

**Exposition aux bioaérosols
dans les centres de traitement
des eaux usées**
Application d'approches moléculaires
et risque viral

Caroline Duchaine
Marc Veillette
Vanessa Dion Dupont
Hamza Mbareche
Évelyne Brisebois
Jacques Lavoie
Yves Beaudet

RAPPORTS
SCIENTIFIQUES

R-1061

NOS RECHERCHES travaillent pour vous !

Solidement implanté au Québec depuis 1980, l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) est un organisme de recherche scientifique reconnu internationalement pour la qualité de ses travaux.

Mission

Contribuer, par la recherche, à la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles ainsi qu'à la réadaptation des travailleurs qui en sont victimes;

Assurer la diffusion des connaissances et jouer un rôle de référence scientifique et d'expertise;

Offrir les services de laboratoires et l'expertise nécessaires à l'action du réseau public de prévention en santé et en sécurité du travail.

Doté d'un conseil d'administration paritaire où siègent en nombre égal des représentants des employeurs et des travailleurs, l'IRSST est financé par la Commission des normes, de l'équité, de la santé et de la sécurité du travail.

Pour en savoir plus

Visitez notre site Web ! Vous y trouverez une information complète et à jour.
De plus, toutes les publications éditées par l'IRSST peuvent être téléchargées gratuitement.
www.irsst.qc.ca

Pour connaître l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement :

- au magazine *Prévention au travail*, publié conjointement par l'Institut et la CNESST (preventionautravail.com)
- au bulletin électronique [InfoIRSST](#)

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec
2019
ISBN : 978-2-89797-095-6
ISSN : 0820-8395

IRSST - Direction des communications
et de la valorisation de la recherche
505, boul. De Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec)
H3A 3C2
Téléphone : 514 288-1551
publications@irsst.qc.ca
www.irsst.qc.ca
© Institut de recherche Robert-Sauvé
en santé et en sécurité du travail,
décembre 2019

Exposition aux bioaérosols dans les centres de traitement des eaux usées

Application d'approches moléculaires et risque viral

Caroline Duchaine^{1,2}, Marc Veillette²,
Vanessa Dion Dupont¹, Hamza Mbareche¹,
Évelyne Brisebois¹, Jacques Lavoie³, Yves Beaudet³

Collaborateurs :
Yves Lacasse², Serge Simard²

¹ Département de biochimie, de microbiologie et de
bio-informatique, Université Laval

² Centre de recherche de l'Institut universitaire de
cardiologie et de pneumologie de Québec (IUCPQ),
Université Laval

³ IRSST

**RAPPORTS
SCIENTIFIQUES**

R-1061



Avis de non-responsabilité

L'IRSST ne donne aucune
garantie relative à l'exacti-
tude, la fiabilité ou
le caractère exhaustif de
l'information contenue dans
ce document.

En aucun cas l'IRSST ne
saurait être tenu responsable
pour tout dommage corporel,
moral ou matériel résultant
de l'utilisation de cette
information.

Notez que les contenus des
documents sont protégés par
les législations canadiennes
applicables en matière de
propriété intellectuelle.

Cette publication est disponible
en version PDF sur le site Web
de l'IRSST.



ÉVALUATION PAR DES PAIRS

Conformément aux politiques de l'IRSST, les résultats des travaux de recherche publiés dans ce document ont fait l'objet d'une évaluation par des pairs.

REMERCIEMENTS

L'équipe tient à remercier les responsables des établissements qui ont accepté de participer à cette recherche, ont offert leur soutien et ont autorisé les échantillonnages dans leur milieu de travail, ce qui a rendu possible la réalisation de ce projet. Les auteurs tiennent à exprimer leur gratitude aux travailleurs volontaires qui ont participé au volet d'échantillonnage personnel et rempli les questionnaires de santé. Les auteurs saluent et expriment leur considération aux membres du comité de suivi dont la contribution a permis de bonifier le projet et qui permettront de s'assurer que les résultats puissent être valorisés dans ce secteur d'activité.

SOMMAIRE

Le traitement des eaux usées comporte plusieurs étapes susceptibles de générer des bioaérosols auxquels des travailleurs peuvent être exposés. Bien que la littérature à ce sujet soit relativement abondante, les connaissances relatives au risque, à l'exposition et à la fréquence de certaines maladies chez cette population demeurent mal documentées. L'environnement des centres de traitement des eaux usées est complexe à plusieurs égards. En effet, les différents sites de traitement représentent des risques variables en ce qui a trait à la nature et à la concentration des bioaérosols, ainsi qu'au type de travail effectué. La majorité des études s'intéressant à cette problématique ont utilisé des approches dites classiques, utilisant la culture de microorganismes, afin d'étudier la concentration et la nature des bioaérosols. Très peu de données relatives à certaines infections virales (grippe, gastroentérite) sont disponibles, rendant difficile l'évaluation du risque associé à ce type de travail.

Les pays nordiques représentent une situation particulière, car les saisons ont un impact sur différents paramètres comme le confinement intérieur des étapes de traitement, les débits de ventilation des établissements et la variation de la température de l'eau à traiter. La compréhension de l'influence des saisons sur l'exposition professionnelle est donc importante.

Très peu d'informations sont disponibles quant à l'incidence des symptômes respiratoires et gastroentériques chez les travailleurs œuvrant dans ce milieu, symptômes pour lesquels les travailleurs s'absentent du travail. Cette recherche vise à combler certaines lacunes dans les connaissances relatives au risque professionnel associé au travail dans les centres de traitement des eaux usées (CTEU), tout en mettant à profit une expertise unique dans l'analyse des bioaérosols (bactériens et viraux) et en appliquant des technologies modernes de biologie moléculaire. Grâce à ces technologies, il devient possible de mieux décrire l'exposition des travailleurs de ce secteur d'activité à certains virus pathogènes respiratoires ou gastro-intestinaux.

Ce projet de recherche a permis de décrire la diversité des bioaérosols et de documenter des corrélations inattendues entre les bactéries cultivables et les endotoxines, suggérant un abaissement d'exposition aux bactéries cultivables. La biologie moléculaire a permis de mesurer de façon efficace les bactéries totales dans les bioaérosols et cette mesure est suggérée comme marqueur d'exposition potentiel. La présence de nombreux virus par biologie moléculaire a aussi été démontrée, mais leur degré d'infectivité n'a pas été établi. Seul l'adénovirus montre une corrélation avec les bactéries totales estimées et les endotoxines. La mesure de ce virus pourrait servir de biomarqueur d'exposition. Des échantillonnages personnels ont validé les niveaux d'exposition aux bioaérosols. Enfin, des questionnaires longitudinaux autoadministrés proposent que les travailleurs des CTEU sont plus fréquemment victimes de symptômes gastroentériques, qu'ils s'absentent plus fréquemment du travail pour cette raison et qu'ils sont plus sujets à ressentir des symptômes relatifs au contact avec de l'air de moins bonne qualité. Cette étude d'envergure a permis une caractérisation exhaustive de l'exposition aux bioaérosols infectieux, non infectieux et sensibilisants, ce qui contribuera éventuellement à une meilleure évaluation du risque et à l'implantation de mesures visant à mieux contrôler l'exposition. Aussi, l'étude pilote effectuée auprès d'un sous-groupe de travailleurs de ce milieu a permis d'approfondir l'incidence de symptômes respiratoires et gastroentériques au sein de cette population.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	I
SOMMAIRE	III
LISTE DES TABLEAUX	IX
LISTE DES FIGURES.....	XI
LISTE DES ACRONYMES, SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XIII
1. INTRODUCTION	1
2. ÉTAT DES CONNAISSANCES	3
2.1 Bioaérosols et exposition des travailleurs	3
2.2 Santé des travailleurs	5
3. OBJECTIFS DE RECHERCHE	7
4. MÉTHODOLOGIE	9
4.1 Centre de traitement des eaux usées	9
4.2 Méthodes d'échantillonnage et d'analyse des bioaérosols	10
4.2.1 Postes d'échantillonnage.....	10
4.2.2 Calibration des pompes	10
4.2.3 Mesure des changements d'air.....	10
4.2.4 Mesure des brouillards d'huile	10
4.2.5 Mesures de température et d'humidité relative	10
4.2.6 Bioaérosols cultivables	10
4.2.7 Prélèvements et traitement des échantillons par biologie moléculaire (bactéries)	11
4.2.8 Prélèvements et traitement des échantillons par biologie moléculaire (virus)	11
4.2.9 Amplifications qPCR.....	12
4.2.10 Analyses de la biodiversité	12
4.2.11 Mesure des endotoxines en postes stationnaires	13
4.2.12 Détermination de la distribution granulométrique des pathogènes aéroportés	13
4.3 Échantillonnages personnels	14
4.3.1 Corrélation mesure endotoxines et bactéries totales sur les échantillonneurs personnels	14
4.4 Suivi épidémiologique	14

4.4.1	Recrutement.....	14
4.4.2	Questionnaire.....	15
4.4.3	Compilation des données santé	15
4.5	Présentation des données et analyses statistiques.....	15
5.	RÉSULTATS	17
5.1	Recrutement et description des CTEU.....	17
5.2	Objectif principal : Décrire les bioaérosols aux sites de traitement de CTEU à l'aide d'échantillonnages stationnaires.....	18
5.2.1	Observer s'il y a variation dans la biodiversité ainsi que dans la concentration des microorganismes	18
5.2.2	Quantifier les endotoxines dans l'air aux différents postes de travail ainsi que les bactéries à Gram négatif cultivables	21
5.2.3	Évaluer la présence de certaines bactéries pathogènes dans l'air des CTEU	22
5.2.4	Étudier l'exposition aux virus pathogènes respiratoires et entériques dans l'air des CTEU.....	23
5.2.5	Décrire la grosseur et le contenu biologique des aérosols présents dans l'air, et ce, dans les différents sites	25
5.2.6	Établir les taux de changements d'air moyens en été et en hiver aux différents sites	27
5.2.7	Mesurer les brouillards d'huile	28
5.3	Objectif secondaire 1 : Observer l'exposition personnelle journalière de travailleurs œuvrant dans des CTEU	28
5.3.1	Décrire l'exposition personnelle en été et en hiver.....	28
5.3.2	Décrire l'exposition personnelle aux endotoxines	29
5.4	Objectif secondaire 2 : Effectuer un suivi épidémiologique exploratoire chez des employés afin d'étudier les désordres gastro-intestinaux et respiratoires	30
5.4.1	Description de la cohorte	30
5.4.2	Absentéisme.....	32
5.4.3	Symptômes respiratoires	33
5.4.4	Symptômes gastroentériques	34
6.	DISCUSSION	35
6.1	CTEU à l'étude	35
6.2	Description des bioaérosols aux sites de traitement de CTEU à l'aide d'échantillonnages stationnaires	35
6.2.1	Bactéries cultivables et endotoxines.....	35
6.2.2	Bactéries totales mesurées par qPCR.....	36
6.2.3	Quantification de bactéries pathogènes par qPCR	37
6.2.4	Quantification de virus pathogènes par qPCR	37

6.2.5	Biodiversité des bioaérosols de CTEU.....	38
6.2.6	Grosseur et contenu biologique des bioaérosols	39
6.3	Description de l'exposition personnelle des travailleurs	39
6.3.1	Exposition aux bactéries.....	39
6.3.2	Exposition aux endotoxines	39
6.4	Suivi épidémiologique exploratoire.....	40
6.4.1	Cohorte	40
6.4.2	Symptômes	40
7.	CONCLUSION.....	43
	BIBLIOGRAPHIE	45
	ANNEXE A : QUESTIONNAIRE.....	51

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.	Étapes de traitement à l'étude dans les huit CTEU participants	9
Tableau 2.	Références amorces et sondes qPCR	12
Tableau 3.	Concentration de rotavirus (génomés/m ³ d'air) sur les différents étages des échantillonneurs Marple	26
Tableau 4.	Valeurs médianes des taux de changement d'air (nombre/heure) pour les différentes étapes de traitement de l'eau usée en été et en hiver.....	27

LISTE DES FIGURES

Figure 1.	Température (à gauche) et humidité relative (à droite) observées aux différents sites d'échantillonnages.	17
Figure 2.	Humidité relative observée aux différentes étapes du traitement en hiver et en été.....	17
Figure 3.	Concentrations de bactéries totales (à gauche) et de bactéries totales cultivables (à droite) obtenues aux différentes étapes du traitement des eaux usées, selon la saison. La ligne pointillée représente la valeur limite d'exposition recommandée par l'IRSST (10^4 bactéries cultivables/ m^3).....	18
Figure 4.	Corrélations entre les concentrations de bactéries totales et l'humidité relative (gauche) et la température (droite), selon la saison.	19
Figure 5.	Indice de diversité Chao pour tous les échantillons prélevés en été et en hiver.....	19
Figure 6.	Indice de diversité Chao aux différentes étapes du traitement des eaux usées.	20
Figure 7.	Analyse en composante principale de la diversité bactérienne à tous les sites échantillonnés.....	20
Figure 8.	Concentrations d'endotoxines (unités d'endotoxines [UE]/ m^3 d'air) observées en hiver et en été aux différentes étapes du traitement des eaux usées. La ligne pointillée représente la valeur limite recommandée par l'IRSST ($90 \text{ UE}/m^3$).	21
Figure 9.	Concentrations de bactéries à Gram négatif (unités formatrices de colonies [UFC]/ m^3) dans les CTEU, obtenues en hiver et en été. La ligne pointillée représente la valeur limite d'exposition ($1\,000 \text{ UFC}/m^3$) proposée par l'IRSST.	22
Figure 10.	Corrélations entre les concentrations d'endotoxines mesurées dans les CTEU et les mesures de bactéries à Gram négatif (à gauche) et les bactéries totales cultivables (à droite).	22
Figure 11.	Concentrations de quatre bactéries potentiellement pathogènes, aux différentes étapes du traitement des eaux usées en hiver et en été.	23
Figure 12.	Concentrations de génomes de virus respiratoires et gastroentériques mesurées par qPCR dans l'air de deux CTEU au cours des quatre saisons. Les barres horizontales représentent les valeurs moyennes.	24
Figure 13.	Concentration de virus influenza A mesurée au cours des quatre saisons.....	24
Figure 14.	Concentration de bactéries totales mesurée par qPCR sur les différents étages de l'échantillonneur Marple en hiver et en été. Les barres horizontales représentent les valeurs moyennes.....	25
Figure 15.	Taux de changements d'air observé aux différentes étapes du traitement des eaux usées en hiver et en été.	27

