



XI CONVEGNO SUL PARTICOLATO ATMOSFERICO

IAS - Società Italiana di Aerosol
Torino, 28-31 Maggio 2024

Bioaerosol e ChAMBRe: una camera di simulazione atmosferica per studiare la vitalità batterica in diverse condizioni ambientali

V. Vernocchi¹

E. Abd El^{1, 2}, M. Brunoldi^{1, 2}, E. Gatta², M. Irfan², T. Isolabella^{1, 2}, F. Mazzei^{1, 2}, D. Massabò^{1, 2}, F. Parodi¹, P. Prati^{1, 2}

¹*Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione di Genova*

²*Università degli Studi di Genova, Dipartimento di Fisica*

Bioaerosol: batteri

Bioaerosol: aerosol di origine biologica

Ruolo importante nell'atmosfera:

Concentrazioni $> 10^4$ cells m^{-3} over land

Dimensioni ridotte (micrometriche) \rightarrow lunghi tempi di residenza in atmosfera

Vitalità batterica e qualità dell'aria

Vitalità batterica può dipendere dall'interazione tra batteri e altri componenti atmosferici e/o inquinanti

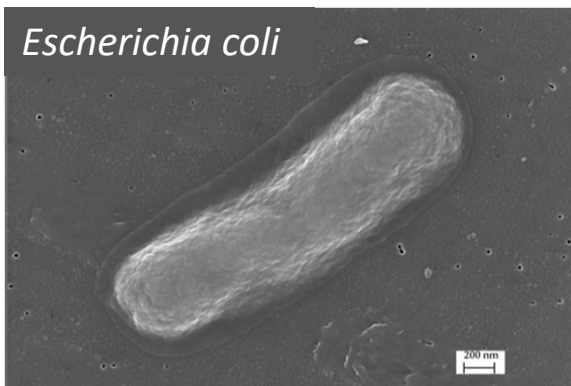
Differenti condizioni atmosferiche possono influenzare la vitalità batterica

Vitalità \leftrightarrow abilità di una specie batterica di sopravvivere

Batteri patogeni: abilità di una specie batterica di sopravvivere e mantenere la propria patogenicità

Impatto su: ecosistemi, salute (es: malattie infettive)

Escherichia coli



Proxy non patogeni di tipici batteri atmosferici

Gram (-)

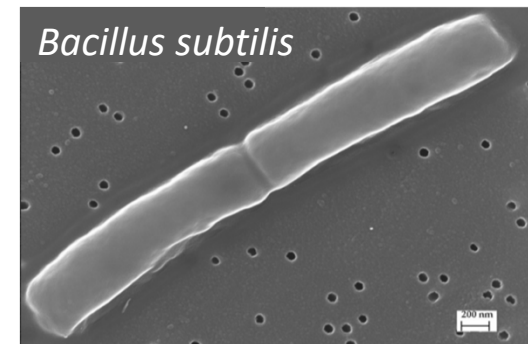
E. coli

P. fluorescens

Gram (+)

B. subtilis

Bacillus subtilis



Camera di Simulazione Atmosferica

Consente di produrre condizioni chimico/fisiche controllate e realistiche



Simulare situazioni reali

Studiare interazione tra componenti atmosferici

ChAMBRé

Chamber for Aerosol Modelling and Bio-aerosol Research

L'unica ASC in Italia; ChAMBRé è la **prima ASC** specificamente progettata per **studi sul bioaerosol**, come studi sull'interazione tra bioaerosol e inquinanti.

- Volume $\approx 2.2 \text{ m}^3$
- Acciaio Inox



POSTER SESSION #2, pos.1
Abd El E. et al.

