroTape. Les techniques de mesure optique ont le potentiel de donner accès à une large

gamme de particules, qui peuvent être couplées à la puissance d'un réseau de dispositifs générant des données en temps réel - cependant, certains défis restent à relever. Par exemple, la fonction de distribution de taille nécessite que l'instrument soit calibré en utilisant des aérosols monodispersés. Les voies de développement comprennent également l'amélioration de l'IA ainsi que la mise en œuvre de nouvelles techniques de microscopie afin que l'utilisation de l'AeroTape puisse être étendue à de nouveaux problèmes scientifiques nécessitant de grands ensembles de données scientifiques.

Traduit avec www.DeepL.com/Translator (version gratuite).

3.4. SWISENS POLENO JUPITER



Le modèle Poleno Jupiter possède le même système d'identification par holographie que le Poleno Mars. En addition, le système est capable d'effectuer un deuxième contrôle en mesurant les propriétés optiques des particules.

L'indice UV fluorescent donne la polarisation de la particule analysée.

Il informe quant à la composition des particules. La durée de vie de l'indice UV fluorescent et les spectres de la fluorescence sont mesurés à trois longueurs d'onde d'excitation différentes (280, 365 et 405 nm), soit cinq fenêtres de mesure des émissions entre 320 et 720 nm.

Pour évaluer la précision des concentrations de particules observées avec le Swisens Poleno, une campagne de mesure a été réalisée à l'Institut fédéral suisse de métrologie (METAS). L'installation sur mesure de METAS a été décrite en détail dans le lien ([AMT - Characterization of steady-state fluorescence properties of polystyrene latex spheres using off- and online spectroscopic methods \(copernicus.org\)](https://www.copernicus.org/)).

L'objectif était de comparer le dispositif Poleno avec la concentration de particules de référence et des observations de fluorescence dans une chambre d'étalonnage contrôlée utilisant des sphères de latex de polystyrène (PSL). Différentes tailles, allant de 0,5 à 20 µm, ont été testées avec trois types de fluorescence PSL (bleu 2,07 µm, violet prune 2,07 µm, et rouge 2,07 µm) pour fournir un premier aperçu de la qualité des mesures de fluorescence. Pour chaque taille, les concentrations mesurées par le Poleno ont été comparées aux concentrations de référence. La fluorescence PSL utilisée ici ont été entièrement caractérisés par l'Institut Max Planck de chimie (MPIC) (Könemann et al., 2018) pour une large gamme de longueurs d'onde d'excitation.

Ceux correspondantes aux longueurs d'onde d'excitation Poleno ont été reproduites à la Fig. 8 et servent de référence pour les mesures de fluorescence. Depuis l'intensité de fluorescence est mesurée en unité arbitraire, la mesure de fluorescence assurée par le Poleno (points remplis) est mise à l'échelle des valeurs de référence MPIC (lignes pleines) en utilisant le maximum pour chacune des cinq fenêtres d'émission situées entre 335 et 700 nm.

Les résultats présentés ici sont encourageants, tant en termes des mesures de concentration des particules que de fluorescence.

Le Poleno semble très bien suivre les fluctuations en termes de concentration particulière, avec des valeurs de corrélation de Pearson de 0,905 et 0,916 respectivement pour les tailles de 5 et 10 µm (voir Fig. 8).

Des résultats similaires sont observés pour les autres granulométrie testée (non illustrée), indiquant que le Poleno mesure correctement la taille des particules certifiées PSL.

Il est important de noter, cependant, que les valeurs de Poleno ont été mis à l'échelle pour les valeurs METAS puisque le concentrateur de particules est de taille sélective, les particules plus grosses étant mieux échantillonnées. Une fois qu'une courbe d'échelle de taille a été établie, elle peut être appliquée efficacement à toutes les mesures futures, ce qui est une amélioration significative par rapport à la pratique actuelle de calcul des facteurs d'échelle pour les détecteurs de pollen automatiques à partir de mesures de type Hirst. (Vrai point)

Malgré le fait que le Poleno ne mesure pas un spectre continu d'émission de fluorescence, la Fig. 8 confirme qu'il fournit déjà un aperçu de la forme des spectres pour les différentes longueurs d'onde d'excitation.

Les signaux de fluorescence Poleno concordent bien avec les mesures de référence hors ligne effectuées au MPIC. Cinq fenêtres d'émission sont combinées avec l'holographique d'images, ce qui pourrait permettre d'étendre le nombre de types de particules qui peuvent être reconnus, peut-être un jour reconnaître les taxons polliniques, les spores ou les polluants avec cette méthode.

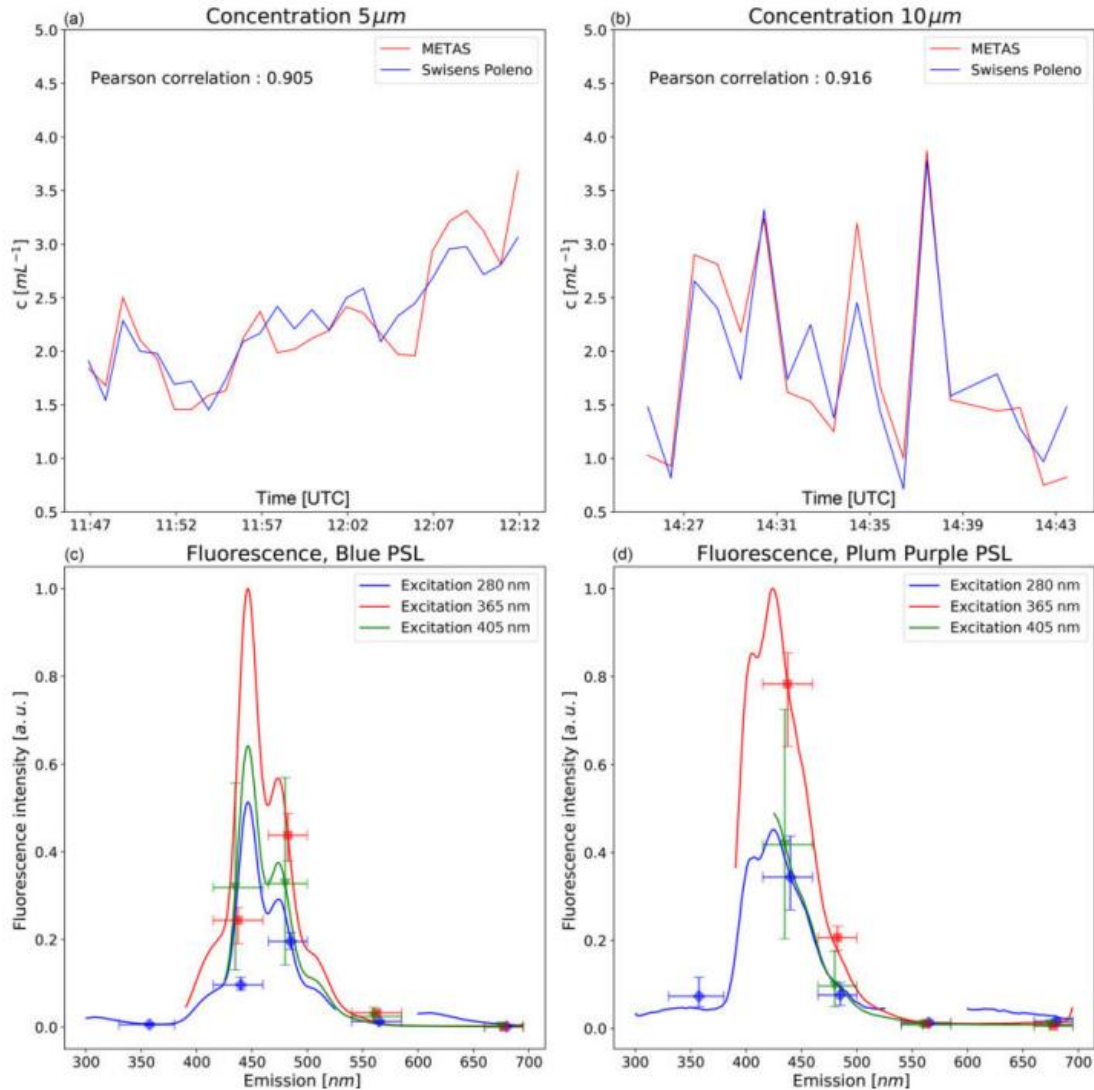


Figure 8. (a, b) Concentrations (5 and 10 μm PSL spheres) scaled to the METAS reference measurements in UTC. (c, d) Comparison of fluorescence measurements. Solid lines are the reference fluorescence intensities measured by the Max Planck Institute of Chemistry presented in Könemann et al. (2018). Median measurements from the Poleno are shown with error bars (interquartile range). Each excitation wavelength is scaled individually

4. DIFFUSION ELASTIQUE DE LA LUMIERE

La diffusion élastique se produit lorsque la lumière frappe une particule et est réfléchiée par la particule sans changer de longueur d'onde ; ceci se produit lorsque l'état de la particule qui diffuse reste inchangé. L'angle auquel la lumière est diffusée donne une indication sur la taille et la surface de la particule elle-même et cette caractéristique est utilisée pour déterminer la taille des particules et, dans une certaine mesure, leur forme dans la plupart des compteurs de particules. Cette technique est utilisée dans le Rapid-E, le Poleno Jupiter, le WIBS et le KH-3000.