Figure 16.	Mesures des brouillards d'huile dans les huit CTEU à l'étude, en hiver et en été. Les barres horizontales représentent les valeurs moyennes.	28
Figure 17.	Concentration de bactéries totales obtenue par qPCR sur les cassettes 37 mm portées par les travailleurs en été et en hiver. Les barres horizontales représentent les valeurs moyennes.....	29
Figure 18.	Corrélation entre les mesures d'endotoxines réalisées sur des cassettes 37 mm munies de filtres en fibre de verre et des concentrations de bactéries totales mesurées par qPCR sur des cassettes personnelles de 37 mm munies de filtres en polycarbonate.....	29
Figure 19.	Concentration d'endotoxines estimées à partir des valeurs obtenues par qPCR sur les cassettes 37 mm portées par les travailleurs en été et en hiver. La ligne pointillée représente la limite d'exposition recommandée de 90EU et les barres horizontales représentent les valeurs moyennes..	30
Figure 20.	Description de la cohorte de travailleurs et du groupe contrôle (CTRL) recrutés pour répondre aux questionnaires mensuels (MII = maladie inflammatoire de l'intestin).	31
Figure 21.	Exposition mensuelle et durée à l'emploi de la cohorte de travailleurs.	32
Figure 22.	Taux d'absentéisme en raison de symptômes gastroentériques ou respiratoires dans les deux cohortes (travailleurs c. groupe contrôle).	32
Figure 23.	Ratios relatifs comparant la fréquence des symptômes respiratoires chez la cohorte de travailleurs en comparaison au groupe contrôle.	33
Figure 24.	Ratios relatifs comparant la fréquence des symptômes gastroentériques chez la cohorte de travailleurs en comparaison au groupe contrôle.....	34

LISTE DES ACRONYMES, SIGLES ET ABRÉVIATIONS

AAE :	Alvéolite allergique extrinsèque
AGA :	American Gastroenterological Association
APSAM :	Association paritaire pour la santé et la sécurité du travail, secteur « affaires municipales »
ASTM International :	Anciennement connue sous le nom d'American Society for Testing Material
ATS :	American Thoracic Society
CNESST :	Commission des normes, de l'équité, de la santé et de la sécurité du travail
CTEU :	Centre de traitement des eaux usées
DECOS :	Dutch Expert Committee on Occupational Safety
DEP :	Débit expiratoire de pointe
IRSST :	Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail
LAL :	Lysat d'amœbocyte de limule
MAMH :	Ministère des Affaires municipales et de l'Habitation
qPCR :	Réaction quantitative de polymérase en chaîne
qRT-PCR :	Réaction quantitative de polymérase en chaîne précédée d'une transcription inverse
RSST :	Règlement sur la santé et la sécurité du travail
STEPO :	Syndrome toxique d'exposition aux poussières organiques
VEMS :	Volume expiratoire maximal à la première seconde
UE :	Unité d'endotoxine

1. INTRODUCTION

L'exposition aux bioaérosols en milieu de travail est un facteur de risque de développement de maladies professionnelles soit infectieuses ou de sensibilisation. Les eaux usées issues des systèmes municipaux peuvent contenir différents pathogènes tels des virus, bactéries, protozoaires de même que des œufs de certains parasites et même des huiles de restaurant. Les diverses activités de traitement qui prennent place dans les centres de traitement des eaux usées (CTEU) sont reconnues comme des générateurs importants d'aérosols microbiens pouvant nuire tant aux travailleurs œuvrant dans cette industrie qu'aux populations avoisinantes (Carducci, Arrighi et Ruschi, 1995; Douwes, Mannelje et Heederik, 2001; Fannin, Vana et Jakubowski, 1985; Fracchia, Pietronave, Rinaldi et Giovanna Martinotti, 2006; Grisoli *et al.*, 2009; Orsini *et al.*, 2002; Pillai, Widmer, Dowd et Ricke, 1996; Van Hooste *et al.*, 2010).

Des aérosols ayant la capacité de demeurer en suspension pendant plusieurs heures peuvent être générés lors des activités de traitement des eaux et possiblement contenir l'ensemble des agents biologiques présents dans l'eau traitée, et ainsi être inhalés par les travailleurs (Sanchez-Monedero, Aguilar, Fenoll et Roig, 2008). Ces particules peuvent éventuellement sédimenter et pourront ensuite suivre la route de contamination dite « mains-bouche » à la suite d'un contact humain avec les surfaces contaminées. Ces deux voies d'exposition peuvent causer des désordres respiratoires et gastroentériques. Des corrélations significatives entre l'exposition aux bioaérosols et l'incidence des maladies respiratoires ou entériques ont été décrites dans ces environnements. Pour les symptômes gastroentériques, on observe, par exemple, une augmentation de 37 % des symptômes aigus de gastroentérite chez les travailleurs des CTEU comparativement à la population normale (Thorn et Kerekes, 2001; Uhrbrand, Schultz et Madsen, 2011). Aussi, plusieurs symptômes tels les maux de tête, la faiblesse et la fièvre ont été décrits comme étant plus fréquents chez les travailleurs d'usines de traitement d'eaux usées (Rylander, 1999).

De surcroît, une exposition prolongée et continue à de grandes concentrations de bioaérosols peut mener à une sensibilisation et au développement de maladies professionnelles tels l'alvéolite allergique extrinsèque (AAE), l'asthme ou le syndrome toxique d'exposition aux poussières organiques (Lacey, 1991; Lacey et Dutkiewicz, 1994). Plusieurs agents biologiques contenus dans les bioaérosols des CTEU pourraient être responsables des diverses affections chez les travailleurs : les endotoxines, les bactéries pathogènes, les brouillards d'huile ou l'exposition à divers virus (Fannin *et al.*, 1985; Ivens *et al.*, 1999; Rylander, 1999; Smit, Spaan et Heederik, 2005). Des résultats d'échantillonnages démontrent que les travailleurs peuvent être exposés à des quantités importantes de coliformes provenant des eaux en traitement ainsi qu'au norovirus G1 (Heinonen-Tanski, Reponen et Koivunen, 2009; Uhrbrand *et al.*, 2011).

Les travailleurs œuvrant dans le secteur de l'épuration des eaux usées font donc partie d'un groupe à risque en ce qui a trait à l'exposition aux divers agents pathogènes contenus dans leur environnement de travail. Le risque encouru par ces travailleurs est donc inhérent à la composition des effluents qui sont traités dans de tels établissements. L'inexistence de normes d'exposition aux bioaérosols ainsi qu'une méconnaissance de leur contenu microbien rendent les recommandations en lien avec les mesures de confinement et de protection individuelle difficiles à établir.

En se basant sur la littérature scientifique, il peut être conclu que l'effet réel du travail sur la population de travailleurs des CTEU est sous-estimé. Selon l'Association paritaire pour la santé et la sécurité du travail, secteur « affaires municipales » (APSAM), plus de 4000 employés œuvrant dans plus de 400 CTEU sont répartis sur le territoire de la province, indiquant le nombre de travailleurs potentiellement touchés.

On observe une méconnaissance des contenus bactérien et viral des bioaérosols de ces environnements de travail. L'absence d'étude exhaustive sur l'exposition des travailleurs nuit à l'établissement de recommandations relatives aux limites d'exposition ou aux approches de prévention. Peu d'études de suivi des symptômes chez cette population n'ont été publiées, ce qui est essentiel à l'établissement des prévalences de diverses affections causées par l'environnement de travail. Les travaux scientifiques menés jusqu'à présent n'ont jamais étudié de façon exhaustive, en utilisant des méthodes de pointe, la nature des agents biologiques dans l'air de cet environnement de travail, ce qui contribue à une éventuelle sous-estimation du risque relié à ce type de travail.

Les recommandations quant au port de protection personnelle respiratoire de type N95 dans ces environnements de travail sont basées sur des mesures de bactéries mésophiles à Gram négatif totales réalisées à différentes étapes du traitement (Lavoie, J., 2000). Bien que cette mesure puisse paraître adéquate, aucune évaluation du lien entre les comptes cultivables de ces bactéries, lorsqu'utilisées comme biosenseurs, et les concentrations de virus et de bactéries pathogènes pouvant se trouver dans l'air de ces environnements n'a été réalisée. Il apparaît nécessaire de vérifier la corrélation entre les bactéries totales, les bactéries mésophiles à Gram négatif cultivables et les concentrations de virus et d'endotoxines afin de confirmer la pertinence de cette mesure pour la mise en œuvre de recommandations de protection respiratoire.

Grâce à la précieuse collaboration de l'APSAM et des intervenants du milieu, il a été possible de recruter des centres de traitement des eaux usées (CTEU) possédant des étapes de traitement confinées dans des installations intérieures. Seuls les établissements rencontrant les normes de fonctionnement et de gestion des risques ont été recrutés, afin de dresser un tableau des situations « normales » et non « extrêmes ». Ainsi, il a été possible de décrire les concentrations de plusieurs agents microbiens présents dans les bioaérosols des CTEU et de corréler certains paramètres qui permettront de suggérer des recommandations quant au suivi de la qualité de l'air au regard des concentrations de bioaérosols.

En plus des échantillonnages stationnaires, une analyse à l'échelle de l'individu de l'exposition personnelle par approche biomoléculaire a été réalisée. Ces données, couplées à un volet épidémiologique exploratoire, ont permis d'amasser des informations sur les symptômes de gastroentérites et respiratoires des travailleurs et d'un groupe contrôle.

2. ÉTAT DES CONNAISSANCES

À l'époque où les systèmes d'égouts ont fait leur apparition, les eaux usées étaient très souvent rejetées dans l'environnement sans avoir été traitées. Il est aujourd'hui acquis que le traitement des eaux usées fait partie des plus grands enjeux de santé publique, et ce, à l'échelle mondiale, à la fois pour la santé des êtres humains et pour l'environnement.

Les eaux usées ou eaux grises sont des eaux qui ont été utilisées par les activités humaines. On y trouve une grande diversité de déchets d'origines humaine (tâches ménagères, hygiène, toilette, etc.), urbaine (ordures, nettoyage des routes, carburants, etc.), agricole (pesticides, fumier, etc.) et industrielle (huile, produits pharmaceutiques, etc.). Le traitement a donc pour objectif de débarrasser l'eau d'une bonne partie des matières organiques, matières solides, nutriments, organismes pathogènes et autres polluants, ou d'en réduire la quantité à un niveau jugé acceptable pour être rejetée dans l'environnement.

Au Québec, les stations d'épuration sont toutes soumises à des normes de rejets émises par le ministère des Affaires municipales et de l'Habitation (MAMH), qui peuvent être différentes selon la sensibilité du milieu récepteur. Avec l'augmentation des standards exigés pour la qualité des eaux traitées avant leur rejet dans l'environnement, les étapes de traitement se sont perfectionnées et multipliées avec les années. Dans un climat nordique, plusieurs étapes du procédé sont aujourd'hui réalisées dans les installations intérieures afin d'effectuer un meilleur contrôle des étapes de traitement et de minimiser les effets sur la population avoisinante. Ce confinement a pour conséquence une éventuelle concentration des bioaérosols et une exposition accrue des travailleurs.

2.1 Bioaérosols et exposition des travailleurs

Les études qui portent sur les niveaux de bioaérosols dans les CTEU rapportent des niveaux de bactéries cultivables qui varient considérablement (Carducci *et al.*, 2000; Grisoli *et al.*, 2009; Lavoie, J., Marchand, Pépin, Beaudet et Lachapelle, 1997b; Sanchez-Monedero *et al.*, 2008). Ces variations observées entre les études sont majoritairement dues aux disparités dans les technologies de traitement dans les usines étudiées, aux caractéristiques de l'effluent, aux conditions climatiques et géographiques de même qu'aux techniques d'échantillonnage et d'analyse (Pillai *et al.*, 1996). En effet, il est important de rappeler qu'aucune méthode standardisée universelle n'est proposée pour l'étude des bioaérosols et que des approches technologiques utilisant la biologie moléculaire (ex : PCR) ont été abondamment développées au cours des dernières années.

À ce jour, l'accent a été mis sur la caractérisation des bioaérosols dans des installations majoritairement situées à l'extérieur, soit principalement près des aérateurs de boues activées, de sites d'irrigation ou en aval des usines de traitement (Fracchia *et al.*, 2006; Grisoli *et al.*, 2009). Dans certains centres, notamment au Québec, la majeure partie du traitement de l'eau se déroule dans des espaces intérieurs. Une ventilation inadéquate, un taux d'humidité élevé et l'absence de mortalité des microorganismes due aux rayonnements solaires peuvent se traduire par une augmentation de la présence des bioaérosols viables dans ces sites. Toutefois, la concentration de microorganismes aéroportés dans les installations intérieures des usines de traitement a plus rarement été décrite.

La source des bioaérosols dans les CTEU contient un grand nombre de bactéries à Gram négatif. *Escherichia coli* est un coliforme fécal et un marqueur de la contamination par les fèces humaines. Il est fréquemment trouvé dans les bioaérosols de CTEU (Fracchia *et al.*, 2006). *Aeromonas hydrophila*, est une bactérie répandue dans les écosystèmes aquatiques (Horneman, Ali et Abbott, 2007). Plusieurs souches d'*A. hydrophila* peuvent être responsables de gastroentérites chez l'homme. En effet, on estime que 13 % des gastroentérites d'origine bactérienne seraient attribuables à cette espèce (Bin Kingombe *et al.*, 1999). Les bactéries du genre *Klebsiella* sont ubiquitaires dans l'environnement et jusqu'au tiers de la population serait porteur d'au moins une espèce de *Klebsiella* dans l'intestin, ce qui fait des humains porteurs (souvent asymptomatiques) le plus grand réservoir d'entérobactéries (Janda et Abbott, 2006). *Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène opportuniste qui est aussi ubiquitaire dans l'environnement. Elle est transmise par ingestion d'eau contaminée, mais certaines évidences montrent qu'elle pourrait aussi être transmise par aérosols (Mena et Gerba, 2009).

Une revue de la littérature récente fait état du risque d'infection associé au traitement des eaux usées au fil des dernières décennies et des risques de transmission chez les travailleurs et chez les populations avoisinantes par l'intermédiaire des bioaérosols (Korzeniewska, 2011).

Bien que très peu d'études portent sur les sites intérieurs des CTEU, des investigateurs finlandais ont publié en 2009 la concentration de biomarqueurs (coliformes et coliphages, par culture) dans sept installations de traitement d'eaux usées avec sites intérieurs (Heinonen-Tanski *et al.*, 2009). Ils démontrent que les concentrations les plus importantes de bioaérosols sont détectées lors des premières étapes du processus de traitement et que les travailleurs peuvent être exposés à des quantités importantes de coliformes et de coliphages provenant des eaux traitées, laissant ainsi sous-entendre que ces travailleurs pourraient aussi être exposés aux agents pathogènes présents dans l'effluent. En effet, la présence de biosenseurs, tels les coliphages provenant de l'intestin humain, indique que d'autres virus pourraient s'y retrouver.