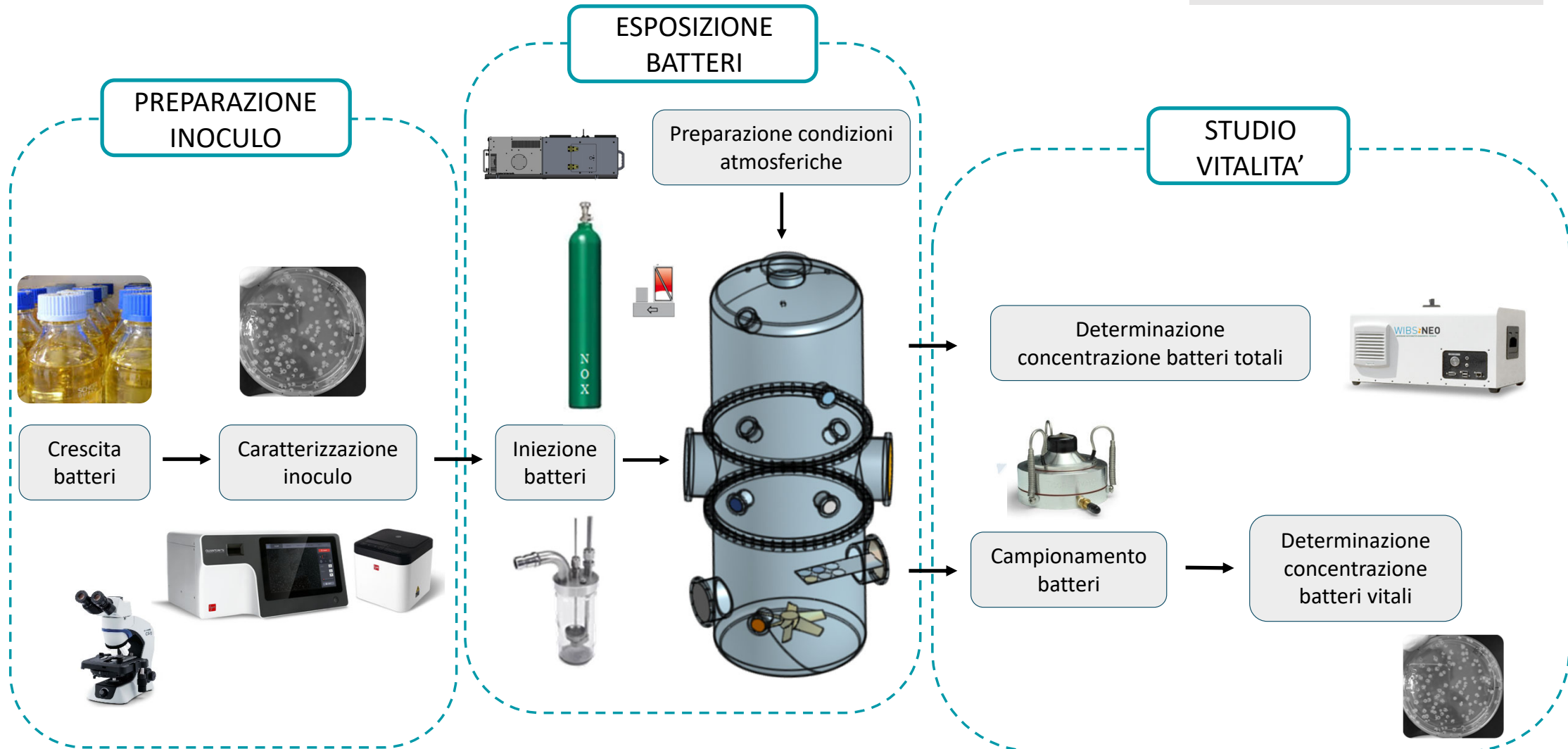


Massabò et al., (2018).
Atmos. Meas. Tech., 11, 5885-5900

<https://labfisa.ge.infn.it/index.php/chambre>

Protocollo sperimentale

Vernocchi et al., (2023).
Atmos. Meas. Tech., 16, 5479-5493



Preparazione inoculo

Crescita batteri

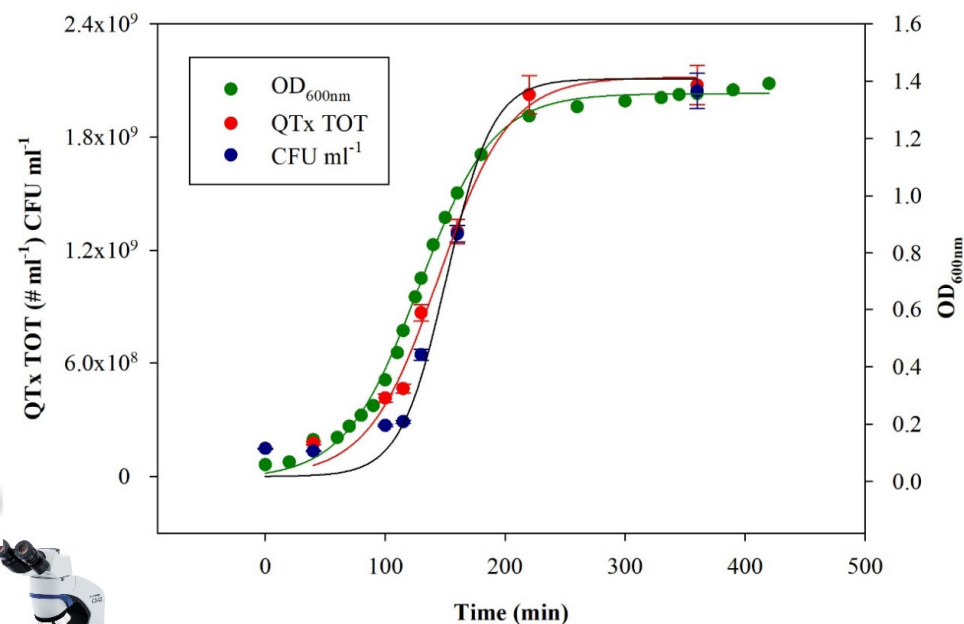
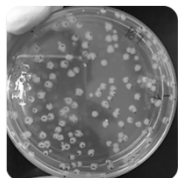
- Brodo di coltura – ceppo batterico
- Crescita esponenziale: $OD(600nm) \approx 0.5$ (spettrofotometro)
- Centrifugazione e risospensione in soluzione fisiologica



Talk Gatta E. et al.

Caratterizzazione inoculo

- Concentrazione batteri totali e vitali: $cell\ cm^{-3}$
 - Quantum Tx Cell counter
 - Microscopio con sonde live & dead
- Concentrazione batteri vitali: $CFU\ ml^{-1}$