Etude expérimentale à propos de cette méthode : <https://www.mdpi.com/1424-8220/22/13/4984>

Un résumé de cette étude peut être retrouvé en **Annexe 1**

4.1. KH-3000

Le dispositif Yamatronics KH-3000 utilise un laser de 780 nm pour produire des signaux de diffusion avant et latéral de toutes les particules qui passent dans le système à un débit de 4,1 L/min (Kawashima et al., 2007). Les signaux détectés sont utilisés pour estimer les diamètres optiques et le nombre de particules, comme décrit en détail dans (Kawashima et al., 2007). L'appareil est utilisé dans le réseau "Hanakosan" pour la surveillance nationale du pollen au Japon depuis 2002. C'est un instrument très robuste et peu coûteux qui fonctionne efficacement dans les conditions particulières du Japon, où les pollens allergènes dominants sont *Cryptomeria japonica* et *Cupressaceae*, tous deux émis à la fin de l'hiver avant la plupart des autres taxons. Bien que des tentatives aient été faites pour distinguer d'autres espèces de pollen dans d'autres régions, cela n'a pas été réalisé jusqu'à présent avec un haut degré de précision (Kawashima et al., 2017). Deux appareils différents ont été utilisés, un appareil à impulsion et un appareil régulier KH3000 (ci-après dénommés KH-3000-A et KH-3000-B, respectivement). L'appareil à impulsions (KH-3000-A) produit des intensités de diffusion latérale et avant en mV et une fenêtre d'extraction, qui peut être adaptée, est ensuite appliquée à ces données pour obtenir les concentrations de pollen pendant l'analyse. L'appareil régulier (KH-3000-B) est utilisé de manière opérationnelle et la fenêtre d'extraction est fixée à l'avance, seul le nombre de particules qui tombent dans cette fenêtre étant rapporté. Les moyennes horaires ont été obtenues en agrégeant les données d'une minute obtenues.

C. Techniques de traitement des images

La majorité des systèmes basés sur les images développées pour la surveillance aéroportée combinent trois tâches pour identifier les particules : la segmentation, l'extraction de caractéristiques et la classification (Holt et Bennett, 2014 ; Marcos et al. 2015). La segmentation est le processus de partitionnement d'une image numérique en plusieurs parties plus petites dans le but de simplifier une image en quelque chose de plus facile à analyser. L'extraction de caractéristiques consiste à définir un ensemble de mesures quantitatives dérivées des images ou des signaux utilisés pour la classification (Marcos et al. 2015 ; Sevillano et al. 2020). Ces caractéristiques peuvent être divisées en descripteurs morphologiques et géométriques discriminants tels que la symétrie, l'aire, le périmètre, la sphéricité des particules, la distance moyenne au centroïde, ou en descripteurs discriminants basés sur la texture tels que les matrices de cooccurrence d'échelle de gris ou les caractéristiques d'entropie (par exemple Arias et al. 2017 ; Kubik-Komar et al. 2018 ; Manikis et al. 2019) ; le nombre de caractéristiques extraites varie considérablement d'un dispositif à l'autre. Par la suite, des algorithmes de classification statistiques, d'apprentissage automatique ou d'apprentissage profond sont appliqués pour affecter automatiquement la particule cible isolée à un groupe taxonomique (famille, genre ou espèce). Les algorithmes les plus fréquemment utilisés comprennent l'analyse discriminante linéaire (LDA), le k-voisin le plus proche (KNN), les machines à vecteurs de support (SVM), les réseaux neuronaux à perceptron multicouche (MLP-NN), les réseaux neuronaux récurrents (RNN) et, plus récemment, les réseaux neuronaux convolutifs (CNN) (par exemple, Mokin et al. 2017 ; Arias et al. 2017 ; Sevillano et Aznarte 2018 ; Manikis et al. 2019).

1. HUND-WETZLAR BAA500

Le Hund-Wetzlar BAA500 utilise des techniques traditionnelles de reconnaissance d'images pour identifier les particules de pollen. L'instrument peut actuellement classer plus de 30 taxons de pollen, cependant, cela dépend du nombre de taxons pour lesquels le logiciel d'identification a été entraîné. Sur 15 types de pollen dont le nombre était suffisant pour évaluer les performances, la précision globale de la classification était de 91 % et la comparaison avec les observations manuelles quotidiennes sur toute une saison pollinique a montré de fortes corrélations positives de >0,84 pour 12 de ces taxons (Oteros et al., 2020). Pour certains taxons polliniques allergisants importants, le système doit être amélioré afin de réduire le nombre de détections faussement négatives (par exemple, environ 20 % du pollen de *Betula* a été classé à tort comme inconnu), mais la précision globale est relativement bonne (Oteros et al., 2020). Les résultats d'une étude menée à proximité ont montré des résultats similaires avec l'application de techniques d'apprentissage automatique, atteignant un taux de classification global (rappel) de >95% pour les 9 taxons les plus abondants (Schaefer et al., 2021).

2. PLAIR RAPID-E

Bien que le Plair Rapid-E n'enregistre pas d'images, l'analyse de ses signaux (c'est-à-dire la diffusion induite par laser, la durée de vie de la fluorescence induite par UV et les spectres) repose également sur le traitement avec des techniques d'apprentissage automatique (Crouzy et al., 2016 ; Sauliene et al. 2019 ; Tesendic et al., 2020). En effectuant des comparaisons côte à côte avec la méthode manuelle standard (EN16868:2019), le Rapid-E s'est bien comparé pour la saison pollinique principale, montrant une corrélation positive ($>0,7$) pour 11 des 24 taxons polliniques testés sur une période d'échantillonnage de 7 mois, de février à septembre (Tesendic et al. 2020). Toutefois, il convient de noter que pour certains taxons polliniques, les résultats peuvent être nettement meilleurs dans des conditions différentes, par exemple le lieu, la saison, le dispositif, l'architecture ANN, les classes à identifier (Sauliene et al. 2019 ; Chappuis et al. 2020 ; Daunys et al., 2021).

3. POLLENSense APS

L'analyse d'image est également utilisée par l'appareil PollenSense APS, l'instrument utilisant un algorithme d'apprentissage automatique pour identifier les différents taxons de pollen. Jusqu'à présent, les résultats obtenus avec cet instrument n'ont été publiés que sous la forme de résumés de conférence : dans une comparaison côte à côte avec des appareils manuels à rotorod, l'APS a montré des corrélations positives ($>0,7$) pour le pollen d'Ambrosia au cours de sa saison principale lorsque la performance de son identification a été testée pour des moyennes journalières (Dalan et al., 2020). Les résultats pour le pollen total, cependant, ont montré des correspondances limitées, les périodes de pointe étant plus longues par rapport aux observations manuelles de Hirst et du rotorod pour les moyennes quotidiennes sur une période de 3 mois (Lucas et Bunderson, 2019).

4. SWISENS POLENO

Selon la version, le Swisens Poleno enregistre une combinaison différente d'images holographiques, de durée de vie et de spectres de fluorescence induite par les UV, ainsi que de polarisation optique résolue dans le temps, qui peuvent être utilisés séparément ou combinés pour l'identification des particules. Des résultats récents utilisant uniquement les images holographiques et un algorithme d'apprentissage profond ont montré que l'identification de huit taxons de pollen choisis était très bonne, six des huit dépassant une précision de 90 % (Sauvageat et al., 2020). Une comparaison avec les observations manuelles (EN16868:2019) est en cours.

5. DROPLET MEASUREMENT TECHNOLOGIES WIBS

Un schéma de typage peut être appliqué aux données du dispositif Droplet Measurement Technologies WIBS pour différencier les particules biologiques (Perring et al., 2016). Le pollen est discriminé des autres bioaérosols en utilisant des seuils d'intensité de fluorescence dans chacun des quatre canaux et en ne sélectionnant que les particules d'une taille supérieure à $15\mu\text{m}$ (O'Connor et al., 2014). Par rapport aux mesures manuelles standard quotidiennes, une forte corrélation positive ($>0,9$) a été observée pour le pollen total sur des périodes de test de 8 à 12 jours.

6. YAMATRONICS KH-3000

Le Yamatronics KH-3000 est conçu pour quantifier les particules dans une gamme de taille prédéfinie (Kawashima et al. 2007), ce qui le rend peu utile pour la classification de différents types de pollen où la taille se chevauche notamment entre les taxons. Dans une configuration expérimentale, les ajustements des plages pour la zone rectangulaire à l'intérieur du diagramme de dispersion de l'intensité de la diffusion latérale par rapport à l'intensité de la diffusion vers l'avant ont indiqué une possibilité de distinguer six types de pollen (Kawashima et al. 2017), cependant, la comparaison avec la méthode standard (EN16868:2019) a montré une corrélation positive ($>0,7$) pour seulement trois de ces six taxons lorsque les moyennes quotidiennes sur la saison (3-9 semaines) de chaque pollen ont été considérées. Les performances étaient un peu meilleures pour le pollen total, avec des corrélations pour les moyennes quotidiennes allant de 0,78 à 0,87 pour trois années distinctes avec des périodes de surveillance de 2 à 5 mois (Kawashima et al., 2017).

NB :

Les résultats sont très aléatoires d'une étude à l'autre. Par exemple pour le Poleno, Le document technique (Sauvageat et al., 2020) nous dit que le système reconnaît les taxons avec 80% de vérité mais dans l'inter comparaison « Tummon2021_Aerobio_Intercomparaison2019 » les Polenos sont les moins performants de tous les systèmes mis en place (comparé au Hirst).

D. ANNEXE 1

Présentation de la technologie développée par Lifyair



Article

Towards an Automatic Pollen Detection System in Ambient Air Using Scattering Functions in the Visible Domain

Jean-Baptiste Renard ^{1,*}, Houssam El Azari ^{1,2}, Jérôme Richard ², Johann Lauthier ² and Jérémy Surcin ¹

¹ LPC2E-CNRS, 3A Avenue de la Recherche Scientifique, CEDEX 2, 45071 Orléans, France; houssam.elazari@lifyair.com (H.E.A.); jeremysurcin.pollutrack@protonmail.com (J.S.)

² LIFY-AIR, Le LAB'O, 1 Avenue du Champ de Mars, 45100 Orléans, France; jerome.richard@lifyair.com (J.R.); johann.lauthier@lifyair.com (J.L.)

* Correspondence: jean-baptiste.renard@cnrs-orleans.fr

Lien de la publication : <https://www.mdpi.com/1424-8220/22/13/4984>

Traduction de la publication par Google translate

« Introduction »

« Avec le capteur Hirst, en raison de la nécessité d'un traitement manuel, les informations sur le pollen sont décalées dans le temps de plusieurs jours et ne représentent pas bien les variabilités des sources de pollen et la dissémination des particules à une échelle locale.