Plus récemment, une étude de petite envergure à la recherche de bioaérosols viraux, qui se déroulait pendant une seule journée dans seulement un CTEU, a été publiée (Uhrbrand *et al.*, 2011). À l'aide d'échantillonneurs personnels, ces auteurs ont, d'une part, mesuré les concentrations d'endotoxines, de bactéries mésophiles et de moisissures mésophiles et thermophiles (culture à 45 °C) cultivables. D'autre part, quatre échantillons stationnaires furent utilisés pour capturer les bioaérosols. Par la suite, ils ont réalisé une quantification par réaction quantitative de polymérase en chaîne précédée d'une transcription inverse (qRT-PCR) de divers virus responsables de la grande majorité des cas de gastroentérite soit : les norovirus G1 et G2 ainsi que l'adénovirus. Comme attendu, ils relatent des expositions importantes d'endotoxines (plus de 30 UE/m³) chez quelques travailleurs (n = 5/16), alors qu'un seul était supérieur à 50 UE/m³. Quant aux virus, un seul échantillon stationnaire a révélé la présence du norovirus G1, alors que les trois virus à l'étude ont été trouvés dans les échantillons d'eau en traitement. Malheureusement, la détection des virus n'a pas été réalisée sur les échantillons provenant des échantillonneurs personnels. Il s'agit ici de la première tentative pour décrire ces virus qui étaient jusqu'à présent non détectables, puisqu'ils sont non cultivables. Il est à noter que le norovirus peut induire une infection à faible dose et seulement quelques particules virales peuvent être suffisantes pour causer une infection (Debbink, Lindesmith et Baric, 2014). Une étude pilote quant à elle a fait également état de la détection d'adénovirus dans 11 des 13 échantillons prélevés à l'extérieur d'un centre de traitement des eaux usées (Ziros, Kokkinos, Legaki et Vantarakis, 2011).

En 2013, Li et collaborateurs ont réalisé une étude portant sur la flore cultivable aéroportée en période estivale dans des installations intérieures (Li, Yanpeng, Yang, Meng, Qiu et Feng, 2013). En accord avec les résultats d'études antérieures, les concentrations observées variaient grandement selon les étapes de traitement des eaux usées. Grâce à l'utilisation d'impacteurs Andersen à six étages, ils concluent que la majorité des aérosols microbiens mesurés (bactéries, moisissures, actinomycètes) sont de taille dite respirable, soit moins de 3,3 µm. Aucune donnée quant à la présence de virus n'est disponible dans cette étude.

Une vaste étude suisse a investigué la présence de virus dans les bioaérosols de CTEU intérieurs, elle relate avoir trouvé des adénovirus dans la vaste majorité des échantillons, à la fois en été et en hiver, alors que le norovirus G2 a été trouvé seulement à quelques reprises (Masclaux, Hotz, Gashi, Savova-Bianchi et Oppliger, 2014).

2.2 Santé des travailleurs

L'incidence des symptômes respiratoires et gastroentériques chez les travailleurs œuvrant dans ce milieu au Québec est également très peu décrite. Les symptômes étant souvent de courte durée et l'origine de la maladie difficilement dissociable du milieu de vie. Les absences du travail en raison de cette maladie sont rarement déclarées aux organismes de surveillance telle la Commission des normes, de l'équité, de la santé et de la sécurité du travail (CNESST). Ainsi, il est possible que l'effet réel du travail dans les CTEU sur la population de travailleurs au Québec soit actuellement sous-estimé.

Les manifestations cliniques à la suite d'une exposition aux bioaérosols peuvent aller d'une simple réponse allergique à une infection pouvant être mortelle. De façon générale, de nombreux problèmes de santé respiratoires ou gastroentériques développés en milieu de travail peuvent être causés par des bioaérosols (Donham, K. J. *et al.*, 1995; Donham, Kelley J, Yeggy et Dague, 1985; Giusti, 2009; Liebers, Raulf-Heimsoth et Brüning, 2008; Mériaux, Cormier, Pageau, Israël-Assayag et Duchaine, 2006; Srikanth, Sudharsanam et Steinberg, 2008). Bien que l'exposition à des microorganismes aéroportés, qui sont des pathogènes opportunistes, peut mener à des maladies telles la grippe ou des gastroentérites, l'exposition prolongée et continue à de grandes concentrations de bioaérosols peut se traduire par une sensibilisation et le développement de maladies professionnelles comme l'alvéolite allergique extrinsèque (AAE), l'asthme ou le syndrome toxique d'exposition aux poussières organiques (STEPO) (Rylander, 2002). De manière plus spécifique, les travailleurs œuvrant dans les CTEU seraient plus à risque de contracter divers troubles respiratoires et gastro-intestinaux comparés au reste de la population (Albatany et El-Shafie, 2011; Giusti, 2009; Rylander, 1999; Thorn et Beijer, 2004). En effet, déjà en 2001, une revue de la littérature faisait état de corrélations significatives entre l'exposition aux bioaérosols et l'incidence des maladies respiratoires ou entériques (Thorn et Kerekes, 2001).

Outre les gastroentérites, plusieurs symptômes récurrents tels les maux de tête, les faiblesses et la fièvre ont été décrits comme étant plus fréquents chez les travailleurs d'usines de traitement d'eaux usées que dans les groupes contrôles (Rylander, 1999). L'ensemble de ces malaises a été nommé « syndrome de l'égoutier » (Rylander *et al.*, 1976). La littérature n'est pas claire concernant le rôle des endotoxines dans ces symptômes (Ivens *et al.*, 1999; Rylander, 1999). Rylander relate que les risques de diarrhée semblent être augmentés chez les travailleurs exposés à plus de 50 unités d'endotoxines (UE)/m³. Cependant, d'autres auteurs

associent plutôt ce malaise à la présence probable de virus qui corrélait possiblement avec les concentrations d'endotoxines (Fannin *et al.*, 1985). Une étude danoise, parue plus récemment, cite une augmentation de 37 % des symptômes aigus de gastroentérite chez les travailleurs des CTEU, comparativement à la population normale (Uhrbrand *et al.*, 2011).

D'autres chercheurs ont comparé l'état de santé de travailleurs de CTEU à un groupe contrôle non exposé aux eaux usées (Albatany et El-Shafie, 2011). On y révèle que le développement de courbatures, de douleurs abdominales, de respirations sifflantes, d'asthmes et de dyspnées était plus fréquent parmi les travailleurs des CTEU. Les travailleurs ont également démontré une réduction du volume expiratoire maximal à la première seconde (VEMS) et du débit expiratoire de pointe (DEP). Ces résultats suggèrent la présence d'atteinte pulmonaire de type obstructif chez cette population. Selon les auteurs, ce phénomène pourrait être induit par la présence d'endotoxines et d'autres agents, comme des bactéries, qui peuvent induire des réactions immunologiques.

Les travailleurs auraient aussi une plus forte proportion de neutrophiles dans le sang comparée à la population contrôle (Thorn et Beijer, 2004). Cette plus forte concentration de neutrophiles dans le sang peut, par exemple, être causée par une maladie inflammatoire ou encore démontrer la présence d'une infection (avec ou sans développement de symptômes apparents). Les neutrophiles font effectivement partie des premières cellules immunitaires à être recrutées dans un site d'infection, afin de phagocyter les microorganismes ou libérer des enzymes capables de les détruire (Hickey et Kubes, 2009). D'ailleurs, il avait été précédemment suggéré que l'inhalation d'endotoxines provoque une inflammation dominée par la présence de neutrophiles (Thorn et Rylander, 1998).

3. OBJECTIFS DE RECHERCHE

La présente étude a comme but général de décrire l'exposition aux bioaérosols chez les travailleurs œuvrant dans des CTEU, et ce, à l'aide d'échantillonnages stationnaires en poste fixe et personnels.

Objectif principal : Décrire les bioaérosols présents dans des CTEU à l'aide d'échantillonnages stationnaires

Sous-objectifs :

- Mesurer la concentration ainsi que la biodiversité des microorganismes;
- Quantifier les endotoxines ainsi que les bactéries à Gram négatif cultivables;
- Évaluer la présence de certaines bactéries pathogènes;
- Étudier la présence de virus pathogènes respiratoires et entériques;
- Décrire la grosseur et le contenu biologique des aérosols;
- Établir les taux de changements d'air moyens, en été et en hiver, aux différents sites;
- Mesurer les brouillards d'huile.

Objectif secondaire 1 : Observer l'exposition personnelle journalière de travailleurs œuvrant dans des CTEU

- Mesurer la concentration de bactéries totales;
- Établir des corrélations avec les concentrations d'endotoxines.

Objectif secondaire 2 : Effectuer un suivi épidémiologique exploratoire chez un groupe d'employés afin d'étudier les désordres gastro-intestinaux et respiratoires

4. MÉTHODOLOGIE

4.1 Centre de traitement des eaux usées

Huit CTEU ont été suivis lors de ce projet. Tous les sites étaient situés à l'intérieur des établissements (sites fermés). Les CTEU ont été visités entre les mois de juin et de septembre pour la période d'échantillonnage estivale alors que l'échantillonnage hivernal a eu lieu entre les mois de janvier et de mars. Le tableau 1 présente les étapes de traitement qui furent étudiées dans les différents sites.

Tableau 1. Étapes de traitement à l'étude dans les huit CTEU participants

CTEU	Étapes de traitement
1	Dégrillage Dessablage Biofiltration
2	Dégrillage Dessablage Biofiltration
3	Dégrillage (2x)
4	Dégrillage Dessablage Décantation
5	Dégrillage Décantation Biofiltration
6	Dégrillage Dessablage
7	Dégrillage Dessablage Décantation Biofiltration
8	Dégrillage Dessablage Décantation

Une opportunité de recherche complémentaire au présent projet a permis d'effectuer un suivi longitudinal (un an) de la présence et de la distribution des virus pathogènes dans deux CTEU à l'extérieur de la province de Québec. Des sites intérieurs comparables (dégrillage, dessablage, décantation et biofiltration) à ceux des usines québécoises furent échantillonnés à trois reprises (journées consécutives), et ce, à toutes les saisons (février, mai, août, novembre) pendant une année ($n = 12$ échantillons/usine). Les mêmes protocoles et équipements de prélèvements furent utilisés. Le traitement des échantillons a été réalisé dans le laboratoire de C. Duchaine du centre de recherche de l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec (IUCPQ), en suivant les mêmes protocoles que ceux utilisés pour les échantillons provenant des CTEU du Québec. Ces données permettent d'améliorer la puissance des constats établis lors de l'étude principale.

4.2 Méthodes d'échantillonnage et d'analyse des bioaérosols

4.2.1 Postes d'échantillonnage

Pour chacun des sites, deux campagnes de prélèvement d'échantillons furent réalisées (hiver et été). Les échantillons d'air ont été prélevés lors des différentes activités d'opération. Lors de chaque visite, les échantillons de bioaérosols utilisés pour les mesures de biologie moléculaire ainsi que les mesures de microorganismes cultivables étaient prélevés en triplicata. Les prélèvements de l'air des contrôles extérieurs ont été effectués à une dizaine de mètres en amont (par rapport aux vents) des CTEU en période estivale seulement.

4.2.2 Calibration des pompes

Les pompes personnelles Gilair5 (Levitt-Sécurité limitée) et les pompes à haut débit (Gast Manufacturing Inc., Benton Harbor, MI) ont toutes été préalablement ajustées aux débits d'échantillonnages appropriés avec un débitmètre massique série 4000 modèle 4043 de TSI (TSI Inc., Shoreview, MN)

4.2.3 Mesure des changements d'air

Pour chaque site échantillonné, une mesure des changements d'air intérieur a été effectuée. L'utilisation d'un gaz traceur (SF₆) couplée à la procédure proposée par l'ASTM International (Concentration Decay Method) (Dietz et Cote, 1982). Quatre points d'échantillonnage par zone furent choisis et les concentrations de SF₆ furent évaluées à l'aide d'un chromatographe portatif modèle 101 (Lagus Applied Technology, San Diego, CA).

4.2.4 Mesure des brouillards d'huile

Les brouillards d'huile furent mesurés à l'aide de la méthode IRSST 365-1, en utilisant un filtre 37 mm de téflon® (SKS) prépesé avec une porosité de 2,0 µm dans une cassette fermée. Les cassettes étaient reliées à une pompe Gilair5 (Levitt-Sécurité limitée) réglée à un débit de 2 L d'air/min pendant huit heures. La calibration était effectuée à l'aide d'un débitmètre DryCal 2 (Bios International Corp.). Les brouillards d'huile étaient alors quantifiés par gravimétrie. La limite de détection était de 50 µg. Des filtres contrôles ont également été apportés sur les sites et traités suivant les mêmes procédures.

4.2.5 Mesures de température et d'humidité relative

La température et l'humidité relative aux différents sites furent mesurées en début d'échantillonnage à l'aide d'un thermomètre psychrométrique (Psychro-Dyne, Industrial Instruments & Supplies, Southampton, PA).

4.2.6 Bioaérosols cultivables

Les échantillons d'air pour le prélèvement des bioaérosols cultivables ont été effectués avec des impacteurs de marque Andersen à 6 étages (Tisch Environmental, OH, EU). La durée de chaque prélèvement était de 2 min. Les pompes à haut débit (Gast Manufacturing Inc., Benton Harbor, MI) ont été préalablement ajustées à un débit de 28,3 L/min avec un débitmètre

massique série 4000 modèle 4043 (TSI Inc., Shoreview, MN) avant chaque série de prélèvements. Par la suite, les échantillonneurs étaient chargés avec des boîtes de Pétri contenant 35 mL de milieu gélosé. Les bactéries mésophiles étaient prélevées sur un milieu de gélose trypticase soja (TSA, Difco) avec de l'amphotéricine B (5 µg/mL; Sigma-Aldrich), alors que pour la détection des bactéries à Gram négatif, un milieu à gélose MacConkey (MCK; Difco) était utilisé.

Après échantillonnage, les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 48 h à 25 °C avant dénombrement en utilisant la méthode des trous positifs (Andersen, 1958). Les concentrations en microorganismes cultivables ont été exprimées en unités formant des colonies par mètre cube d'air (UFC/m³ d'air).

4.2.7 Prélèvements et traitement des échantillons par biologie moléculaire (bactéries)

Le prélèvement des échantillons pour analyse par biologie moléculaire a été effectué à très haut débit (300 L/min) en utilisant un filtre électrostatique couplé à un échantillonneur SASS 3100 (Research International, Monroe, EU). Un volume total de 30 m³ fut prélevé pour chaque échantillon. Le contenu du filtre a été élué dans un tampon stérile ayant un pH de 7,6 à l'aide de l'appareil d'extraction prévu à cette fin.

Des aliquotes de 1,5 mL du liquide d'élution des filtres SASS 3100 ont été centrifugés (10 min à 21 000 x g) et les culots ont été stockés à -20 °C, jusqu'à l'extraction d'ADN. L'ADN génomique total a été extrait en utilisant la trousse PowerLyser® Ultraclean® d'isolement d'ADN microbien (MO BIO Laboratories Inc., Carlsbad, CA) selon les instructions du fabricant. Lors de cette procédure d'extraction, l'homogénéisation du contenu en ADN a été effectuée avec un Mixer Mill MM301 (Retsch, Düsseldorf, Allemagne) à 20 mouvements par minute pendant 10 minutes. L'ADN total a été élué dans 50 µL du tampon d'élution fourni. Les extraits d'ADN ont ensuite été conservés à -20 °C.