 - Conta su piastre Petri



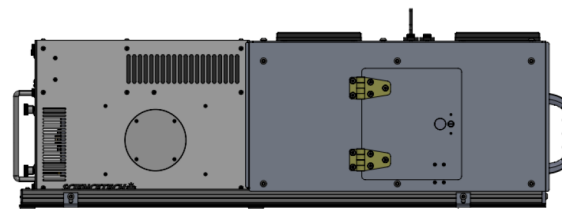
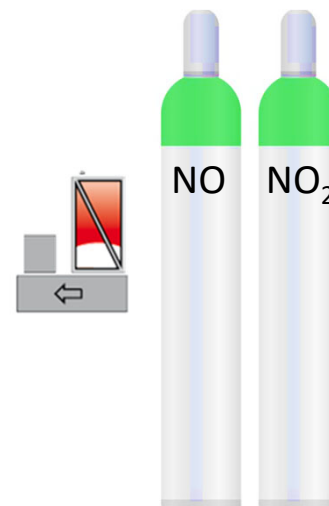
Vernocchi et al., (2023).
Atmos. Meas. Tech., 16, 5479-5493

$\frac{\text{VITALI}}{\text{TOTALI}}$ rapporto delle concentrazioni nell'inoculo

Esposizione batteri in ChAMBRe

Preparazione condizioni atmosferiche

- Baseline
 - Aria pulita
 - Sensibilità del protocollo sperimentale
 - Riferimento per determinare cambiamenti nella vitalità batterica
- Inquinanti gassosi
 - NO e NO₂: 900 e 1200 ppb (costanti con sistema di feedback control)
- Radiazione solare
 - Solar simulator



Iniezione batteri

- Nebulizzatore Slag: controllo automatico del flusso di aria e siringa con pompa automatizzata