Pour surmonter ces limitations, des méthodes automatisées ont été développées ou sont en cours de développement. Les exemples incluent des techniques combinant des concepts physiques tels que la spectroscopie infrarouge, la spectroscopie Raman, la spectroscopie fluorescente et l'holographie, ainsi que l'utilisation de modèles d'apprentissage automatique. Bien que fournissant des résultats prometteurs en temps réel, ces techniques restent incapables de répondre aux contraintes de coût et de miniaturisation nécessaires pour une meilleure couverture spatiale et des informations polliniques plus localisées (des milliers d'instruments seraient nécessaires). Un autre concept physique pourrait répondre à ces contraintes : la diffusion de la lumière dans le domaine visible. Certains laboratoires ont montré que la lumière diffusée par certains pollens pouvait être utilisée pour distinguer certaines familles de pollens d'autres, en discriminant ainsi les pollens par leurs propriétés de polarisation. En outre, des instruments peu coûteux reposant sur l'optique laser ont été développés et utilisés pour classer certaines familles de grains de pollen en récupérant leurs intensités de diffusion.

La détection possible de grains de pollen dans l'air ambiant urbain dans le parc André Citroën au sud-ouest de Paris (France) a été rapportée en utilisant le compteur optique d'aérosols LOAC, en considérant l'évolution temporelle des particules de plus de 15 µm.

Grâce à ses mesures de diffusion de la lumière effectuées à deux angles différents ($\sim 15^\circ$ et $\sim 60^\circ$), le LOAC peut également fournir une estimation de la typologie des particules en fonction de leur capacité à absorber la lumière.

Les mesures en laboratoire des propriétés de diffusion optique des pollens ont été effectuées à l'aide d'un gonio-photopolarimètre imageur PROGRA2 (acronyme français « PROpriétés Optiques GRains Astronomiques et Atmosphériques »). Il fournit les courbes de polarisation linéaire et de diffusion d'intensité pour un nuage de particules en lévitation avec des orientations aléatoires.

Les pollens maintenus en lévitation ont traversé un faisceau lumineux non polarisé produit par une lampe blanche halogène, un filtre dépolarisant et des filtres spectraux (domaine vert 525-585 ou domaine rouge 620-680 nm). Une fibre optique transportait la lumière jusqu'au flacon, dans lequel les particules étaient soulevées par une petite injection d'air juste avant les mesures. Un cube séparateur de faisceau polarisant a divisé la lumière diffusée par les particules en ses deux composantes : parallèle et perpendiculaire au plan de diffusion (I_{perp} et I_{para}). Ces flux ont été enregistrés par deux caméras synchronisées. L'utilisation de ces caméras nous a permis de rejeter les images où une diffusion multiple aurait pu se produire et ainsi biaiser les résultats. La résolution des caméras était d'environ $20 \mu\text{m}$ par pixel ; par conséquent, seuls les plus gros grains de pollen pouvaient être détectés individuellement. Les deux caméras de détection étaient montées à des positions fixes ; la fiole qui contenait l'échantillon était montée sur un dispositif de rotation pour faire varier l'angle de diffusion dans la plage de 15 à 170° entre les mesures. Les mesures ont été effectuées plusieurs fois à un angle fixe pour s'assurer qu'un bon pourcentage du nombre d'images pouvait être conservé. Les angles ont été modifiés par pas de 5° ou 10° . Une fonction de diffusion complète a pu être discernée par les mesures effectuées sur au moins 19 angles de diffusion différents.

La polarisation linéaire P (en %) a été extraite de chaque paire d'images enregistrées simultanément par les flux I_{perp} et I_{para} au-dessus d'un niveau seuil bien supérieur au niveau de bruit électronique, selon la formule suivante :

$$P = 100 \times (I_{\text{perp}} - I_{\text{para}}) / (I_{\text{perp}} + I_{\text{para}})$$

Une troisième caméra synchronisée a enregistré la lumière diffusée (I_{ref}) à un angle de diffusion constant de 90° - donc en rotation avec la fiole. L'intensité I (en unités relatives) a été récupérée après avoir divisé la somme des flux enregistrés par les deux premières caméras par le flux de la troisième caméra, en suivant la formule :

$$I = (I_{\text{perp}} + I_{\text{para}}) / I_{\text{ref}}$$

Enfin, toutes les mesures de diffusion d'intensité ont été divisées par les mesures obtenues dans la plage d'angle de diffusion de 15 - 20° , afin de rendre possible une comparaison directe de l'amplitude des courbes sans tenir compte de la taille des particules [24]. Cette procédure a également été motivée par le fait que l'intensité diffusée aux petits angles de diffusion pour les grains irréguliers est presque indépendante de la forme et de l'indice de réfraction des particules et ne dépend que de leur taille [19,25]. Au moins plusieurs dizaines d'images sont nécessaires pour retrouver les propriétés de diffusion moyennes des particules à un angle de diffusion donné. Ceci est obligatoire pour minimiser l'effet de la variabilité de l'intensité de diffusion produite par les particules individuelles [26] lorsqu'elles traversent le champ de vision des détecteurs. En fonction de leur couleur, certains pollens ne peuvent pas être étudiés dans le domaine vert car la sensibilité des caméras PROGRA2 est plus faible dans ce domaine que dans le domaine rouge, et ne peuvent donc pas nous permettre d'obtenir des images exploitables.

Au total, 21 espèces de pollen différentes ont été étudiées dans le domaine spectral rouge et 8 dans le domaine spectral vert. Bien que certains résultats prometteurs aient été obtenus pour des pollens

de forme régulière parfaite, la forme des pollens peut évoluer (aspect froissé). Ainsi, les propriétés de diffusion des pollens seront différentes des calculs de diffusion de Mie pour une sphère parfaite, et les tentatives potentielles de modélisation pourraient être compliquées. On peut donc s'attendre à des différences d'une espèce à l'autre.

Dans l'étude qui suit, nous avons considéré trois catégories principales de pollens : les pollens d'herbe, de mauvaises herbes et d'arbres (les courbes de diffusion des pollens d'herbe et de mauvaises herbes sont regroupées sur les mêmes figures tandis que les courbes de diffusion des pollens d'arbres sont sur des figures séparées dans le domaine spectral rouge). Leurs tailles varient de 15 μm à 100 μm (20-35 μm principalement). »

« Courbes de polarisation »

« L'évolution de la polarisation en fonction des angles de diffusion pour les 21 échantillons est présentée dans les Figures 4 et 5 pour les domaines spectraux rouges. Les valeurs de polarisation maximale - qui sont apparues pour des angles compris entre 80 et 100° - étaient relativement faibles, de l'ordre de 5 à 15 %. »

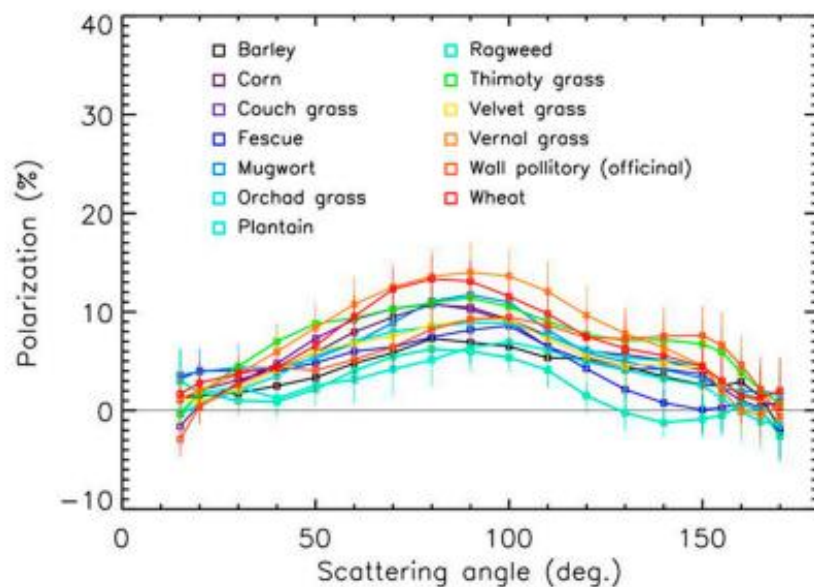


Figure 4. Polarization curves in the red domain for grass and weed pollens.

« Les valeurs de polarisation maximale augmentent souvent avec la taille des particules pour atteindre une sorte de valeur de saturation qui dépend de la nature de la particule [31]. En combinant les valeurs de polarisation maximale pour les 21 échantillons de pollen dans le domaine rouge et les 8 échantillons dans le domaine vert, de telles tendances ont pu être établies (Figure 7) malgré la dispersion provenant des différentes compositions et formes des particules. »

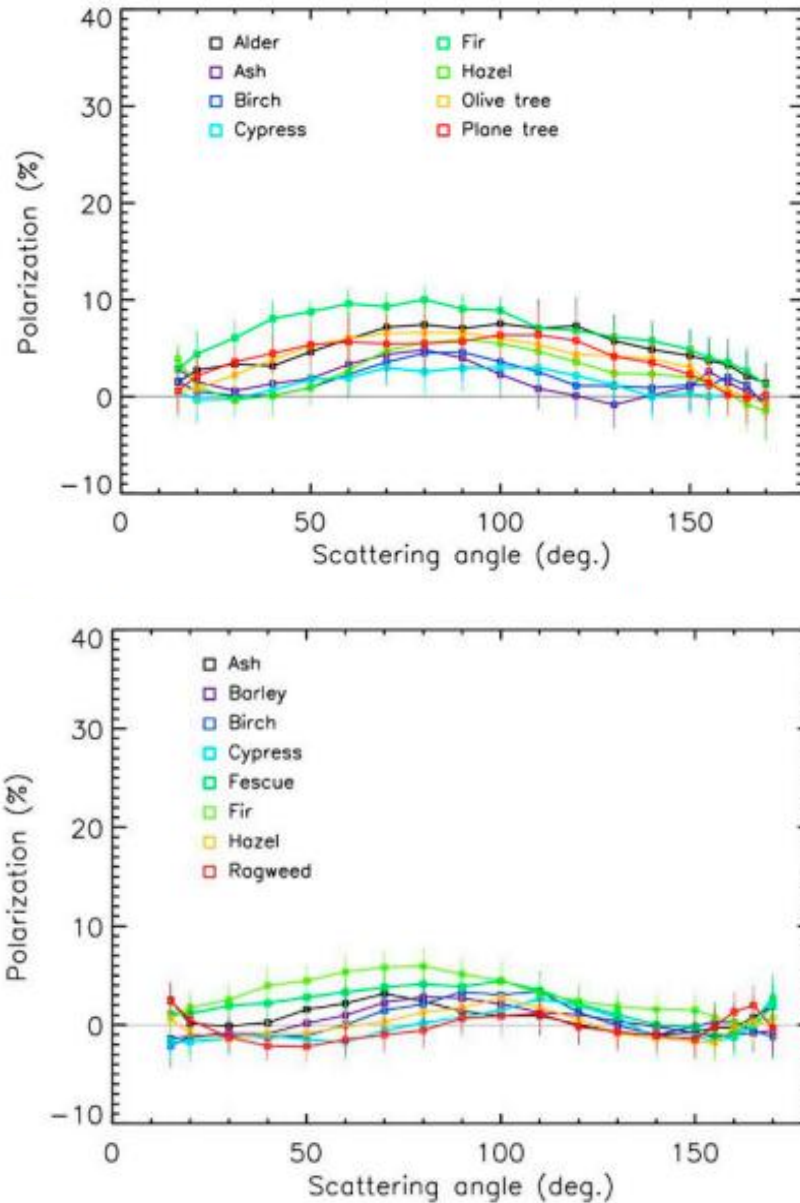


Figure 6. Polarization curves in the green domain.