4.2.8 Prélèvements et traitement des échantillons par biologie moléculaire (virus)

Le prélèvement de ces échantillons a également été effectué à l'aide de l'échantillonneur SASS 3100 en suivant des procédures identiques. Toutefois, contrairement aux bactéries, l'extraction des acides nucléiques viraux a été réalisée à l'aide de la trousse QIAamp MinElute Spin Virus Kit (Qiagen, Hilden, GERMANY), qui purifie à la fois l'ADN et l'ARN. Une transcription inverse a été réalisée en utilisant le iScript™ cDNA Synthesis (Qiagen, Hilden, GERMANY) en suivant le protocole du fabricant.

La quantification par PCR en temps réel fut réalisée sur une plateforme CFX 96 (BioRad). Les essais et références d'origines sont présentés au tableau 2. Toutes les quantifications furent réalisées grâce à une courbe étalon, construite soit à l'aide d'un vecteur plasmidique comportant un insert correspondant à la cible de l'essai qPCR soit à partir d'ADN génomique provenant d'une souche de référence. Toutes les sondes de type *TaqMan* étaient couplées au même tandem fluorochrome-inhibiteur (FAM-Black Hole Quencher 1).

4.2.9 Amplifications qPCR

Les amorces et les sondes utilisées ont été achetées chez Integrated DNA Technologies (Coralville, IA). Le mélange PCR contenait 2 µL de l'extrait d'ADN à tester, 0,4 pmol/L de chacune des amorces, 0,08 pmol/L de la sonde, et 10 µL de master mix (2X, QuantiTect Probe PCR kit, Qiagen, Mississauga, Ontario) dans un mélange réactionnel final ajusté avec 20 µL d'eau de grade biologie moléculaire. Les résultats ont été analysés à l'aide du logiciel Bio-Rad CFX Manager version 3.0.1224.1015 (Bio-Rad Laboratories, Mississauga, Ontario).

Pour tous les essais, le même thermo-protocole fut utilisé, soit une dénaturation initiale de 3 minutes à 94 °C suivie de 40 cycles de dénaturation à 94 °C pendant 15 secondes et appariement/extension à 60 °C pendant une minute. Toutes les courbes standards avaient une efficacité comprise entre 90 et 110 % avec un R^2 supérieur à 0,98.

Les résultats obtenus sont considérés positifs lorsque les concentrations sont supérieures au bruit de fond de la méthode qPCR (contrôles négatifs qPCR). Lorsque les échantillons blancs de terrain étaient positifs et quantifiables, les valeurs obtenues furent soustraites aux échantillons d'un même lot. La limite de quantification de la méthode complète (échantillonnage et qPCR) varie entre 5 et 10 copies/m³ d'air, dépendamment des essais qPCR.

Tableau 2. Références amorces et sondes qPCR

Cible	Référence
Bactéries totales	(Bach, Tomanova, Schlöter et Munch, 2002)
<i>Escherichia coli</i>	(Malinen, Kassinen, Rinttilä et Palva, 2003)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>	(Shannon, Lee, Trevors et Beaudette, 2007)
Adenovirus	(Heim, Ebnet, Harste et Pring-Åkerblom, 2003)
Herpes Simplex Virus 1 et 2	(Corey, Huang, Selke et Wald, 2005)
Virus Hépatite A	(Qiu, Cao, Su, Yi et Bi, 2014)
Norovirus G1 et G2	(Kageyama <i>et al.</i> , 2004)
Enterovirus	(Donaldson, Hearps et Alexandersen, 2001)
Rotavirus	(Zeng <i>et al.</i> , 2008)
Influenza A et B	(Selvaraju et Selvarangan, 2010)

4.2.10 Analyses de la biodiversité

Les préparations d'amplicons pour le pyroséquençage ont été réalisées par la plateforme d'analyses génomiques de l'Institut de biologie intégrative et des systèmes (IBIS, Université Laval) en utilisant des amorces de fusion pour les codes-barres ciblant la région V4 de l'ADNr 16S des procaryotes. Un code-barre différent a été attribué à chacun des échantillons. Le

pyroséquençage a été réalisé avec la plateforme MiSeq (Illumina®, San Diego, CA) en utilisant une approche de 2 fois 250 paires de base (2X250 pb).

Les millions de séquences générées par le séquenceur MiSeq ont été traités et analysés en se basant sur un protocole bio-informatique décrit dans de précédentes études (Mbareche, Veillette, Bilodeau et Duchaine, 2018; Veillette, Bonifait, Mbareche, Marchand et Duchaine, 2018). En bref, les séquences générées en paires ont été combinées en utilisant la commande *make.contigs* de *mothur* V1.35.1 (Schloss *et al.*, 2009). Une étape de filtration a également été réalisée à l'aide de *mothur* afin d'éliminer les séquences ambiguës, les homopolymères et les séquences trop courtes ou trop longues (non assemblée). En utilisant *VSEARCH* 2.10.14, les séquences similaires ont été regroupées afin de réduire la lourdeur des ressources informatiques. Ensuite, les séquences ont été alignées avec les séquences références de la base de données SILVA 123 en utilisant *QIIME* 1.9.0 (Caporaso *et al.*, 2010). Les séquences montrant une similarité d'au moins 97 % ont été regroupées en unités taxonomiques opérationnelles (UTO) à l'aide du programme *UPARSE* 7.1 (Edgar, 2013). Les séquences chimériques ont été identifiées et éliminées à l'aide de *UCHIME*. L'assignation d'une identité taxonomique aux UTO a été faite à l'aide de la même base de données SILVA 123. Cette étape ainsi que la génération du tableau des UTO ont été réalisées à l'aide de *QIIME* 1.9.0.

Tous les résultats de l'analyse d'écologie microbienne ont été obtenus à l'aide des scripts de *QIIME* (<http://qiime.org/scripts/>). Pour la diversité *alpha* et *bêta*, les échantillons ont été raréfiés à 4 000 séquences par échantillon afin d'inclure tous les échantillons dans l'analyse et d'éviter que ceux avec un plus grand nombre de séquences soient plus riches et qu'ils forment un regroupement dans l'analyse en composante principale. À ce sujet, le test non paramétrique PERMANOVA (Permutational Multivariate Analysis of Variance) a permis de démontrer la significativité statistique du regroupement observé dans l'analyse en composante principale ($P = 0,001$; t -statistique = 2,60)

4.2.11 Mesure des endotoxines en postes stationnaires

Une aliquote des échantillons d'air prélevés à l'aide de l'échantillonneur SASS 3100 fut utilisée pour mesurer les endotoxines. Tous les échantillons ont été analysés par la méthode chromogénique du lysat d'amœbocyte de limule (LAL) en utilisant le principe cinétique de détection selon la méthode IRSST-332. Une courbe standard dupliquée a été effectuée pour chaque plaque, son étendue allant de 1 à 0,01 UE/mL. Les duplicatas devaient avoir une variation de 4 % ou moins pour être acceptés. Tous les échantillons ont été analysés à l'aide d'un ajout dosé pour lequel un pourcentage minimal de récupération de 50 % devait être obtenu afin que le résultat soit considéré. Si une interférence était démontrée, l'échantillon devait être dilué par un facteur de 1/100 à 1/10 000, si les concentrations en endotoxines présentes dans l'échantillon le permettaient. Chaque plaque contenait également des contrôles positifs et négatifs. La limite de détection pour les endotoxines dans ce projet est de 0,1 UE/m³ d'air pour un volume d'échantillonnage de 1 m³.

4.2.12 Détermination de la distribution granulométrique des pathogènes aéroportés

Des échantillonneurs Marple à 8 étages furent utilisés pendant six heures à un débit de 2 L/min. Chaque étage était chargé d'un filtre de Mylar®. Les échantillons recueillis à chaque étage ont

été élués et les acides nucléiques étaient extraits selon les procédures décrites précédemment. Les qPCR (rotavirus et bactéries totales) ont aussi été réalisées selon les méthodes décrites pour l'analyse d'échantillons issus des échantillonneurs SASS 3100.

4.3 Échantillonnages personnels

Le volet personnel du projet a été évalué et approuvé par le Comité d'éthique de la recherche de l'IUCPQ.

Pour réaliser ce volet, trois CTEU participants ont été recrutés. Les travailleurs volontaires, qui étaient exposés aux différentes étapes du traitement, ont porté pendant cinq jours de travail consécutifs une pompe Gilair5, calibrée à un débit de 2 L/min et munie d'une cassette 37 mm couplée à un filtre de polycarbonate ayant une porosité de 0,8 µm, et ce, en période estivale et hivernale (n = 5/saison/travailleur). Les participants devaient colliger les informations relatives à la durée d'échantillonnage des cassettes afin de calculer les concentrations de bioaérosols. Une fois au laboratoire les échantillons étaient élués dans 5 ml de tampon saline+tween20 (0,85 NaCl et 0,05 % tween 20). Par la suite, l'ADN des bactéries était extrait tel que décrit précédemment et conservé à -20 °C. La quantification de bactéries totales a été réalisée en utilisant les mêmes protocoles qPCR que ceux utilisés pour les échantillons d'air. En utilisant les données sur la durée d'échantillonnage de chacune des cassettes, les résultats obtenus ont été exprimés en concentrations de bactéries totales/8 h d'exposition, soit l'équivalent d'un quart de travail.

4.3.1 *Corrélation mesure endotoxines et bactéries totales sur les échantillonneurs personnels*

Afin d'évaluer la corrélation entre les mesures obtenues avec les échantillonneurs personnels en bactéries totales estimées par qPCR et les concentrations d'endotoxines, deux cassettes 37 mm distinctes, munies de filtres en polycarbonate ayant une porosité de 0,8 µm et de filtres en fibre de verre, ont été utilisées en parallèle aux différents sites d'échantillonnage stationnaire (n = 24). Toutes les cassettes furent échantillonnées à l'aide de pompes Gilair5 calibrées à un débit de 2 L/min. Par la suite, les concentrations de bactéries totales ont été estimées, comme décrit précédemment. Les concentrations d'endotoxines furent mesurées grâce à la méthode chromogénique du LAL, comme décrit précédemment. Les valeurs log transformées ont été comparées afin d'évaluer la corrélation grâce à un test de Spearman ($\alpha = 0,05$).

4.4 Suivi épidémiologique

4.4.1 *Recrutement*

Vingt-trois travailleurs répartis dans quatre CTEU ont été recrutés pour participer à ce volet de l'étude. Ils étaient, lorsque possible, pairés à un sujet contrôle de même sexe, âge et ayant un contexte familial comparable soit la présence d'enfants en bas âge à la maison. Au total, 18 sujets contrôles ont été recrutés dans l'étude.

4.4.2 Questionnaire

Un questionnaire autoadministré construit à l'aide de l'outil REDCap (Vanderbilt University) était accessible grâce à un hyperlien inséré dans le courriel d'invitation envoyé chaque 1^{er} jour du mois en cours, à chaque participant à l'étude. Ainsi, sur une période de 12 mois consécutifs, les participants des groupes de travailleurs et contrôles étaient en mesure de répondre à un court questionnaire sur la perception de leur état de santé et sur les symptômes d'origines respiratoire et gastroentérique ressentis pendant le mois précédent. Les questionnaires autoadministrés sont inspirés de questionnaires standards de l'American Thoracic Society (ATS) et de l'American Gastroenterological Association (AGA) (Jones, Quirk et Baveystock, 1991; Lacy et Patel, 2017) .

4.4.3 Compilation des données santé

Chaque questionnaire rempli adéquatement fut considéré comme une donnée unique. Les données d'absentéisme furent compilées de manière à illustrer le taux de travailleurs et de contrôles participants qui déclaraient s'être absentes du travail au moins une journée en raison de symptômes soit respiratoires ou gastroentériques.

La compilation des données relatives aux symptômes a été réalisée en compilant les symptômes rapportés chaque mois par les participants et en calculant les ratios relatifs selon l'équation 1. Un ratio égal à 1 signifie qu'il n'y a aucune différence entre les deux groupes. Un ratio supérieur à 1 signifie une fréquence supérieure de symptômes rapportés par les travailleurs.

$$\text{Ratio relatif} = \frac{n \text{ travailleurs} / \text{total travailleurs}}{n \text{ contrôles} / \text{total contrôles}}$$

n travailleurs = nombre de questionnaires mensuels dans lesquels les travailleurs ont rapporté les symptômes,
total travailleurs = nombre total de questionnaires mensuels reçus du groupe travailleurs CTEU,
n contrôles = nombre de questionnaires mensuels dans lesquels les contrôles ont rapporté les symptômes et
totaux contrôles = nombre total de questionnaires mensuels reçus du groupe contrôle.

Équation 1 : Calcul du ratio relatif (travailleurs/contrôles) des symptômes rapportés.

4.5 Présentation des données et analyses statistiques

En raison de la distribution log-normale des données, les moyennes géométriques ont été utilisées. La distribution normale des données a été vérifiée à l'aide d'un test omnibus K2 de D'Agostino et Pearson. Les différences significatives entre divers paramètres ont été testées à l'aide d'un test de Student non païré en utilisant une correction pour des comparaisons multiples (Holm-Sidak) ou un test de non paramétrique de Wilcoxon lorsque la distribution était non normale (valeur α de 0,05). Les tests de corrélation ont été réalisés en effectuant des tests non paramétriques de Spearman ($\alpha = 0,05$). Tous les graphiques et tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Prism 7 dans la version 7.02.

Dans les figures présentant des diagrammes en boîte à moustaches, la ligne horizontale centrale représente la valeur médiane, les limites inférieures et supérieures des boîtes représentent les 25^e et 75^e percentiles respectivement et les extrémités des moustaches représentent les valeurs minimums et maximums.

5. RÉSULTATS

5.1 Recrutement et description des CTEU

Au total, huit centres de traitement des eaux usées ont participé au projet. Seules les étapes de traitement qui s'opèrent à l'intérieur ont été étudiées. Selon le type de traitement secondaire, quatre étapes du traitement ont été couvertes : le dégrillage, les bassins de dessablage, les bassins de décantation primaire et les procédés de biofiltration. Comme illustré à la figure 1, les températures intérieures des CTEU en hiver oscillaient entre 9,5 et 26,0 °C (moyenne de 17,1 °C) alors qu'en été, les températures se situaient entre 15,5 et 28,0 °C (moyenne de 24,6 °C). Les taux d'humidité relative lors des échantillonnages se situaient entre 15 et 75 % (moyenne de 48 %) comparativement à 38 et 96 % (moyenne de 76,7 %), en hiver et en été respectivement.

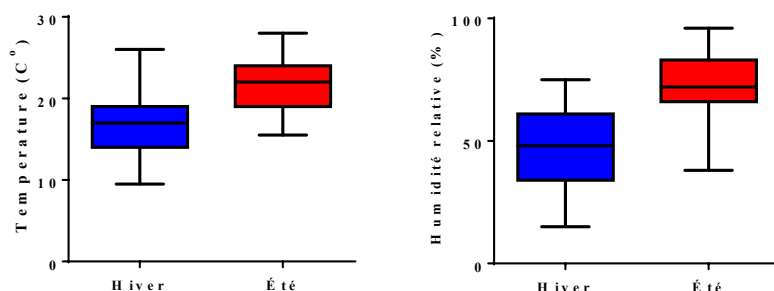


Figure 1. Température (à gauche) et humidité relative (à droite) observées aux différents sites d'échantillonnages.