*Danelli et al., (2021).
Atmos. Meas. Tech., 14, 4461–4470*

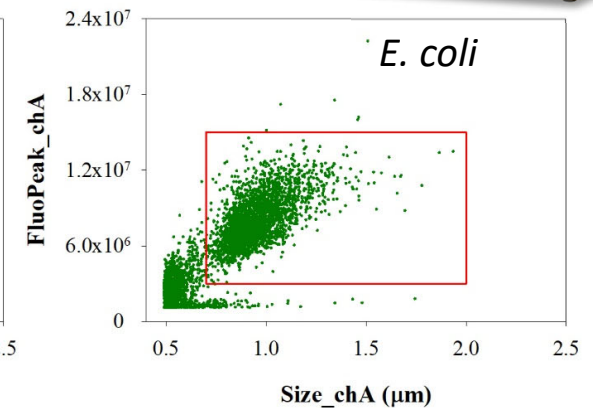
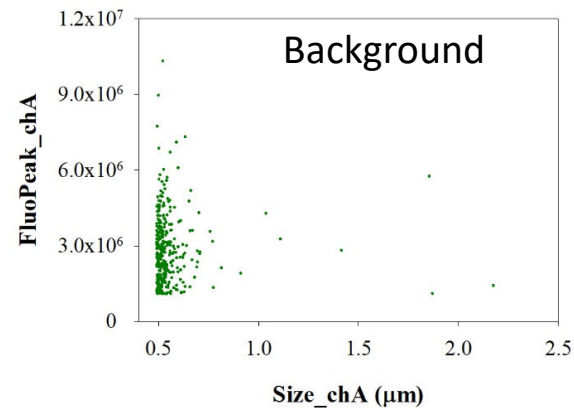


Studio vitalità

Determinazione concentrazione batteri totali

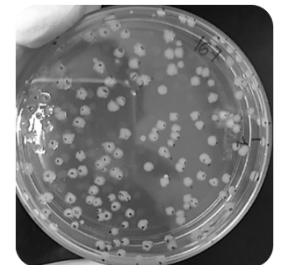


- WIBS monitor online per bioaerosol
- Analisi dati con software dedicato
 - Procedura specifica per ogni ceppo batterico
 - Concentrazione batteri totali in funzione del tempo
 - $Cells\ cm^{-3}$



Determinazione concentrazione batteri vitali

- Campionamento attivo su piastre Petri mediante impattore Andersen
 - A tempi fissati: 0, 30, 60, 90 e 120 minuti
 - CFUs cresciute dopo incubazione overnight
 - $CFU\ cm^{-3}$