« La courbe de polarisation du pollen ressemble à celle du sable.

La précision absolue devrait être de $\pm 1\%$ pour la mesure de polarisation, couplé à un instrument de comptage pour considérer l'effet de taille. »

« Courbes d'intensité »

« Les courbes de diffusion étaient beaucoup plus sensibles. Des variations allant jusqu'à un facteur 20 ont été observées pour des angles de diffusion supérieurs à 60° . Ces variations sont dues à la taille des particules (en général, les courbes sont plus plates quand la taille des particules augmente), mais aussi à la composition qui inclut l'indice de réfraction, la forme et la texture du pollen. »

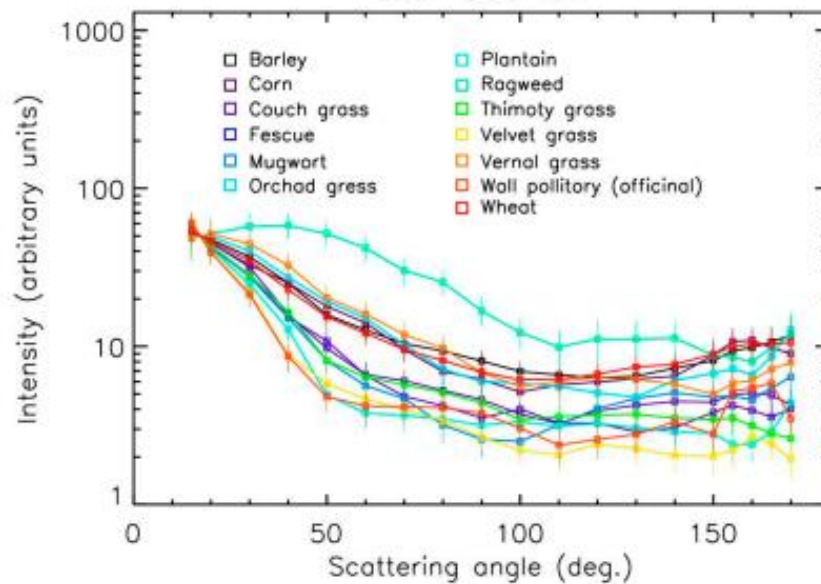


Figure 8. Intensity curves in the red domain for grass and weed pollens.

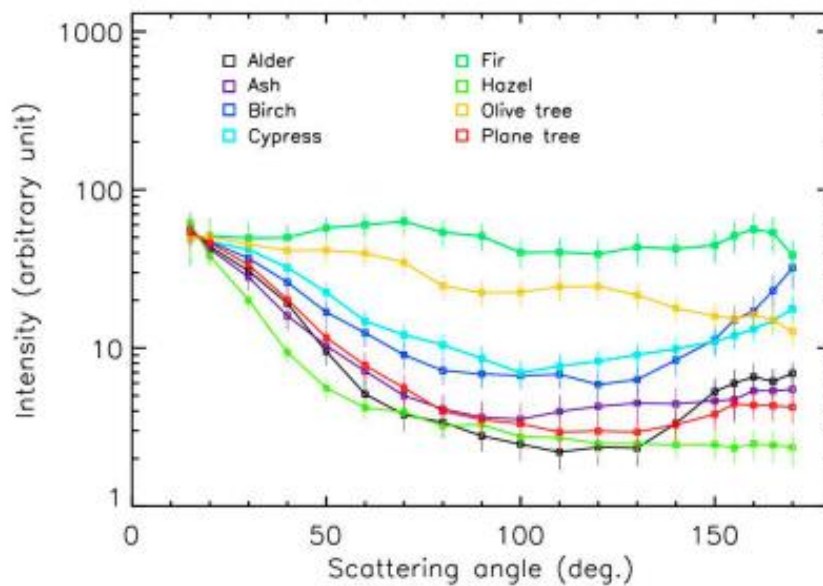


Figure 9. Intensity curves in the red domain for tree pollens.

« La courbe de l'ambrosie (Ragweed) présente un comportement particulier, avec une intensité presque constante entre les angles de diffusion de 15 et 60°, alors que les intensités diminuent fortement pour les autres échantillons. Cela pourrait être dû à la surface hérissée de l'échantillon. La courbe pour le pollen de sapin (Fir tree) était presque plate, ce qui pourrait être expliqué par la grande taille des particules dans la gamme 50-100 μm . Des résultats similaires ont été obtenus pour les mesures dans le domaine vert, sans différences significatives par rapport au domaine rouge ; nous ne considérerons donc ici que les mesures dans le domaine rouge. »

« Discussion »

Dans le but d'identifier les pollens dans l'air ambiant, il est nécessaire de comparer ces courbes de diffusion à celles d'autres familles de particules supérieures à 15 μm que l'on peut trouver dans l'air ambiant. Des particules carbonées agrégées et/ou compactes (carbone noir, carbone organique, suie) optiquement absorbantes, et des particules minérales (sables, ciment, basalte) transparentes et semi-transparentes, ont également été étudiées avec PROGRA2 (Figure 11).

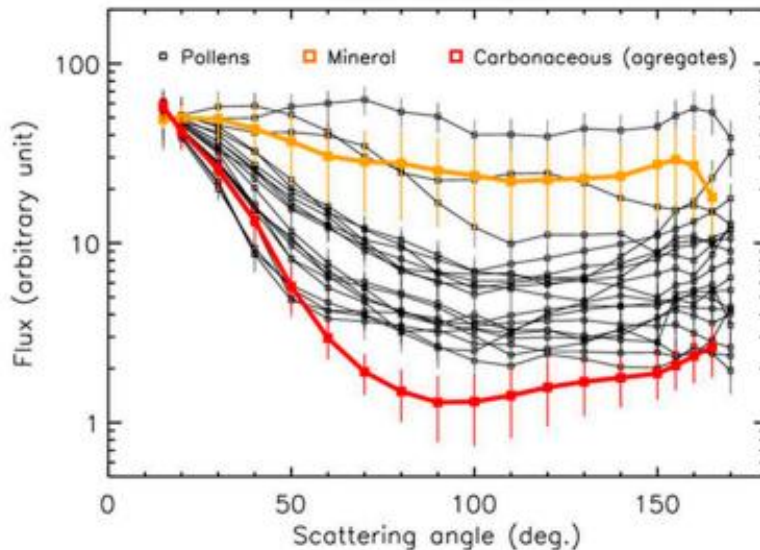


Figure 11. Intensity curves in the red domain for the pollens compared to various mineral and carbonaceous particles.

La plupart des courbes de pollen se situaient entre les particules plus carbonées et les particules minérales (Figure 11), confirmant ce qui a été observé avec l'instrument LOAC pour l'angle de diffusion de $\sim 60^\circ$. Évidemment, une confusion entre pollens et particules de pollution pourrait se produire dans le cas de grands agrégats composés d'un mélange de monomères carbonés et non carbonés. Néanmoins, les courbes PROGRA2 des pollens montrent également une évolution spécifique aux grands angles de diffusion, avec ou sans intensité augmente avec l'augmentation des angles.

« Conclusion »

La présence de pollens dans l'air ambiant pourrait probablement être détectée sans ambiguïté par un dispositif de comptage optique dédié effectuant des mesures à plusieurs angles de diffusion la plupart du temps. La présente étude a montré que la réalisation de mesures des propriétés de diffusion des pollens à plusieurs angles dans la gamme 15-160° dans l'air ambiant, combinée à des mesures de leur taille obtenues à partir d'observations à un petit angle de diffusion (concept LOAC), pourrait être une approche originale et prometteuse pour détecter les pollens en temps réel et estimer leur origine.