À la figure 2, on remarque que, contrairement à l'été, où l'humidité relative est constante dans toutes les étapes, en hiver elle tend à augmenter au fil du traitement. En effet, on observe que l'humidité relative est plus élevée en hiver aux étapes de décantation et de biofiltration par rapport aux étapes de dégrillage et de dessablage.

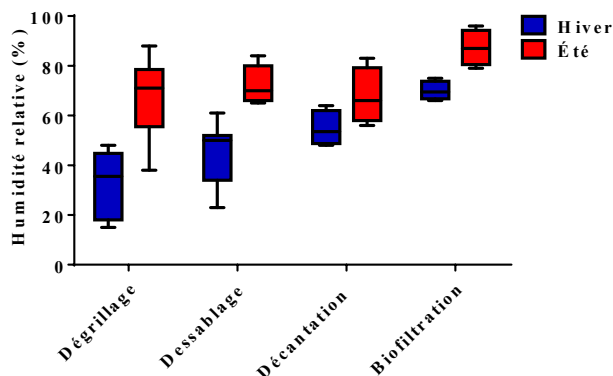


Figure 2. Humidité relative observée aux différentes étapes du traitement en hiver et en été.

5.2 Objectif principal : Décrire les bioaérosols aux sites de traitement de CTEU à l'aide d'échantillonnages stationnaires

5.2.1 Observer s'il y a variation dans la biodiversité ainsi que dans la concentration des microorganismes

Les concentrations de bactéries totales (obtenues par qPCR) et de bactéries cultivables totales (obtenues par culture sur pétri) furent mesurées à chaque site. La figure 3 présente les concentrations observées pour chaque étape de traitement de l'eau. On note des différences significatives entre les concentrations en hiver et celles en été pour les étapes de dégrillage et de dessablage. Certains sites dépassent occasionnellement la limite d'exposition suggérée par l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) qui est de 10^4 bactéries cultivables par mètre cube d'air pour une période de huit heures de travail. Ces variations sont possiblement dues à la température de l'effluent qui est plus élevée en été qu'en hiver, permettant ainsi une prolifération microbienne plus importante. Les astérisques (*) représentent une différence significative entre les saisons.

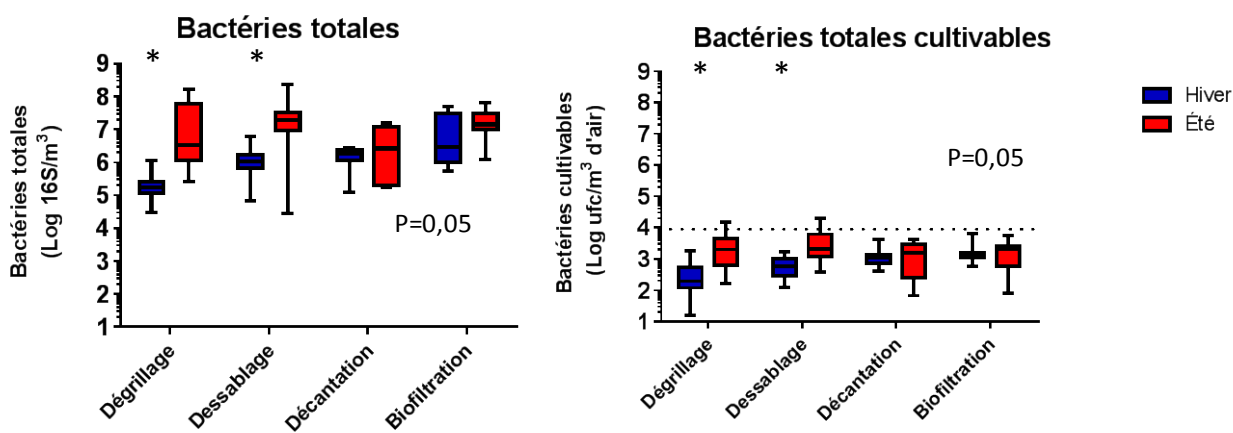


Figure 3. Concentrations de bactéries totales (à gauche) et de bactéries totales cultivables (à droite) obtenues aux différentes étapes du traitement des eaux usées, selon la saison. La ligne pointillée représente la valeur limite d'exposition recommandée par l'IRSST (10^4 bactéries cultivables/m³).

À la figure 4, on constate qu'il n'y a pas de corrélation entre les concentrations de bactéries totales (qPCR) et les mesures d'humidité relative et de températures observées aux différentes étapes de traitement des eaux usées (Spearman, $\alpha = 0,05$).

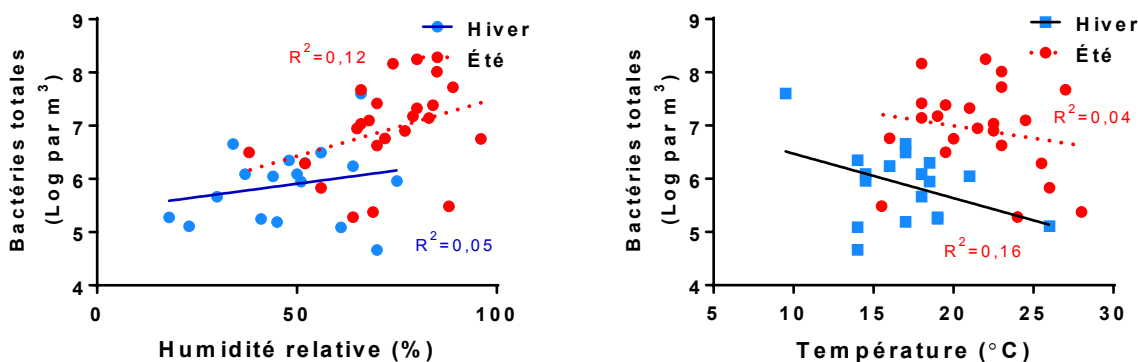


Figure 4. Corrélations entre les concentrations de bactéries totales et l'humidité relative (gauche) et la température (droite), selon la saison.

Des mesures de biodiversité réalisées à l'aide de l'indice de Chao, à partir du séquençage haut débit des échantillons d'air prélevés révèlent que la diversité observée dans les CTEU est comparable en été et en hiver (figure 5). L'analyse de la diversité aux différentes étapes de traitement des eaux usées montre que la diversité est également comparable, peu importe les étapes du traitement (figure 6).

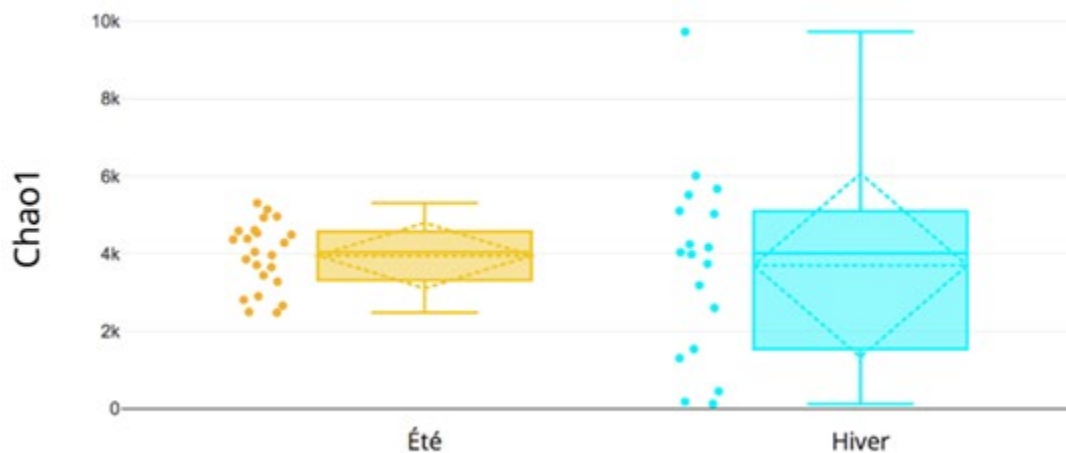


Figure 5. Indice de diversité Chao pour tous les échantillons prélevés en été et en hiver.

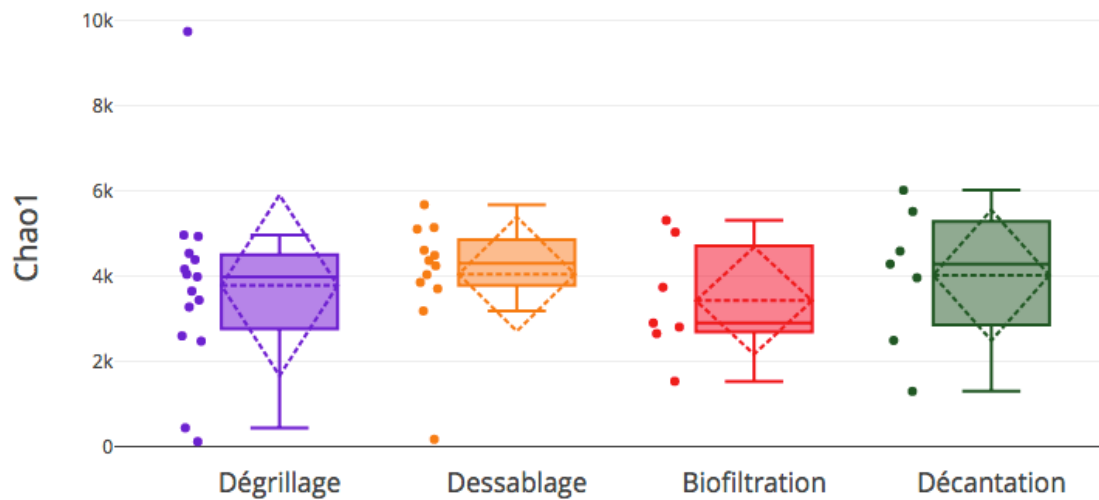


Figure 6. Indice de diversité Chao aux différentes étapes du traitement des eaux usées.

À la figure 7, une analyse en composante principale de la diversité bactérienne montre que l'ensemble des échantillons possède une diversité qui est comparable tandis que les échantillons contrôles extérieurs se distinguent clairement. On remarque donc que la diversité bactérienne présente dans les bioaérosols varie peu au fil du traitement des eaux usées.

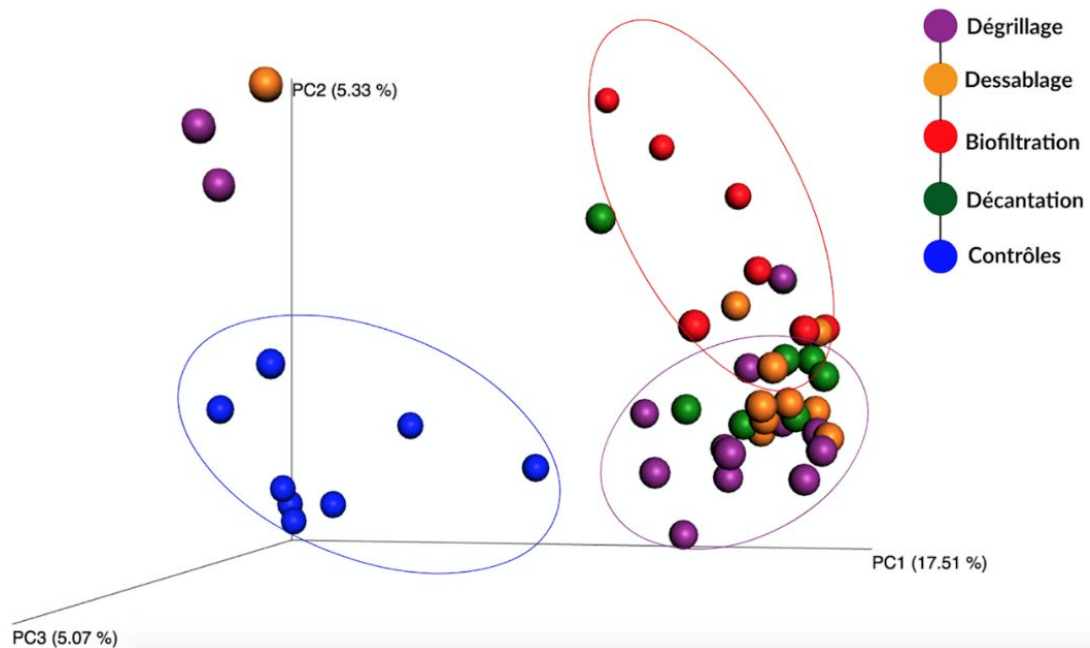


Figure 7. Analyse en composante principale de la diversité bactérienne à tous les sites échantillonnés.

5.2.2 Quantifier les endotoxines dans l'air aux différents postes de travail ainsi que les bactéries à Gram négatif cultivables

Les endotoxines et bactéries à Gram négatif cultivables furent mesurées à chaque étape du traitement des eaux usées. La figure 8 illustre les concentrations d'endotoxines mesurées en hiver et en été. En été, les valeurs limites recommandées par l'IRSST (90 UE/m^3) sont régulièrement dépassées, particulièrement aux étapes auxquelles le brassage de l'eau et la génération d'aérosols sont plus importants. L'astérisque (*) représente une différence significative ($P \leq 0,05$) entre les saisons à l'aide d'un test de Mann Whitney non pairé. Les dièses (#) représentent une différence significative entre les saisons à l'aide d'un test de Student ($\alpha = 0,05$) non pairé en utilisant une correction pour des comparaisons multiples (Holm-Sidak).

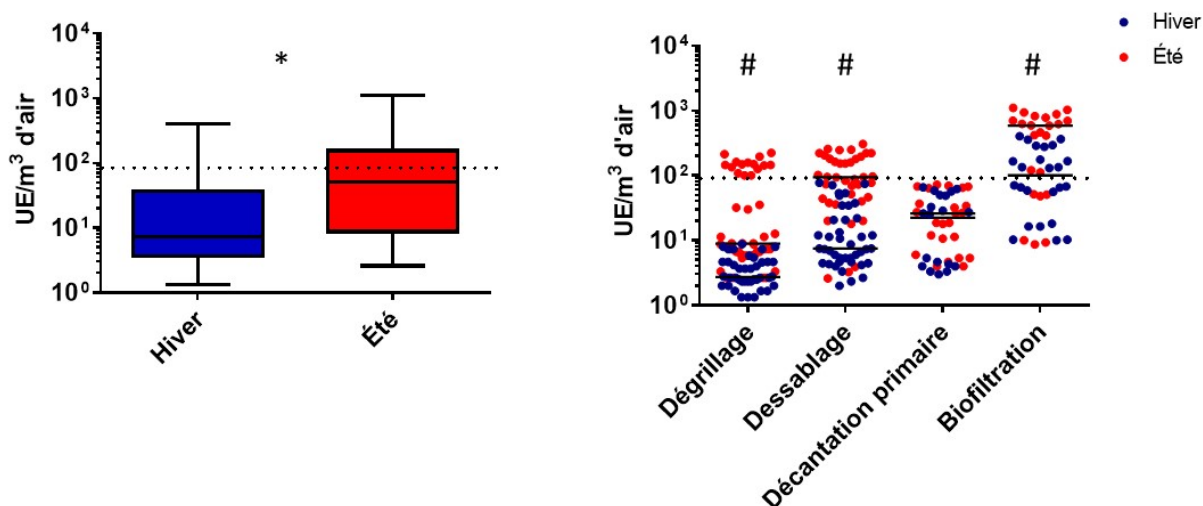


Figure 8. Concentrations d'endotoxines (unités d'endoxines [UE]/m³ d'air) observées en hiver et en été aux différentes étapes du traitement des eaux usées. La ligne pointillée représente la valeur limite recommandée par l'IRSST (90 UE/m^3).