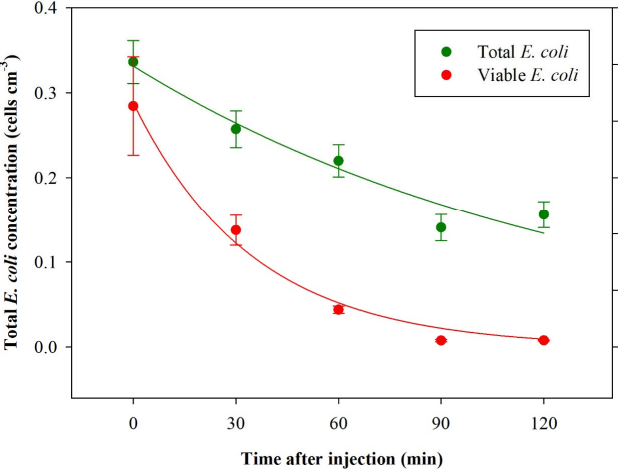


$$\frac{\text{VITALI}}{\text{TOTALI}} \text{ (tempo) in ChAMBRé}$$

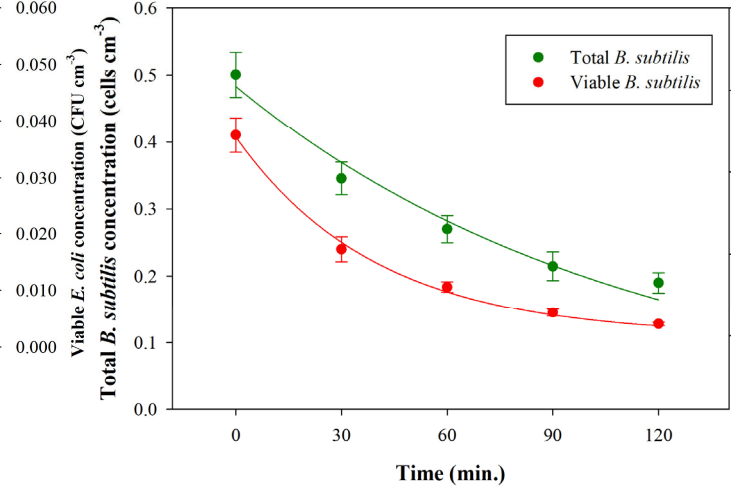
Baseline

$$C(t) = C_0 e^{-\frac{t}{\tau} \text{lifetime}}$$

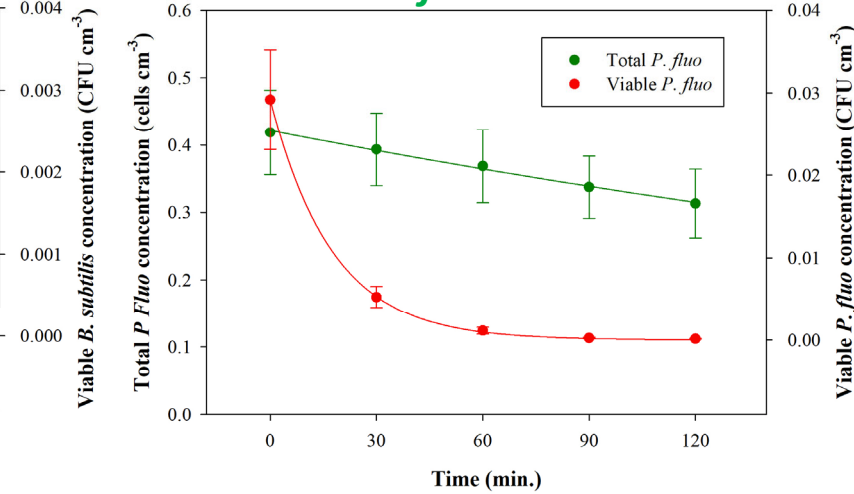
E. coli



B. subtilis



P. fluorescens



Lifetime totali ≈ 153 minuti
 Lifetime vitali ≈ 32 minuti

Lifetime totali ≈ 113 minuti
 Lifetime vitali ≈ 36 minuti

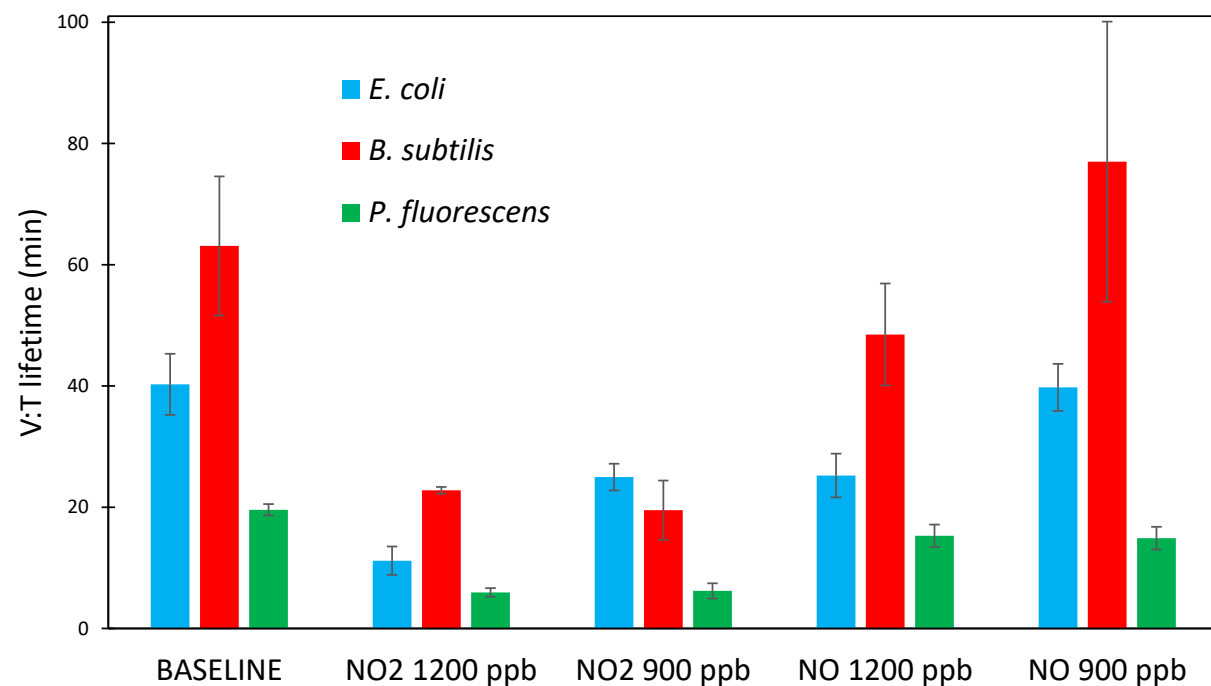
Lifetime totali ≈ 406 minuti
 Lifetime vitali ≈ 19 minuti