E. ANNEXE 2 : REFERENCES

1. Bradski, G.: The OpenCV Library, *Dr. Dobb's Journal of Software Tools*, 120, 122–125, 2000.
2. Baveye, P., Boast, C. W., Ogawa, S., Parlange, J.-Y., and Steenhuis, T.: Influence of image resolution and thresholding on the apparent mass fractal characteristics of preferential flow patterns in field soils, *Water Resour. Res.*, 34, 2783–2796, 1998.
3. Oteros, J., Buters, J., Laven, G., Röseler, S., Wachter, R., Schmidt-Weber, C., and Hofmann, F. (2016). Errors in determining the flow rate of Hirst-type pollen traps. *Aerobiologia*, doi: 10.1007/s10453-016-9467-x.
4. Russakovsky, O., Deng, J., Su, H., Krause, J., Satheesh, S., Ma, S., Huang, Z., Karpathy, A., Khosla, A., Bernstein, M., Berg, A. C., and Fei-Fei, L.: ImageNet Large Scale Visual Recognition Challenge, *Int. J. Comput. Vision*, 115, 211–252, <https://doi.org/10.1007/s11263-015-0816-y>, 2015
5. Kotikalapudi, R. and contributors: keras-vis, available at: <https://github.com/raghakot/keras-vis> (last access: 31 October 2019), 2017.
6. Könemann, T., Savage, N. J., Huffman, J. A., and Pöhlker, C.: Characterization of steady-state fluorescence properties of polystyrene latex spheres using off- and online spectroscopic methods, *Atmos. Meas. Tech.*, 11, 3987–4003, <https://doi.org/10.5194/amt-11-3987-2018>, 2018.
7. Adamov, S., Lemonis, N., Clot, B., Crouzy, B., Gehrig, R., Graber, M.-J., Sallin, C., and Tummon, F. (2021) On the measurement uncertainty of Hirst-type volumetric pollen and spore samplers. *Aerobiologia*. <https://doi.org/10.1007/s10453-021-09724-5>
8. Anderegg, W.R.L., Abatzoglou, J.T., Anderegg, L.D.L., Bielory, L., Kinney, P.L., and Ziska, L. (2021). Anthropogenic climate change is worsening North American pollen seasons. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 118, e2013284118.
9. ANSES (éd) Etat des connaissances sur l'impact sanitaire lié à l'exposition de la population aux pollens présents dans l'air ambiant. Rapport d'expertise collective. (2014). Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Maisons-Alfort France.
10. Apangu, Godfrey, Frisk, Carl, A., Adams-Groom, B., Satchwell, J., Pashley, C. H and Skjoth, C. (2020) Air mass trajectories and land cover map reveal cereals and oilseed rape as major local sources of *Alternaria* spores in the Midlands, UK. *Atmospheric Pollution Research*, 11(9), 1668-1679.

11. Arias, D. G., Cirne, M. V. M., Chire, J. E., and Pedrini, H. (2017). Classification of Pollen Grain Images Based on an Ensemble of Classifiers. *16th IEEE International Conference on Machine Learning and Applications (ICMLA)*, 18-21 Dec. 2017 2017 (pp. 234-240).
12. Asam, C., Hofer, H., Wolf, M., Aglas, L., and Wallner, M. (2015). Tree pollen allergens—an update from a molecular perspective. *Allergy*, 70, 1201– 1211
13. Ascoli D, Maringer J, Hacket-Pain A, Conedera M, Drobyshv I, Motta R, et al. (2017). Two centuries of masting data for European beech and Norway spruce across the European continent. *Ecology*, 98:1473.
14. Barnes, C. (2019). Fungi and Atopy. *Clinical Reviews of Allergy and Immunology*, 57, 439–448.
15. Beck, P., Caudullo, G., Tinner, W., de Rigo, D. (2016). *Fraxinus excelsior* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Houston Durrant, T., Mauri, A. (Eds.), *European Atlas of Forest Tree Species*. Publications Office EU, Luxembourg, pp. e0181c0+.
16. Bernstein, D.I., Würtzen, P.A., DuBuske, L., Blaiss, M.S., Ellis, A.K., Weber, R.W., and Nolte, H. (2021) Allergy to oak pollen in North America. *Allergy Asthma Proceedings*, 42(1), 43-54.
17. Biedermann, T., Winther, L., Till, S.J. Panzer, P., Knulst, A., and Valovirta, E. (2018). Birch pollen allergy in Europe. *Allergy*, 74, 1237-1248.
18. Bonini, M., Gramiccioni, C., Fioretti, D., Ruckert, B., Rinaldi, M., Akdis, C., Todaro, A., Palange, P., Carlsen, K.-H., Pelliccia, A., Rasi, G., Bonini, S., on behalf of the AIDA and the Italian Unit of the GA2LEN Olympic Study Asthma. (2015). Allergy and the Olympics. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 15(2), 184-192.
19. Božič, A. and Šiber, A. (2020). Mechanical design of apertures and infolding of pollen grain. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 117, 26600-26607.
20. Burkart, J., Gratzl, J., Seifried, T.M., Bieber, P., and Grothe, H. (2021). Isolation of subpollen particles (SPPs) of birch: SPPs are potential carriers of ice nucleating macromolecules. *Biogeosciences*, 18, 5751-5765.
21. Buters, J., Alberternst, B., Nawrath, S., Wimmer, M., Traidl-Hoffmann, C., Starfinger, U., Behrendt, H., Schmidt-Weber, C., and K.-C., Berman. (2015). Ambrosia artemisiifolia (Traubenkraut) in Deutschland – aktuelles Vorkommen, allergologische Bedeutung und Maßnahmen zur Eingrenzung. *Allergo Journal*, 24, 108-120.
22. Buters J.T.M. (2017). Pollen und Pollenwarndienste. Ecomed Verlag Landsberg.
23. Buters, J.T.M., Antunes, C., Galveias, A., Bergmann, K.C., Thibaudon, M., Galan, C., et al. (2018). Pollen and spore monitoring in the world. *Clinical Translational Allergy*, 8, 9-13.

24. CEN 16868. (2019). Ambient air - Sampling and analysis of airborne pollen grains and fungal spores for networks related to allergy - Volumetric Hirst method, 2019.
25. Chappuis, C., Tummon, F., Clot, B., Konzelmann, T., Calpini, B., Crouzy, B. (2020). Automatic pollen monitoring: first insights from hourly data. *Aerobiologia*, 36,159–170. doi:10.1007/s10453-019-09619-6.
26. Comtois, P., Alcazar, P., and Néron, D. (1999). Pollen counts statistics and its relevance to precision. *Aerobiologia*, 15, 19-28.
27. Cramer, R., Garbani, M., Rhyner, C., Huitema, C. (2014), Fungi: the neglected allergenic sources. *Allergy*, 69, 176–185.
28. Crouzy, B., Stella, M., Konzelmann, T., Calpini, B., and Clot, B. (2016). All-optical automatic pollen identification: Towards an operational system. *Atmospheric Environment*, 140, 202-212.
29. Cunha, M., Ribeiro, H., and Abreu, I. (2016). Pollen-based predictive modelling of wine production: application to an arid area. *European Journal of Agronomy*, 73, 42-52.
30. D'Amato, G., Spiekma, F.T.M., Liccardi, G., Jäger, S., Russo, M., Kontou-Fili, K., Nikkels, H., Wüthrich, B. and Bonini, S. (1998). Pollen-related allergy in Europe. *Allergy*, 53, 567-578.
31. D'Amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., Annesi-Maesano, I., Behrendt, H., Liccardi, G., Popv, T., and van Cauwenberge, P. (2007). Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*, 62, 976-990.
32. Dalan, D., Bunderson, L., Anderson, J., Lucas, R. (2020). Results of a beta test evaluating automated pollen identification during ragweed pollen season. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 145, AB36, doi: [10.1016/j.jaci.2019.12.738](https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.12.738).
33. Damialis, A., Gilles, S., Sofiev, M., Sofieva, V., Kolek, F., Bayr, D., & COVID-19/POLLEN study group. (2021). Higher airborne pollen concentrations correlated with increased SARS-CoV-2 infection rates, as evidenced from 31 countries across the globe. *Proceedings of the National Academy of Science*, 118(12).
34. Daunys, G., Šukienė, L., Vaitkevičius, L., Valiulis, G., Sofiev, M., & Šaulienė, I. (2021). Clustering approach for the analysis of the fluorescent bioaerosol collected by an automatic detector. *Plos one*, 16(3), e0247284.
35. Dedeurwaerder, G., Duvivier, M., Mvuyenkure, S., Renard, M.E., Van Hese, V., Marchal, G., Moreau, J.M., and Legrève, A. (2011), Spore traps network: a new tool for predicting epidemics of wheat yellow rust. *Community Agriculture and Applied Biological Sciences*, 76, 667- 670.
36. DeFreez, R. (2009). LIF Bio-Aerosol Threat Triggers: Then and Now. *International Society for Optics and Photonics*, 7484, 74840H.

37. Denning, D.W., O'Driscoll, B.R., Hogaboam, C.M., Bowyer, P., Niven, R.M. (2006). The link between fungi and severe asthma: a summary of the evidence. *European Respiratory Journal*, 27, 615-626.
38. Douwes J., P. Thorne, N. Pearce, and D. Heederik. (2003). Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects. *Annals of Occupational Hygiene*, 47, 187–200. doi:10.1093/annhyg/meg032.
39. Dudek, T., Kasprzyk, I., and Dulaska-Jeż, A. (2018). Forest as a place for recreation but also the source of allergenic plant pollen: to come or avoid? *European Journal of Forest Research*, 137, 849–862. <https://doi.org/10.1007/s10342-018-1144-x>
40. Dufлот, V., Tulet, P., Flores, O., Barthe, C., Colomb, A., Deguillaume, L., Vaitilingom, M., Perring, A., Huffman, A., Hernandez, M.T. and Sellegri, K. (2019.) Preliminary results from the FARCE 2015 campaign: multidisciplinary study of the forest–gas–aerosol–cloud system on the tropical island of La Réunion. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 19, 10591-10618.
41. Durham, S.R., Nelson, H.S., Nolte, H., Bernstein, D.I., Creticos, P.S., Li, Z., and Andersen, J.S. (2014). Magnitude of efficacy measurements in grass allergy immunotherapy trials is highly dependent on pollen exposure. *Allergy*, 69, 617-623.
42. EC Working Group on Guidance for the Demonstration of Equivalence. (2010). Guide to the demonstration of equivalence of ambient air monitoring methods.
43. Elvira-Rendueles, B., Moreno, J., Garcia-Sanchez, A., Vergara, N., Martinez-Garcia, M.J., and Moreno-Grau S. (2013). Air-spore in Cartagena, Spain: Viable and non-viable sampling methods. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 20 (4): 664-671.
44. Feeney, P., Rodríguez, S.F., Molina, R., McGillicuddy, E., Hellebust, S., Quirke, M., Daly, S., O'Connor, D., and Sodeau, J. (2018). A comparison of on-line and off-line bioaerosol measurements at a biowaste site. *Waste Management*, 76, 323-338.
45. Fernández-Rodríguez, S., Tormo-Molina, R., Lemonis, N., Clot, B., O'Connor, D.J., and Sodeau, J.R. (2018). Comparison of fungal spores concentrations measured with wideband integrated bioaerosol sensor and Hirst methodology. *Atmospheric Environment*, 175, 1-14.
46. Foot, V.E., Kaye, P.H., Stanley, W.R., Barrington, S.J., Gallagher, M., and Gabey, A. (2008). Low-cost real-time multiparameter bio-aerosol sensors, Proc. SPIE 7116, *Optically Based Biological and Chemical Detection for Defence IV*, 71160I, <https://doi.org/10.1117/12.800226>.
47. Frenz, D.A. (2000). The effect of windspeed on pollen and spore counts collected with Rotorod Sampler and Burkard spore trap. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, 85, 392-394.
48. Fröhlich-Nowoisky, J., Kampf, C.J., Weber, B., Huffman, J.A., Pöhlker, C., Andreae, M.O., Lang-Yona, N., Burrows, S.M., Gunthe, S.S., Elbert, W., Su, H., Hoor, P., Thines, E., Hoffmann, T.,