La figure 9 illustre les concentrations de bactéries à Gram négatif en été et en hiver. On remarque que, comme les bactéries totales cultivables et les endotoxines, les concentrations sont plus élevées en été sans toutefois dépasser fréquemment les valeurs limites d'exposition recommandées par l'IRSST ($1\,000 \text{ UFC/m}^3$). L'astérisque (*) représente une différence significative ($P \leq 0,05$) entre les saisons testées à l'aide d'un test de Mann Whitney non pairé.

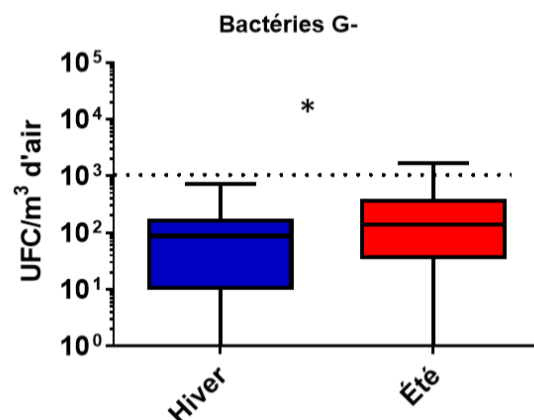


Figure 9. Concentrations de bactéries à Gram négatif (unités formatrices de colonies [UFC]/m³) dans les CTEU, obtenues en hiver et en été. La ligne pointillée représente la valeur limite d'exposition (1 000 UFC/m³) proposée par l'IRSST.

La figure 10, présente les corrélations entre les endotoxines et différents paramètres. On y remarque une faible corrélation positive avec les concentrations de bactéries à Gram négatif ainsi que les bactéries totales cultivables, et ce, en hiver et en été. Les astérisques (*) représentent une corrélation significative (Spearman, $\alpha = 0,05$).

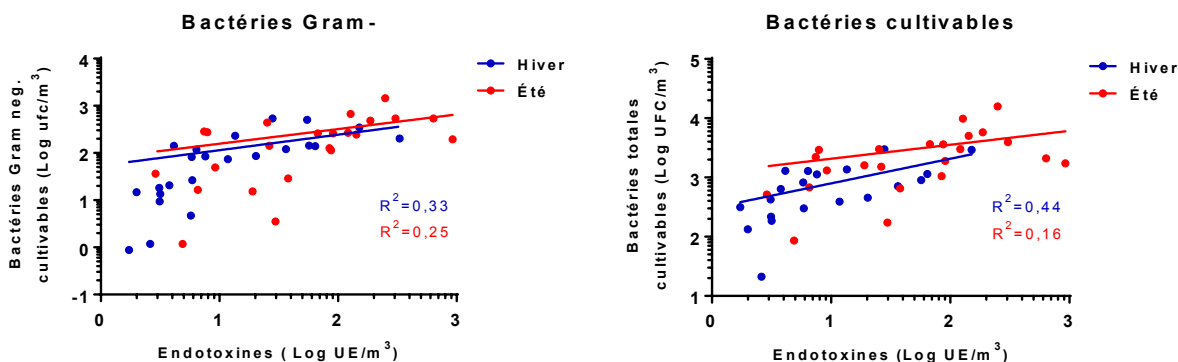


Figure 10. Corrélations entre les concentrations d'endotoxines mesurées dans les CTEU et les mesures de bactéries à Gram négatif (à gauche) et les bactéries totales cultivables (à droite).

5.2.3 Évaluer la présence de certaines bactéries pathogènes dans l'air des CTEU

Certaines bactéries potentiellement pathogènes furent détectées dans les échantillons d'air par qPCR. La figure 11 illustre les résultats obtenus pour les espèces *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Aeromonas hydrophila* et *Pseudomonas aeruginosa*. On y remarque que, bien que les concentrations soient variables, les valeurs sont significativement plus élevées en été comparativement à celles mesurées en hiver aux étapes de dégrillage et de dessablage pour les quatre bactéries ciblées ($P \leq 0,05$). Les astérisques représentent une différence significative

entre les saisons testées à l'aide d'un test de Student ($\alpha = 0,05$) non païré en utilisant une correction pour des comparaisons multiples (Holm-Sidak).

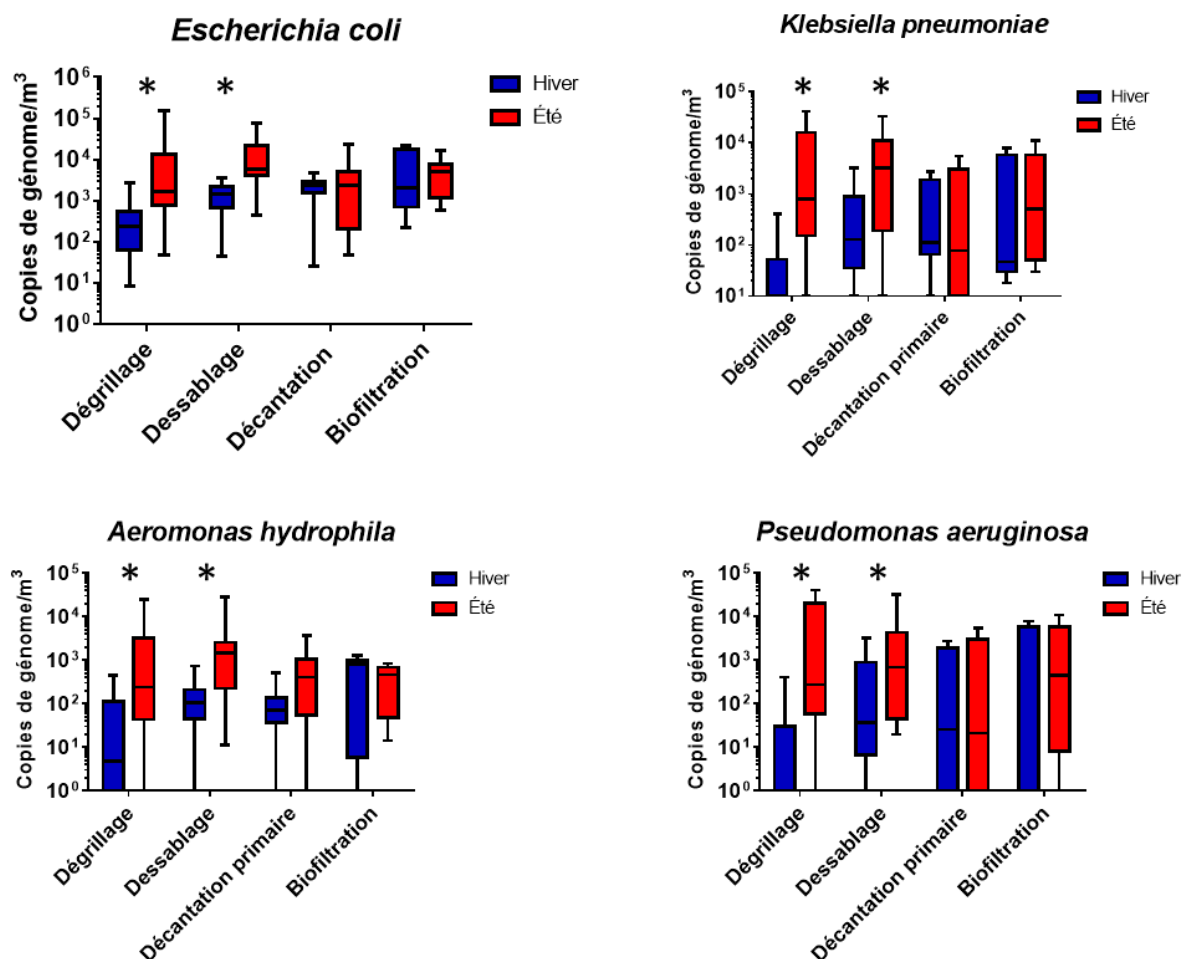


Figure 11. Concentrations de quatre bactéries potentiellement pathogènes, aux différentes étapes du traitement des eaux usées en hiver et en été.

5.2.4 Étudier l'exposition aux virus pathogènes respiratoires et entériques dans l'air des CTEU

En ajout au projet principal, une opportunité de recherche a permis d'échantillonner deux CTEU supplémentaires (hors Québec), à quatre reprises dans la même année, pour une collecte totale de 288 échantillons. La figure 12 illustre les concentrations obtenues pour les rhinovirus, entérovirus, adénovirus et rotavirus qui furent trouvées de manière routinière. On remarque que certains de ces virus sont détectés dans l'air des CTEU tout au cours de l'année et que les concentrations peuvent atteindre jusqu'à près de 8×10^4 génomes de virus/m³. Les virus influenza et norovirus ont aussi été découverts, mais de manière plus sporadique, dans 16 échantillons pour l'influenza et 5 pour le norovirus sur un total de 288. La présence de virus

influenza A est mise en évidence à la figure 13. En effet, lorsque l'on croise ces données avec celles des [rapports hebdomadaires de l'activité grippale](#) mis en ligne par le gouvernement canadien, on remarque que la fréquence de détection la plus élevée (7 échantillons positifs) a été observée en hiver, période d'activité grippale.

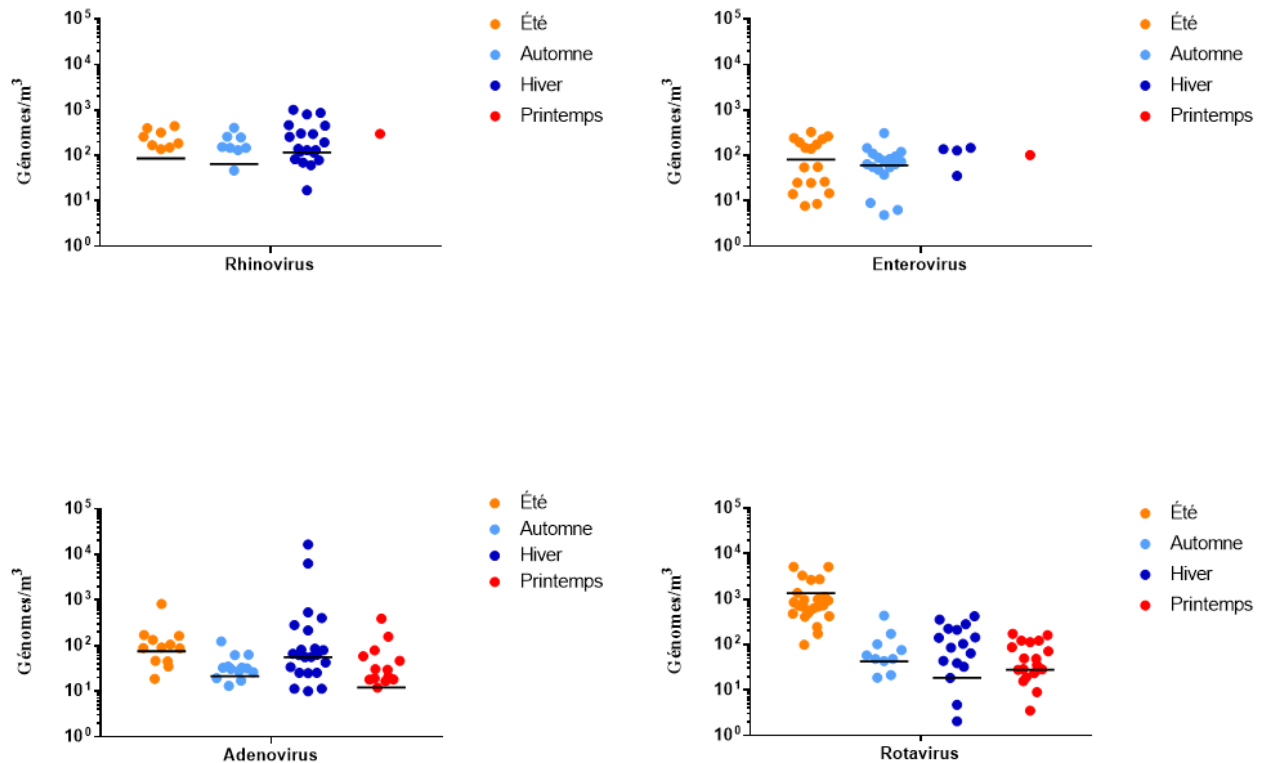


Figure 12. Concentrations de génomes de virus respiratoires et gastroentériques mesurées par qPCR dans l'air de deux CTEU au cours des quatre saisons. Les barres horizontales représentent les valeurs moyennes.

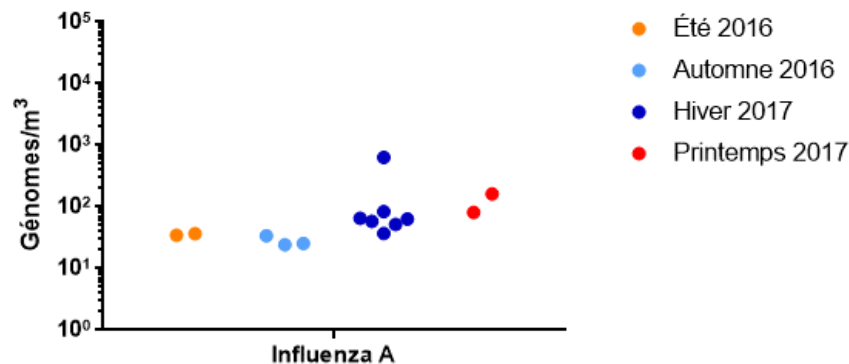


Figure 13. Concentration de virus influenza A mesurée au cours des quatre saisons.

5.2.5 Décrire la grosseur et le contenu biologique des aérosols présents dans l'air, et ce, dans les différents sites

La charge de bactéries totales contenue dans les différentes fractions (grosseurs) des bioaérosols a été évaluée par qPCR. La figure 14 illustre les concentrations mesurées sur les différents étages des échantillonneurs Marple pour l'ensemble des sites. Aucune différence statistique n'est observable entre les étages et entre les saisons (Student, $\alpha = 0,05$).