Vernocchi et al., (2023).
 Atmos. Meas. Tech., 16, 5479-5493

Sensibilità del protocollo sperimentale ≈ 12%

Inquinanti gassosi

Cambiamenti nella vitalità dovuti all'esposizione ad inquinanti sono valutati in termini di cambiamenti del *lifetime* del rapporto V:T



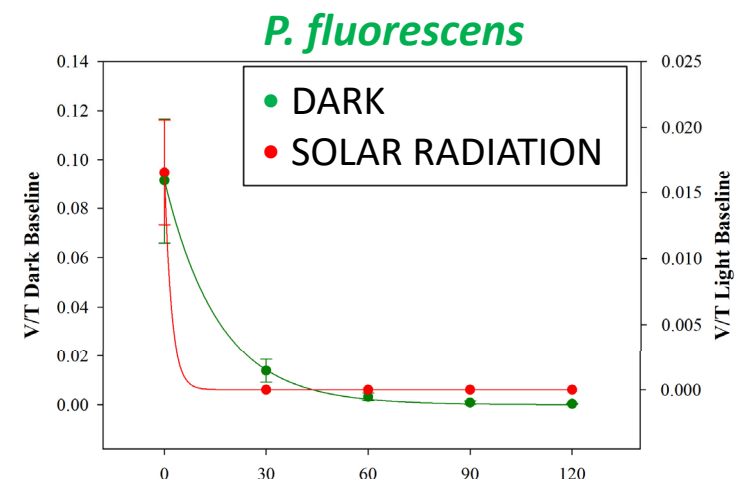
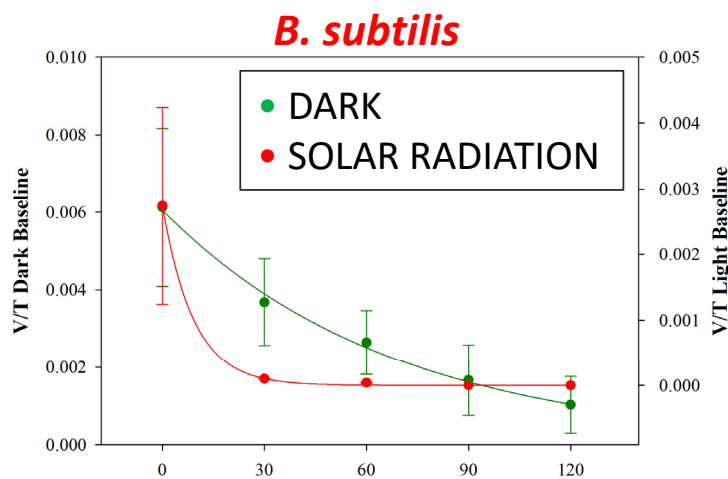
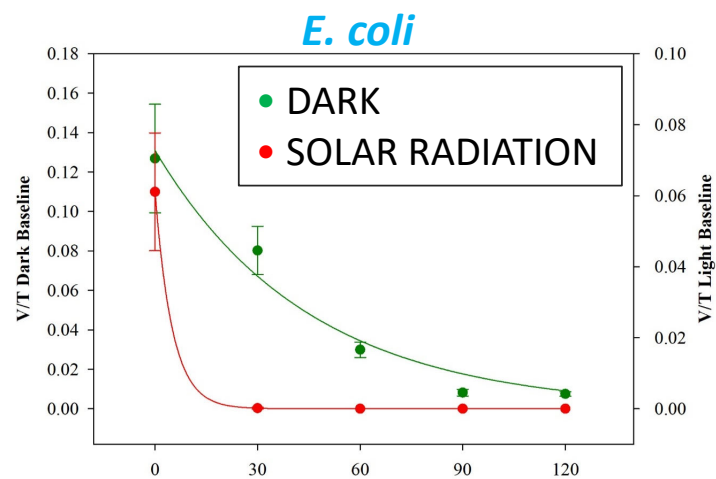
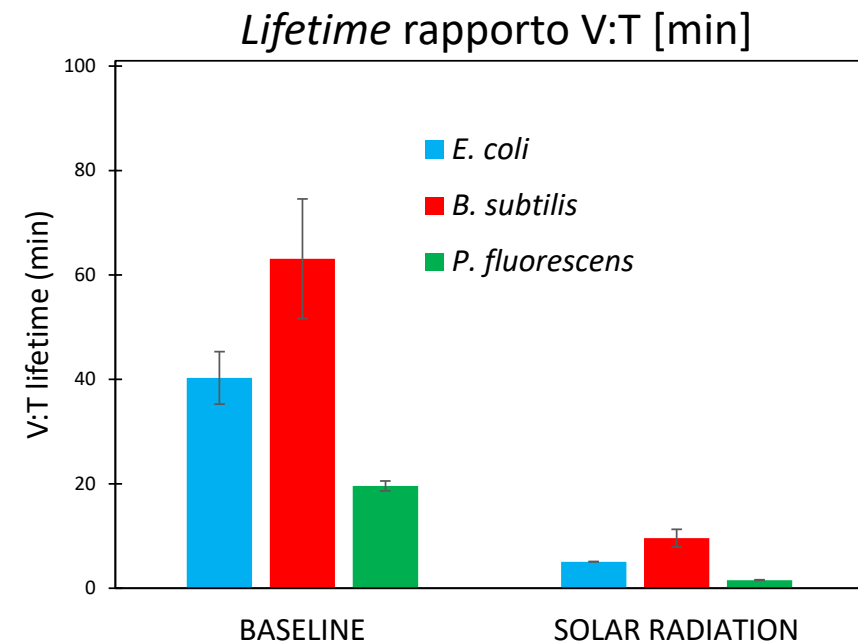
Lifetime rapporto V:T [min]