- Després, V.R., and Pöschl, U. (2016). Bioaerosols in the Earth system: Climate, health, and ecosystem interactions. *Atmospheric Research*, 182, 346-376.
49. Gabriel, M.F., Postigo, I., Tomaz, C.T., and Martínez, J. (2016) *Alternaria alternata* allergens: Markers of exposure, phylogeny and risk of fungi-induced respiratory allergy. *Environment International*, 89-90, 71-80. doi: 10.1016/j.envint.2016.01.003.
50. Galán, C., Vázquez, L., García-Mozo, H., and Donínguez, E. (2004). Forecasting olive (*Olea europaea*) crop yields based on pollen emission. *Field Crops Research*, 86, 43-51.
51. Galán, C., García-Mozo, H., Vázquez, L., Ruiz, L., de la Guardia, C.D. and Domínguez-Vilches, E. (2008). Modeling Olive Crop Yield in Andalusia, Spain. *Agronomy Journal*, 100, 98-104.
52. Galán, C., Smith, M., Thibaudon, M., Frenguelli, G., Oteros, J., Gehrig, R., Berger, U., Clot, B., Brandao, R., and EAS QC Working Group. (2014). Pollen monitoring: minimum requirements and reproducibility of analysis. *Aerobiologia*, 30, 385-395.
53. Garcia-Mozo, H., Oteros, J., Galán, C. (2015). Phenological changes in olive (*Olea europaea* L.) reproductive cycle in southern Spain due to climate change. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 22(3), 421-428.
54. Gassner, M., Schmid-Grendelmeier, P., and Clot, B. (2019). Ash pollen allergy and aerobiology. *Allergo Journal international*, 28, 289-298.
55. Gehrig, R., Gassner, M., and Schmid-Grendelmeier, P. (2014). *Alnus x spaethii* pollen can cause allergies already at Christmas. *Aerobiologia*, 1-9.
56. Gehrig R., and Clot B. (2021). 50 Years of Pollen Monitoring in Basel (Switzerland) Demonstrate the Influence of Climate Change on Airborne Pollen. *Front. Allergy*, <https://doi.org/10.3389/falgy.2021.677159>.
57. Glick S., Gehrig R., and Eeftens M. (2021). Multi-decade changes in pollen season onset, duration, and intensity: A concern for public health?, *Science of The Total Environment*, 781, 146382, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146382>.
58. Grinn-Gofroń, A., Nowosad, J., Bosiacka, B, Camacho, I, Pashley, C., Belmonte, J., De Linares, C., Ianovici, N., Maya Manzano, J.M., Sadys, M., Skjoth, C., Dodinkova, V., Tormo-Molina, R., Vokou, D., Fernandez-Rodriguez, S., and Damialis, A. (2019). Airborne *Alternaria* and *Cladosporium* fungal spores in Europe: Forecasting possibilities and relationships with meteorological parameters. *Science of the Total Environment*, 653, 938-946.
59. Heinzerling, L.M., Burbach, G.J., Edenharter, G., Bachert, C., Bindeslev-Jensen, C., Bonini, S., Bousquet, J., Bousquet-Rouanet, L., Bousquet, P.J., Bresciani, M., Bruno, A., Burney, P., Canonica G.W., Darsow, U., Demoly, P., Durham, S., Fokkens, W.J., Giavi, S., Gjomarkaj, M., Gramiccioni, C., Haahtela, R., Kowalski, M.L., Magyar, P., Muraközi, G., Orosz, M., Papadopoulos, N.G., Röhnelt, C., Stingl, G., Todo-Bom, A., Von Mutius, E., Wiesner, A., Wöhrl,

- S., and Zuberbier, T. (2009). GA²LEN skin test study 1: GA²LEN harmonization of skin prick testing: novel sensitization patterns for inhalant allergens in Europe. *Allergy*, 64, 1498-1506.
60. Hirst, J. M. (1952). An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology*, 39, 257–265.
61. Höflich, C., Balakirski, G., Hajdu, Z., Baron, J.M., Kaiser, L., Czaja, K., Merk, H.F., Gerdson, S., Strassen, U., Bas, M., Bier, H., Dott, W., Mücke, H.G., Straff, W., Chaker, A., and Röseler, S. (2016). Potential health risk of allergenic pollen with climate change associated spreading capacity: Ragweed and olive sensitization in two German federal states. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 219(3), 252-260.
62. Holt, K.A. and Bennett, K.D. (2014). Principles and methods for automated palynology. *New Phytologist*, 203, 735-742.
63. Huerta-Ocampo, J.A., Valenzuela-Corral, A., Robles-Burgueño, M., Guzmán-Partida, A.M., Hernández-Oñate, M.A., Vázquez-Moreno, L., Pavón-Romero, G.F., and Terán, L.M. (2020). Proteomic identification of allergenic proteins in red oak (*Quercus rubra*) pollen. *World Allergy Organisation Journal*, 13(3), 100111. doi: 10.1016/j.waojou.2020.100111
64. Huffman, J.A., Perring, A.E., Savage, N.J., Clot, B., Crouzy, B., Tummon, F., Shoshanim, O., Damit, B., Schneider, J., Sivaprakasam, V., Zawadowicz, M.A., Crawford, I., Gallagher, M., Topping, D., Doughty, D.C., Hill, S.C., and Pan, Y. (2020). Real-time sensing of bioaerosols: Review and current perspectives, *Aerosol Science and Technology*, 54:5, 465-495, doi [10.1080/02786826.2019.1664724](https://doi.org/10.1080/02786826.2019.1664724).
65. Ipsen, H. and Hansen, O.C. (1991). The NH₂-terminal amino acid sequence of the immunochemically partial identical major allergens of alder (*Alnus glutinosa*) Aln g I, birch (*Betula verrucosa*) Bet v I, hornbeam (*Carpinus betulus*) Car b I and oak (*Quercus alba*) Que a I pollens. *Molecular Immunology*, 28, 1279-1288.
66. Isard, S.A. and Chamecki, M. (2016). A physically based theoretical model of spore deposition for predicting spread of plant diseases. *Ecology and Epidemiology*, 106, 244-253.
67. ISO 13320. (2009). Particle Size Analysis—Laser Diffraction Methods.
68. ISO 22412. (2017). Particle Size Analysis—Dynamic Light Scattering (DLS).
69. ISO 21501-2. (2007). Determination of Particle Size Distribution—Single Particle Light Interaction Methods, Part 2: Light Scattering Liquid-borne Particle Counter.
70. ISO 21501-4. (2018). Determination of particle size distribution - Single particle light interaction methods -- Part 4: Light scattering airborne particle counter for clean spaces.
71. ISO 13322-1. (2004). Particle Size Analysis—Image Analysis Methods, Part 1: Static Image Analysis Methods.

72. ISO 13322-2. (2004). Particle Size Analysis—Image Analysis Methods, Part 2: Dynamic Image Analysis Methods.
73. Jäger S. (2011). The trouble with threshold values for allergy forecasts. In: Clot B, Comtois P, Escamilla-Garcia B (Eds.). 2011. *Aerobiological Monographs, Towards a comprehensive vision*. MeteoSwiss (CH) and University of Montreal (CA), Montreal, Canada, 1, 233-48.
74. Jedryczka, M., Sadys, M., Grinn-Gofron, A., Kaczmarek, J., Strzelczak, A., and Kennedy, R. (2016). Contribution of *Leptosphaeria* species ascospores to autumn asthma in areas of oilseed rape production. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, 117(5), 495-501.
75. Jones, C., Lowe, J., Liddicoat, S., and Betts, R. (2009). Committed terrestrial ecosystem changes due to climate change. *Nature Geoscience*, 2, 484-487.
76. Jonsson, P. and Kullander, F. (2014). Bioaerosol Detection with Fluorescence Spectroscopy. *Bioaerosol Detection Technologies*, https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5582-1_7.
77. Kasprzyk, I., Ortyl, B., and Dulcka-Jeż, A. (2014). Relationships among weather parameters, airborne pollen and seed crops of *Fagus* and *Quercus* in Poland. *Agricultural and Forest Meteorology*, 197, 111-122.
78. Katelaris, C., Carrozzi, F., Burke, T., and Byth, K. (2000). A springtime Olympics demands special consideration for allergic athletes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106, 260-266.
79. Katifori, E., Alben, S., Cerda, E., Nelson, D.R. and Dumais, J. (2010), Foldable structures and the natural design of pollen grains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 7635-7639.
80. Kawashima, S., Clot, B., Fujita, T., Takahashi, Y., & Nakamura, K. (2007). An algorithm and a device for counting airborne pollen automatically using laser optics. *Atmospheric Environment*, 41, 7987–7993.
81. Kawashima, S., Thibaudon, M., Matsuda, S., Fujita, T., Lemonis, N., Clot, B., and Oliver, G. (2017). Automated pollen monitoring system using laser optics for observing seasonal changes in the concentration of total airborne pollen. *Aerobiologia*, 33, 351–362. doi: 10.1007/s10453-017-9474-6.
82. P. H. Kaye, W. R. Stanley, E. Hirst, E.V. Foot, K. L. Baxter, and S. J. Barrington. (2005). Single particle multichannel bio-aerosol fluorescence sensor. *Optical Express*, 13, 3583-3593.
83. Keaney, L.C., Kilding, A.E., Merien, F., and Dulson, D.K. (2019). Keeping athletes healthy at the 2020 Tokyo summer games: Considerations and illness prevention strategies. *Frontiers in physiology*, 10, 426.