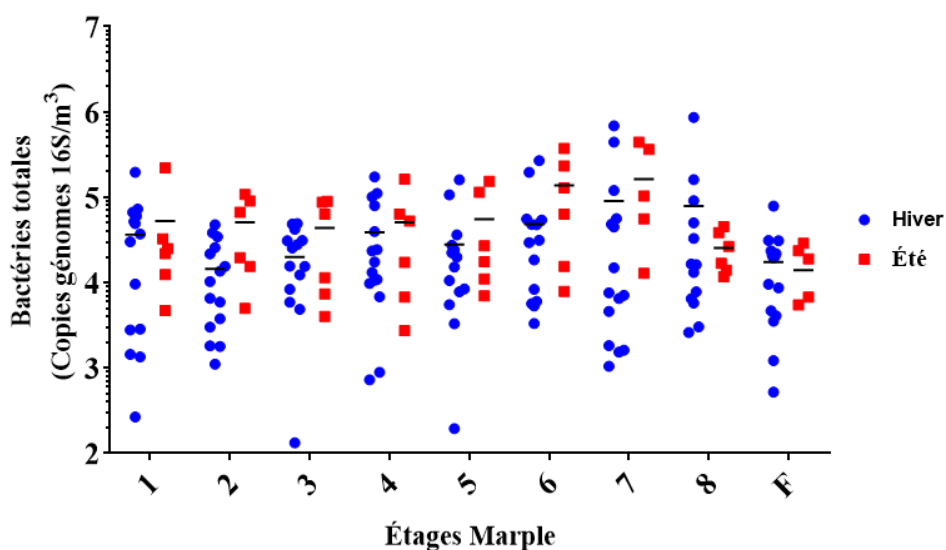


Figure 14. Concentration de bactéries totales mesurée par qPCR sur les différents étages de l'échantillonneur Marple en hiver et en été. Les barres horizontales représentent les valeurs moyennes.

La charge virale a aussi été évaluée pour les différents virus dans quatre CTEU. Seule la quantification de rotavirus s'est avérée positive. Le tableau 3 présente les concentrations obtenues sur les différents étages de l'échantillonneur Marple pour les différents sites. Comme pour les bactéries totales, on remarque que, lorsque détectées, les concentrations de virus sont comparables entre les différents étages.

Tableau 3. Concentration de rotavirus (génomés/m³ d'air) sur les différents étages des échantillonneurs Marple

	CTEU 1		CTEU 2		CTEU 3		CTEU 4	
Étage	Dégrillage	Biofiltration	Dégrillage	Biofiltration	Dégrillage	Dégrillage	Dégrillage	Décantation
1	-	9,6 x 10 ⁴	8,2 x 10 ⁴	2,9 x 10 ⁵	-	-	-	-
2	5,0 x 10 ⁴	-	-	9,6 x 10 ⁴	-	2,6 x 10 ⁴	-	-
3	2,4 x 10 ⁴	1,6 x 10 ⁴	9,0 x 10 ⁴	1,4 x 10 ⁶	-	3,6 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁵	-
4	6,4 x 10 ⁴	-	8,7 x 10 ⁴	6,3 x 10 ⁴	-	1,4 x 10 ⁴	-	-
5	1,5 x 10 ⁵	3,9 x 10 ⁴	7,1 x 10 ⁴	1,6 x 10 ⁵	-	5,0 x 10 ⁴	2,3 x 10 ⁴	-
6	-	1,4 x 10 ⁴	-	5,2 x 10 ⁴	-	8,3 x 10 ⁵	-	-
7	-	1,9 x 10 ⁴	7,2 x 10 ⁴	7,6 x 10 ⁵	-	5,5 x 10 ⁴	-	2,4 x 10 ⁴
8	-	-	-	-	-	4,1 x 10 ⁴	1,1 x 10 ⁵	-
F	-	2,0 x 10 ⁴	-	1,2 x 10 ⁵	-	4,2 x 10 ⁴	-	3,4 x 10 ⁴

5.2.6 Établir les taux de changements d'air moyens en été et en hiver aux différents sites

Le nombre de changements d'air par heure fut mesuré pour chaque site, et ce, en été et en hiver. Comme il est observable à la figure 15, les taux de changements d'air sont identiques en été et en hiver dans presque tous les sites hormis pour l'étape de dégrillage, lors de laquelle une différence significative est observée. En effet, lors des visites estivales, les ouvriers ont pour habitude de conserver les portes ouvertes à cette étape, ce qui influence les mesures de changement d'air. La barre représente la médiane observée. L'astérisque (*) représente une différence significative entre les saisons testées à l'aide d'un test de Student ($\alpha = 0,05$) non païré en utilisant une correction pour des comparaisons multiples (Holm-Sidak).

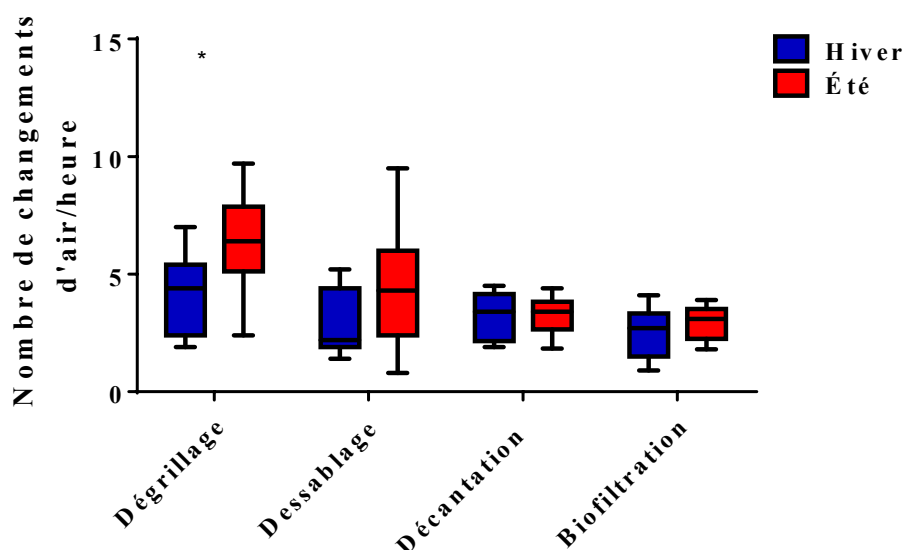


Figure 15. Taux de changements d'air observé aux différentes étapes du traitement des eaux usées en hiver et en été.

Ainsi, les taux de changements d'air des bâtiments visités étaient pour la plupart sous la norme recommandée (ACGIH) de quatre changements d'air par heure. Les valeurs médianes obtenues pour chaque type de traitement sont présentées au tableau 4. Cependant, aucune corrélation significative n'a pu être réalisée entre les changements d'air et un autre paramètre de qualité de l'air à l'étude (Spearman, $\alpha = 0,05$).

Tableau 4. Valeurs médianes des taux de changement d'air (nombre/heure) pour les différentes étapes de traitement de l'eau usée en été et en hiver

	Dégrillage	Dessablage	Décantation	Biofiltration
Été	6,4	4,2	3,3	2,7
Hiver	5	2,2	3,4	2,9

5.2.7 Mesurer les brouillards d'huile

Les brouillards d'huile furent mesurés dans chaque site, en hiver et en été. Les résultats sont présentés à la figure 16. Seulement quelques échantillons se sont avérés positifs, mais ils n'étaient jamais au-dessus des valeurs limites d'exposition recommandées par le [Règlement sur la santé et la sécurité du travail](#) (RSST) S2-1,r.19.01, soit 5 mg/m³.

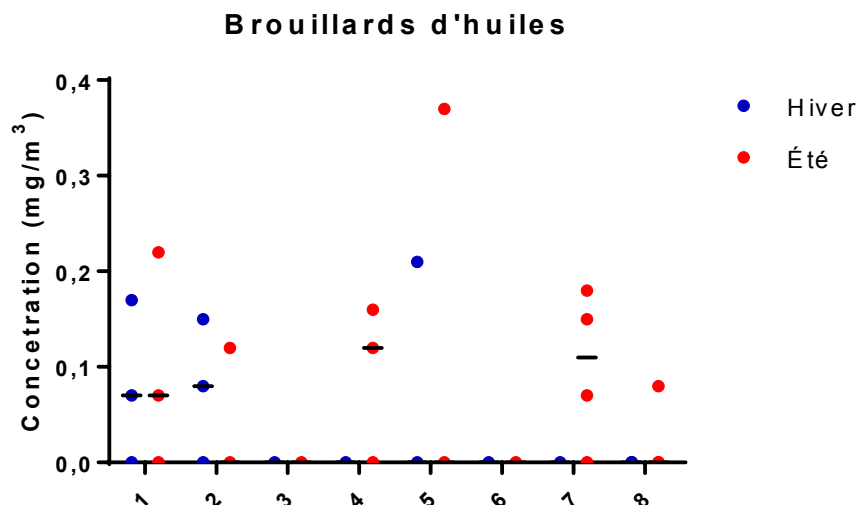


Figure 16. Mesures des brouillards d'huile dans les huit CTEU à l'étude, en hiver et en été. Les barres horizontales représentent les valeurs moyennes.

5.3 Objectif secondaire 1 : Observer l'exposition personnelle journalière de travailleurs œuvrant dans des CTEU

5.3.1 Décrire l'exposition personnelle en été et en hiver

Quinze travailleurs ont porté un échantillonneur personnel pendant 5 jours en été et en hiver. Les bactéries totales, mesurées par qPCR, furent utilisées afin de déterminer l'exposition des travailleurs. À la figure 17, bien que les données semblent plus élevées en été, une augmentation significative de l'exposition a été mesurée durant la saison estivale uniquement pour les sujets 4 et 13.

Toutefois, les valeurs obtenues sont plus constantes en hiver, avec des concentrations moyennes pour chaque participant oscillant entre $5,63 \times 10^3$ et $4,85 \times 10^4$ (moyenne = $2,61 \times 10^4$), alors que les données estivales sont comprises dans un intervalle allant de $7,46 \times 10^3$ à $1,01 \times 10^7$ (moyenne = $1,05 \times 10^6$). Les astérisques (*) représentent une différence significative entre les saisons testées à l'aide d'un test de Student ($\alpha = 0,05$) non païré en utilisant une correction pour des comparaisons multiples (Holm-Sidak).

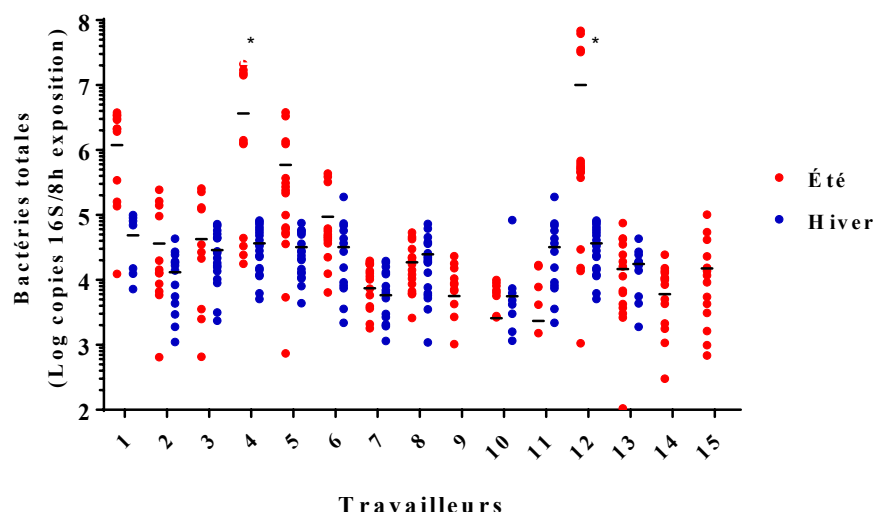


Figure 17. Concentration de bactéries totales obtenue par qPCR sur les cassettes 37 mm portées par les travailleurs en été et en hiver. Les barres horizontales représentent les valeurs moyennes.

5.3.2 Décrire l'exposition personnelle aux endotoxines

Afin d'évaluer la corrélation entre les mesures obtenues avec les échantillonneurs personnels en bactéries totales estimées par qPCR et les concentrations d'endotoxines, deux cassettes 37 mm distinctes, munies de filtres en polycarbonate ayant une porosité de 0,8 μm et de filtres en fibre de verre, ont été utilisées en parallèle aux différents sites d'échantillonnage stationnaire ($n = 24$). Une corrélation significative a été obtenue grâce à un test de Spearman ($\alpha = 0,05$) et est présentée à la figure 18.

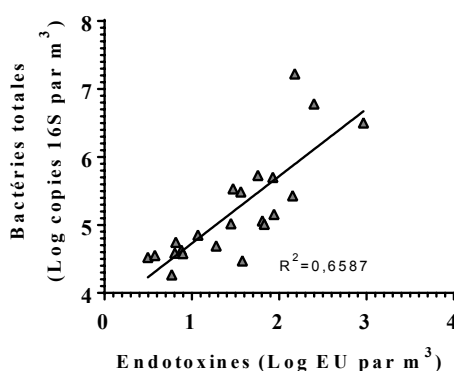


Figure 18. Corrélation entre les mesures d'endotoxines réalisées sur des cassettes 37 mm munies de filtres en fibre de verre et des concentrations de bactéries totales mesurées par qPCR sur des cassettes personnelles de 37 mm munies de filtres en polycarbonate.

Les concentrations d'endotoxines présentes dans les échantillons personnels des 15 travailleurs participants ont été estimées à partir de la courbe de corrélation présentée (voir section 4.3.1). On observe qu'occasionnellement en été, les concentrations d'endotoxines dépassent les valeurs limites d'exposition recommandées de 90 UE/m³ (Figure 19). L'astérisque (*) représente une différence significative entre les saisons à l'aide d'un test de Student ($\alpha = 0,05$) non païré en utilisant une correction pour des comparaisons multiples (Holm-Sidak). La ligne pointillée représente la concentration d'endotoxines suggérée par un comité d'experts, le Dutch Expert Committee on Occupational Safety (DECOS, 2010).

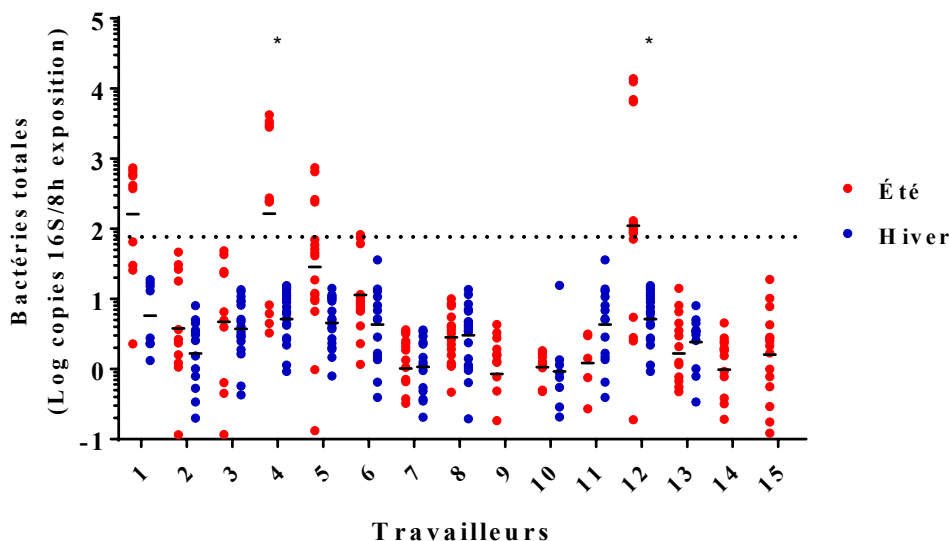


Figure 19. Concentration d'endotoxines estimées à partir des valeurs obtenues par qPCR sur les cassettes 37 mm portées par les travailleurs en été et en hiver. La ligne pointillée représente la limite d'exposition recommandée de 90EU et les barres horizontales représentent les valeurs moyennes.