EXPERIMENT	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. fluorescens</i>
Baseline	40 ± 5	63 ± 11	20 ± 1
NO ₂ 1200 ppb	11 ± 2	23 ± 1	6 ± 1
NO ₂ 900 ppb	25 ± 2	20 ± 5	6 ± 1
NO 1200 ppb	25 ± 4	48 ± 8	15 ± 2
NO 900 ppb	26 ± 3	77 ± 23	15 ± 2

Radiazione solare

Riduzione significativa nella vitalità batterica

La radiazione solare è in generale riconosciuta come un fattore abiotico avente effetti negative su alcuni ceppi batterici



Time [min]

Conclusioni

- Sviluppo di un **protocollo sperimentale** per studiare gli effetti della qualità dell'aria sulla vitalità batterica utilizzando una **ASC**
- **Studi sistematici** su differenti **ceppi batterici** (modelli non patogeni)
- Valutazione **effetti** di diverse **condizioni atmosferiche** e altri **inquinanti** (non solo gassosi)





ITINERIS

Italian Integrated Environmental Research Infrastructures System



Grazie per l'attenzione!

virginia.vernocchi@ge.infn.it

The work has been funded by EU - Next Generation EU Mission 4 "Education and Research" - Component 2: "From research to business" - Investment 3.1: "Fund for the realisation of an integrated system of research and innovation infrastructures" - Project IR0000032 - ITINERIS - Italian Integrated Environmental Research Infrastructures System - CUP B53C22002150006.

The authors acknowledge the Research Infrastructures participating in the ITINERIS project with their Italian nodes: ACTRIS, ANAEE, ATLaS, CeTRA, DANUBIUS, DISSCO, e-LTER, ECORD, EMPHASIS, EMSO, EUFAR, Euro-Argo, EuroFleets, Geoscience, IBISBA, ICOS, JERICO, LIFEWATCH, LNS, N/R Laura Bassi, SIOS, SMINO.