84. Kiselev, D., Bonacina, L., and Wolf, J.-P. (2013). A flash-lamp based device for fluorescence detection and identification of individual pollen grains. *Reviews of Scientific Instrumentation*, 84, 033302. <https://doi.org/10.1063/1.4793792>
85. Kiselev, D., Bonacina, L., and Wolf, J. P. (2011). Individual bioaerosol particle discrimination by multi-photon excited fluorescence, *Optical Express*, 19, 24516–24521, <https://doi.org/10.1364/OE.19.024516>.
86. Kubik-Komar, A., Piotrowska-Weryszko, K., Weryszko-Chmielewska, E., and Kaszewski, B.M. (2018). Analysis of *Fraxinus* pollen seasons and forecast models based on meteorological factors. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 25, 285-291.
87. Larenas-Linnemann D., Baxi S., Phipatanakul W., Portnoy J.M. and Environmental Allergens Workgroup. (2016). Clinical Evaluation and Management of Patients with Suspected Fungus Sensitivity. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 4(3), 405-414.
88. Lehrer, S.B., Hughes, J.M., Altman, L.C., Bousquet, J., Davies, R.J., Gell, L., Li, J., Lopez, M., Mailing, H.J., Mathison, D.A., Sastre, J., Schultze-Werninghaus, G., and Schwartz, H.J. (1994). Prevalence of basidiomycete allergy in the USA and Europe and its relationship to allergic respiratory symptoms. *Allergy*, 49, 460-465.
89. Lieberherr, G., Auderset, K., Calpini, B., Clot, B., Crouzy, B., Gysel-Ber, M., Konzelmann, T., Manzano, J., Mihajlovic, A., Moallemi, A., O'Connor, D., Sikoparija, B., Sauvageat, E., Tummon, F., and Vasilatou, K., (2021). Assessment of Real-time Bioaerosol Particle Counters using Reference Chamber Experiments, *Atmospheric Measurement Techniques*, doi:10.5194/amt-2021-136.
90. Lucas, R. and Bunderson, R. (2019). P053 Initial results from an automated near-real time pollen collection device. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, 123(5), S22. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2019.08.240>
91. Manikis, G. C., Marias, K., Alissandrakis, E., Perrotto, L., Savvidaki, E., and Vidakis, N. (2019). Pollen Grain Classification using Geometrical and Textural Features. *IEEE International Conference on Imaging Systems and Techniques (IST)*, 9-10 Dec. 2019 (pp. 1-6).
92. Marcos, J. V., Nava, R., Cristóbal, G., Redondo, R., Escalante-Ramírez, B., and Bueno, G. (2015). Automated pollen identification using microscopic imaging and texture analysis. *Micron*, 68, 36-46.
93. Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., Velasco-Jiménez, M.J., and Galán, C. (2019). Effect of the Mediterranean crops in the airborne pollen spectrum. *Aerobiologia*, 35, 647-657.
94. Mas, S., Torres, M., Garrido-Arandia, M., Salamanca, G., Castro, L., Barral, P., Purohit, A., Pauli, G., Rodríguez, R., Batanero, E., Barderas, R., and Villalba, M. (2014). Ash pollen immunoproteomics: identification, immunologic characterization, and sequencing of 6 new allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 133(3), 923-926.

95. Maya-Manzano, J.M., FernÁndez-Rodríguez, S., Silva-Palacios, I., Gonzalo-Garijo, Á., Tormo-Molina, R. (2016). Comparison between two adhesives (silicone and petroleum jelly) in Hirst pollen traps in a controlled environment. *Grana*, 57, 137-143.
96. Miki, K., Kawashima, S., Clot, B., and Nakamura, K. (2019). Comparative efficiency of airborne pollen concentration evaluation in two pollen sampler designs related to impaction and changes in internal wind speed. *Atmospheric Environment*, 203, 18-27.
97. Mokin, V.B., Kozachko, O.M., Rodinkova, V.V., Palamarchuk, O.O., and Vuzh, T.Y. (2017). The decision support system for the classification of allergenic pollen types based on fuzzy expert data of pollen features on the microscope images. *IEEE First Ukraine Conference on Electrical and Computer Engineering (UKRCON)*, 29 May-2 June 2017 (pp. 850-855).
98. Nam, C.N.K., Meyer, M., Thiele, L., and Saukh, O. (2020). Automated Pollen Detection with an Affordable Technology. *17th International Conference on Embedded Wireless Systems and Networks*, Lyon, France.
99. Nussbaumer, A., Meusburger, K., Schmitt, M., Waldner, P., Gehrig, R., Heni, M., Rigling, A., Brunner, I., and thimonier, A. (2020). Extreme summer heat and drought lead to early fruit abortion in European beech. *Science Reports*, 10, 5334. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62073-0>
100. O'Connor, D.J., Healy, D.A., Hellebust, S., Buters, J.T.M., Sodeau, J.R. (2014). Using the WBS-4 (Waveband Integrated Bioaerosol Sensor) Technique for the On-Line Detection of Pollen Grains. *Aerosol Science and Technology*, 48, 341-349. doi: 10.1080/02786826.2013.872768
101. O'Connor, D.J., Healy, D.A. and Sodeau, J.R. (2015). A 1-month online monitoring campaign of ambient fungal spore concentrations in the harbour region of Cork, Ireland. *Aerobiologia*, 31, 295-314.
102. Oliveira, M., Guerner-Moreira, J., Mesquita, M.M., and Abreu, I. (2009). Important Phytopathogenic Airborne Fungal spores in a rural area: incidence of Botrytis Cinerea and Oidium spp. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 16, 197-204.
103. Oteros, J., Galán, C., Alcázar, P., and Domínguez-Vilches, E. (2013). Quality control in bio-monitoring networks, Spanish Aerobiology network. *Science of the Total Environment*, 443, 559-565.
104. Oteros, J., Orlandi, F., García-Mozo, H., Aguilera, F., Dhiab, A.B., Bonofiglio, T., Abicou, M., Ruiz-Valenzuela, L., Mar del Trigo, M., Diaz de la Guardia, C., Dominguez-Vilches, E., Msallem, M., Fornaciari, M., and Galán, C. (2014). Better prediction of Mediterranean olive production using pollen-based models. *Agronomy for Sustainable Development*, 34, 685-694.

105. Oteros, J., García-Mozo, H., Alcázar, P., Belmonte, J., Bermejo, D., Boi, M., Cariñanos, P., Díaz de la Guardia, C., Fernández-González, D., González-Minero, F., Gutiérrez-Bustillo, A.M., Moreno-Grau, S., Pérez-Badía, R., Rodríguez-Rajo, F.J., Ruíz-Valenzuela, L., Suárez-Pérez, J., Trigo, M.M., Domínguez-Vilches, E., and Galán, C. (2015). A new method for determining the sources of airborne particles, *Journal of Environmental Management*, 155, 212-218.
106. Oteros, J., Buters, J., Laven, G., Röseler, S., Wachter, R., Schmidt-Weber, C., and Hofmann, F. (2016). Errors in determining the flow rate of Hirst-type pollen traps. *Aerobiologia*, doi: 10.1007/s10453-016-9467-x.
107. Oteros, J., Sofiev, M., Smith, M., Damialis, A., Prank, M., Werchan, M., Wachter, R., Weber, A., Kutzora, S., Heinze, S., Herr, C.E.W., Menzel, A., Bergmann, K.C., Traidl-Hoffmann, C., Schmidt-Weber, C.B., and Buters J.T.M. (2019). Building an automatic Pollen Monitoring Network (ePIN): Selection of optimal stations by clustering pollen zones. *Science of the Total Environment*, 688, 1263-1274.
108. Oteros, J., Weber, A., Kutzora, S., Rojo, J., Heinze, S., Herr, C., Gebauer, R., Schmidt-Weber, C.B., Buters, J.T.M. (2020). An operational robotic pollen monitoring network based on automatic image recognition, *Environmental Research*, 191, 110031. doi: 10.1016/j.envres.2020.110031.
109. Oteros-Moreno, J., Pusch, G., Weichenmeier, I., Heimann, U., Moeler, R., Traidl-Hoffmann, C., et al. (2015). Automatic and on-line pollen monitoring. *International Archives of Allergy and Clinical Immunology*, 167, 158-166.
110. Pablos I, Wildner S, Asam C, Wallner M, Gadermaier G. (2016). Pollen Allergens for Molecular Diagnosis. *Current Allergy and Asthma Reports*, 16(4), 31.
111. Pashby, C., Barcus, R., and Sloan, M. (2016). "Guidelines for selecting an optical particle counter." www.iprocessmart.com/particlecounters/guidelines_for_selecting_an_opti.htm
112. Perring, A.E. (2016). Chamber catalogues of optical and fluorescent signatures distinguish bioaerosol classes. *Atmospheric Measurement Techniques*, 9(7), 3283-3292.
113. Polling, M., Sin, M., de Weger, L.A., Speksnijder, A.G.C.L., Koenders, M.J.F., de Boer, H., and Gravendeel, B. (2022). DNA metabarcoding using nrITS2 provides highly qualitative and quantitative results for airborne pollen monitoring. *Science of The Total Environment*, 806, 150468,
114. Punt, P. and P. Hoen (2009). The Northwest European Pollen Flora, 70 Asteraceae-Asteroidae, *Review of Palaeobotany and Palynology*, 157, 22–183.
115. Pyrri I, Kapsanaki-Gotsi E. (2015). Evaluation of the fungal aerosol in Athens, Greece, based on spore analysis. *Aerobiologia*, 31(2), 179-190.

116. Ranta, H., Oksanen, A., Hokkanen, T., Bondestam, K., and Heino, S. (2005). Masting by *Betula*-species: applying the resource budget model to north European data sets. *International Journal of Biometeorology*, 49, 146-151.
117. Rick, EM, Woolnough K, Pashley CH, Wardlaw AJ. (2016). Allergic Fungal Airway Disease. *Journal of Investigative Allergology and Clinical Immunology*, 26, 344-354.
118. Robinson, E.S., Gao, R.-S., Schwarz, J.P., Fahey, D.W., and Perring, A.E. (2017). Fluorescence calibration method for single-particle aerosol fluorescence instruments. *Cooperative Institute for Research in Environmental Sciences Faculty Contributions*. 64. https://scholar.colorado.edu/cires_facpapers/64
119. Rodinkova, V., S. Yuriev, Kaminska, O., Yasniuk, M., Bortnik, N., and Dubuske, L. (2020). Assessment of Fungal Spores Sensitization in Ukraine Employing Molecular Diagnostics. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 145, AB37.
120. Rodríguez-Rajo, F.J., Fdez-Sevilla, D., Stach, A., and Jato, V. (2010). Assessment between pollen seasons in areas with different urbanization level related to local vegetation sources and differences in allergen exposure. *Aerobiologia* 26, 1–14.
121. Rojo, J., Núñez, A., Lara, B., Sánchez-Parra, B., Moreno, D.A., and Pérez-Badia, R. (2019). Comprehensive analysis of different adhesives in aerobiological sampling using optical microscopy and high-throughput DNA sequencing. *Journal of Environmental Management*, 240, 441-450.
122. Sadyś, M., Adams-Groom, B., Herbert, R.J., and Kennedy, R. (2016). Comparisons of fungal spore distributions using air sampling at Worcester, England (2006-2010). *Aerobiologia*, 32(4), 619-634.
123. Santarpia, J.L., Ratnesar-Shumate, S., Gilberry, J.U., and Quizon, J.J. (2013). Relationship Between Biologically Fluorescent Aerosol and Local Meteorological Conditions. *Aerosol Science and Technology*, 47 (6), 655–661.
124. Šantl-Temkiv, T., Sikoparija, B., Maki, T., Carotenuto, F., Amato, P., Yao, M., Morris, C.E., Schnell, R., Jaenicke, R., Pöhlker, C., DeMott, P.J., Hill, T.C.J., Huffman, A. (2019). Bioaerosol Field Measurements: Challenges and Perspectives in Outdoor Studies. *Aerosol Science and Technology*, 1-27. doi: 10.1080/02786826.2019.1676395.
125. Šaulienė, I., Šukienė, L., Daunys, G., Valiulis, G., Vaitkevičius, L., Matavulj, P., Brdar, S., Panic, M., Sikoparija, B., Clot, B., Crouzy, B., and Sofiev, M. (2019). Automatic pollen recognition with the Rapid-E particle counter: the first-level procedure, experience and next steps. *Atmospheric Measurement Techniques*, 12, 3435-3452.
126. Savage, N.J., Krentz, C.E., Könemann, T., Han, T.T., Mainelis, G., Pöhlker, C., and Huffman, J.A. (2017). Systematic characterization and fluorescence threshold strategies for the

wideband integrated bioaerosol sensor (WIBS) using size-resolved biological and interfering particles. *Atmospheric Measurement Techniques*, 10, 4279–4302.

127. Sauvageat, E., Zeder, Y., Auderset, K., Calpini, B., Clot, B., Crouzy, B., et al. (2020). Real-time pollen monitoring using digital holography. *Atmospheric Measurement Techniques*, 13, 1539–1550.
128. Schaefer, J., Milling, M., Schuller, B.W., Bauer, B., Brunner, J.O., Traidl-Hoffmann, C., and Damialis, A. (2021). Towards automatic airborne pollen monitoring: From commercial devices to operational by mitigating class-imbalance in a deep learning approach. *Science of The Total Environment*, 796, 148932.
129. Schmid-Grendelmeier, P., Peeters, A., Wahl, R., and Wüthrich, P. (1994). Zur Bedeutung der Eschenpollenallergie. *Allergologie*, 17, 535-542.
130. Sevillano, V. and Aznarte, J.L. (2018). Improving classification of pollen grain images of the POLEN23E dataset through three different applications of deep learning convolutional neural networks. *Plos One*, 13(9), e0201807.
131. Sevillano, V., Holt, K., and Aznarte, J.L. (2020). Precise automatic classification of 46 different pollen types with convolutional neural networks. *Plos One*, 15(6), e0229751.
132. Skjøth, C. A., Damialis, A., Belmonte, J., De Linares, C., Fernández-Rodríguez, S., Grinn-Gofroń, A., Jędryczka, M., Kasprzyk, I., Magyar, D., Myszkowska, D., Oliver, G., Páldy, A., Pashley, C. H., Rasmussen, K., Satchwell, J., Thibaudon, M., Tormo-Molina, R., Vokou, D., Ziemianin, M., Werner, M. (2016). Alternaria spores in the air across Europe: abundance, seasonality and relationships with climate, meteorology and local environment. *Aerobiologia*, 32, 3-22.
133. Smith M, Jager S, Berger U, Sikoparija B, Hallsdottir M, Sauliene I, et al. (2014). Geographic and temporal variations in pollen exposure across Europe. *Allergy*, 69(7), 913-923.
134. Smith, M., Oteros, J., Schmidt-Weber, C., and Buters, J. (2018). An abbreviated method for the Quality Control of pollen counters. *Grana*, 58, 185-190.
135. Sodeau, J.R. and O'Connor, D. (2016). Chapter 16 - Bioaerosol Monitoring of the Atmosphere for Occupational and Environmental Purposes, Editor(s): Miguel de la Guardia, Sergio Armenta. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 73, 391-420.
136. Sofiev, M., Ritenberga, O., Albertini, R., Arteta, J., Belmonte, J., Bonini, M., Celenk, S., Damialis, A., Douros, J., Elbern, H., Friese, E., Galan, C., Gilles, O., Hrga, I., Kouznetsov, R., Krajsek, K., Parmentier, J., Plu, M., Prank, M., Robertson, L., Steensen, B. M., Thibaudon, M., Segers, A., Stepanovich, B., Valdebenito, A. M., Vira, J., and Vokou, D. (2017). Multi-model ensemble simulations of olive pollen distribution in Europe in 2014. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 17, 12341-12360.

137. Sofiev, M. (2019). On possibilities of assimilation of near-real-time pollen data by atmospheric composition models. *Aerobiologia*, 35, 523-531.
138. Taramarcaz P, Lambelet B, Clot B, Keimer C, and Hauser C. (2005). Ragweed (Ambrosia) progression and its health risks: will Switzerland resist this invasion? *Swiss Medical Weekly*, 135, 538-548.
139. Tesendic, D., Boberic Krsticev, D., Matavlulj, P., Brdar, S., Panic, M., Minic, V., Sikoparija, B. 2020. RealForAll: Real-time System for Automatic Detection of Airborne Pollen. *Enterprise Information Systems*, doi: 10.1080/17517575.2020.1793391
140. Thien F., Beggs P.J., Csutoros D., Darvall J., Hew M., et al., (2018). The Melbourne epidemic thunderstorm asthma event 2016: an investigation of environmental triggers, effect on health services, and patient risk factors. *The Lancet Planetary Health*, 2/6, e255-e263.
141. Tummon, F., Alados Arboledas, L., Bonini, M., Guinot, B., Hicke, M., Jacob, J., Kendrovski, V., McCairns, W., Petermann, E., Peuch, V.-H., Pfaar, O., Siacrd, M., Sikoparija, B., and Clot, B. (2021). The need for Pan-European automatic pollen and fungal spore monitoring: A stakeholder workshop position paper. *Clinical Translational Allergy*, doi:10.1002/ct2.12015.
142. Vara, A., Fernández-Gonzalez, M., Aira, M.J., and Rodriguez-Rojo, F.J. (2016). Oleaceae cross-reactions as potential pollinosis cause in urban areas. *Science of the Total Environment*, 542, 435-440. VDI 45252, Part 4; p. 49, 2018
143. West, J.S., and Kimber, R.B.E. (2015). Innovations in air sampling to detect plant pathogens. *Annals of Applied Biology*, 166, 4-17.
144. Ziello, C., Sparks, T.H., Estrella, N., Belmonte, J., Bergmann, K.C., Bucher, E., Brighetti, M.A., Damialis, A., Detandt, M., Galán, C., Gehrig, R., Grewling, L., Gutiérrez Bustillo, A.M., Hallsdóttir, M., Kockhans-Bieda, M.C., De Linares, C., Myszkowska, D., Pàldy, A., Sánchez, A., Smith, M., Thibaudon, M., Travaglini, A., Uruska, A., Valencia-Barrera, R.M., Vokou, D., Wachter, R., de Weger, L.A., Menzel, A. (2012). Changes to Airborne Pollen Counts across Europe. *Plos One*, 7(4): e34076. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034076>
145. Ziska, L.H., Makra, L., Harry, S.K., Bruffaerts, N., Hendrickx, M., Coates, F., Saarto, A., Thibaudon, M., Oliver, G., Damialis, A., Charalampopoulos, A., Vokou, D., Heidmarsson, S., Gudjohnsen, E., Bonini, M., Oh, J.W., Sullivan, K., Ford, L., Brooks, G.D., Myszkowska, D., Severova, E., Gehrig, R., Dario Ramon, G., Beggs, P.J., Kowlton, K., and Crimmins, A.R. (2019). Temperature-related changes in airborne allergenic pollen abundance and seasonality across the northern hemisphere: A retrospective data analysis. *Lancet Planetary Health*, 3(3), 124–131.
146. Zuberbier, T., Abelson, M.B., Akdis, C.A., Bachert, C., Berger, U., Bindslev-Jensen, C., Boelke, G., Bousquet, J., Canonica, G.W., Casale, T.B., Jutel, M., Kowalski, M.L., Madonini, E., Papadopoulos, N.G., Pfaar, O., Sehlinger, T., and Bergmann, K.C. (2017). Validation of the Global Allergy and Asthma European Network (GA2LEN) chamber for trials in allergy:

Innovation of a mobile allergen exposure chamber. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 139, 4, 1158-1166.