5.4 Objectif secondaire 2 : Effectuer un suivi épidémiologique exploratoire chez des employés afin d'étudier les désordres gastro-intestinaux et respiratoires

5.4.1 Description de la cohorte

Un groupe de 23 travailleurs, répartis dans quatre CTEU, a participé au volet santé du projet. Ils ont produit un total de 223 questionnaires mensuels. Le groupe contrôle, recruté dans l'environnement social des participants, était composé de 18 individus qui ont rempli 180 questionnaires mensuels. À la figure 20, on remarque que les deux groupes sont comparables sur la base du sexe et de l'âge (moyenne de 44,3 ans). On observe une légère surreprésentation d'asthmatiques (8,3 % c. 2,7 %) et de fumeurs (34 % c. 24 %) chez le groupe contrôle.

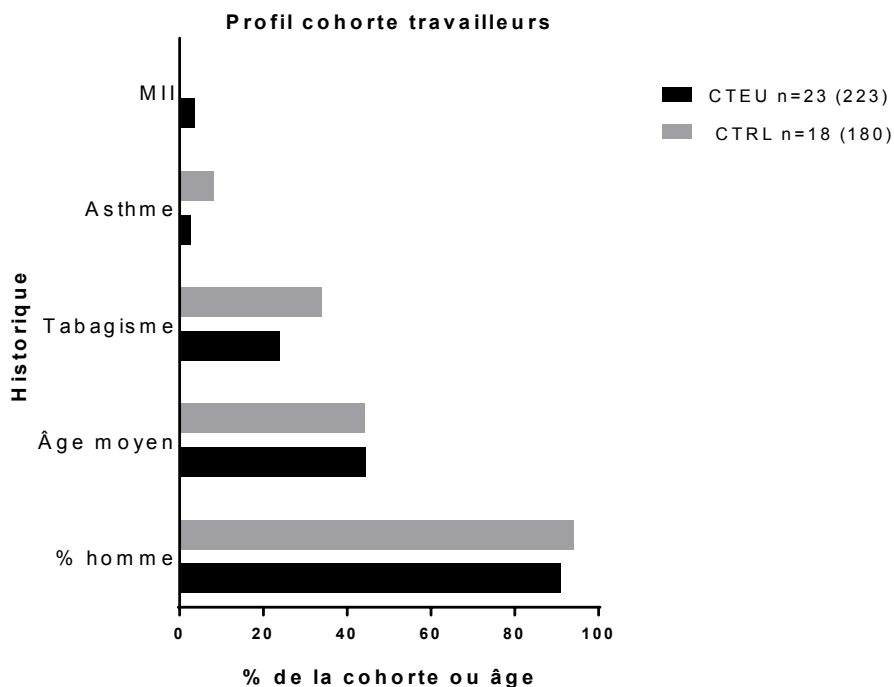


Figure 20. Description de la cohorte de travailleurs et du groupe contrôle (CTRL) recrutés pour répondre aux questionnaires mensuels (MI = maladie inflammatoire de l'intestin).

À la figure 21, on remarque que les travailleurs sont exposés au procédé de traitement des eaux usées de manière variable, allant de quelques heures par mois (15,6 % ont seulement été exposés de 1 à 10 heures/mois) à plus de 100 heures/mois (39,2 %). De tous les questionnaires remis, seulement 18,8 % des répondants déclaraient n'avoir eu aucune exposition.

La majorité des participants de la cohorte travailleurs a plus de 15 ans à l'emploi dans le secteur des eaux usées (51,2 %), alors que seulement 4,8 % sont dans ce secteur d'activité depuis moins d'un an.

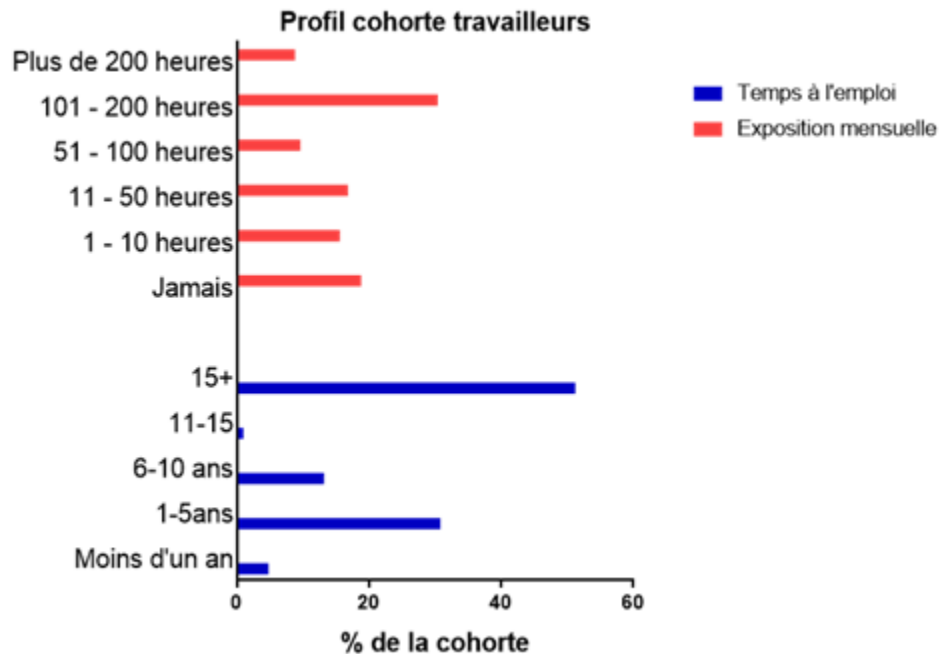


Figure 21. Exposition mensuelle et durée à l'emploi de la cohorte de travailleurs.

5.4.2 Absentéisme

À la figure 22, on observe que plus de travailleurs de CTEU se sont absents du travail en raison de symptômes gastroentériques, par rapport au groupe contrôle. En effet, dans 19,6 % des questionnaires mensuels, les travailleurs de CTEU ont relaté s'être absents du travail au moins une journée dans le mois en cours contre seulement 4,8 % pour le groupe contrôle. À l'inverse, le taux d'absentéisme mensuel pour cause de symptômes respiratoires chez le groupe contrôle était légèrement plus élevé que celui de la cohorte de travailleurs des CTEU soit, respectivement, 9 % et 5,7 %. Cette différence peut être due à la prépondérance d'asthmatiques au sein du groupe contrôle.

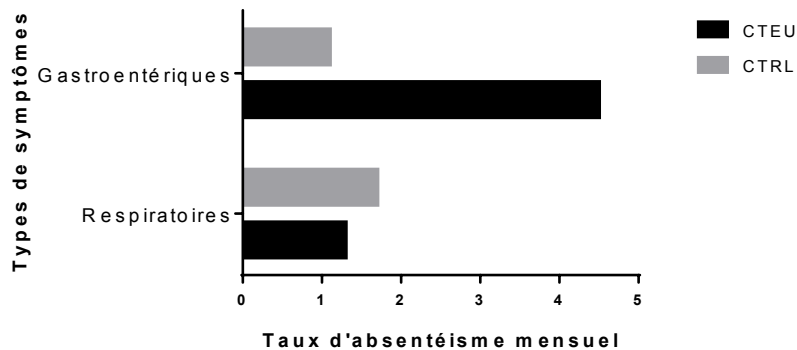


Figure 22. Taux d'absentéisme en raison de symptômes gastroentériques ou respiratoires dans les deux cohortes (travailleurs c. groupe contrôle).

5.4.3 Symptômes respiratoires

L'étendue des symptômes d'ordre respiratoire rapportés de manière mensuelle chez les deux groupes à l'étude est illustrée à la figure 23. On y remarque que la fréquence à laquelle les travailleurs de CTEU déclarent avoir des symptômes respiratoires est souvent comparable à celle du groupe contrôle. Toutefois, pour certains symptômes, la fréquence est plus élevée chez les travailleurs. Par exemple, la cohorte de travailleurs de CTEU rapporte avoir des symptômes de douleurs aux oreilles (faibles-moyens) et d'expectorations (moyens-sévères) plus de 10 fois plus fréquemment que le groupe contrôle.

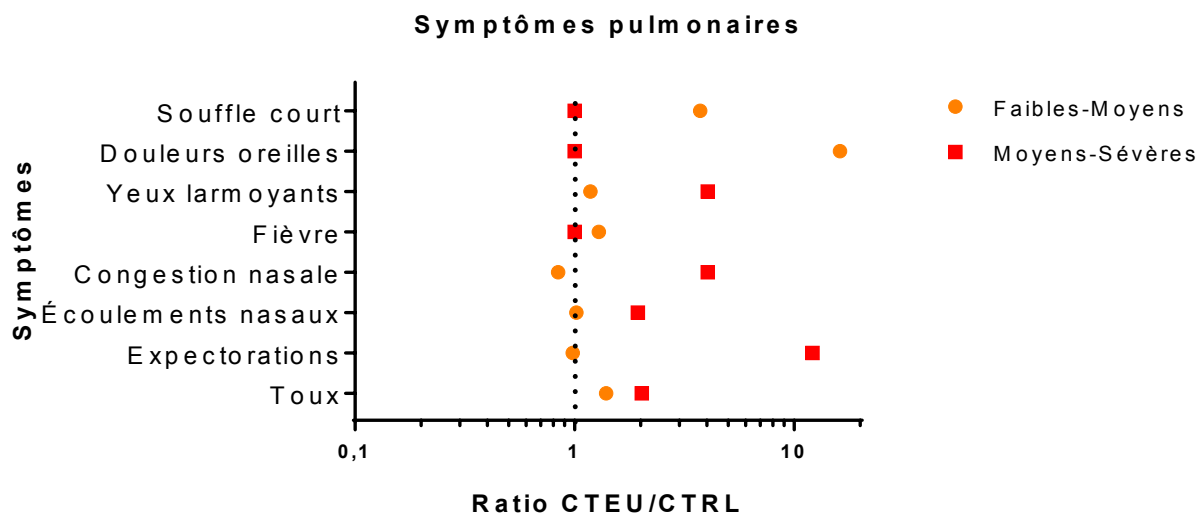


Figure 23. Ratios relatifs comparant la fréquence des symptômes respiratoires chez la cohorte de travailleurs en comparaison au groupe contrôle.

5.4.4 Symptômes gastroentériques

Les ratios relatifs de symptômes gastroentériques sont présentés à la figure 24. On remarque que la fréquence est plus élevée chez la cohorte de travailleurs de CTEU, et ce, pour l'ensemble de symptômes de cette catégorie.

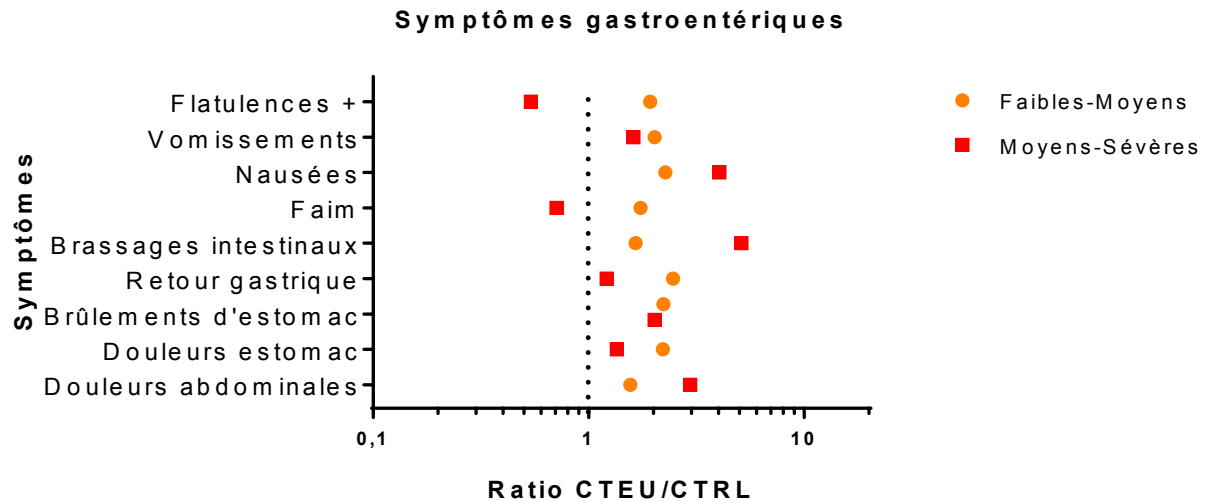


Figure 24. Ratios relatifs comparant la fréquence des symptômes gastroentériques chez la cohorte de travailleurs en comparaison au groupe contrôle.

6. DISCUSSION

6.1 CTEU à l'étude

Au fil du projet de recherche, dix CTEU ont été visités, huit au Québec et deux hors Québec (opportunité de recherche additionnelle). Tous ces établissements présentaient des situations normales d'opération et respectaient les normes de gestion des risques et d'opération. Comme anticipé, les températures ambiantes aux sites de traitement échantillonnés étaient légèrement supérieures en été tout comme l'humidité relative. Les étapes de traitement lors desquelles le brassage de l'eau était le plus important étaient celles où l'humidité relative était la plus élevée. Ceci est notable principalement en hiver, saison pendant laquelle les étapes de décantation et de biofiltration montrent à la fois des augmentations de l'humidité relative et des concentrations de bactéries. Toutefois, les taux de changements d'air lors de ces étapes étaient aussi plus faibles.

6.2 Description des bioaérosols aux sites de traitement de CTEU à l'aide d'échantillonnages stationnaires

6.2.1 Bactéries cultivables et endotoxines

Différents paramètres ont été mesurés afin de décrire les concentrations de bioaérosols aux sites de traitement des CTEU. Présentement, il n'existe aucune norme ou valeur limite d'exposition concernant les bioaérosols dans cet environnement. Par contre, pour certains d'entre eux comme les bactéries totales cultivables et bactéries à Gram négatif, il existe des recommandations. En effet, l'IRSST a émis des recommandations en 1997 concernant les CTEU. À l'époque, les valeurs limites, basées sur des méthodes de culture de microorganismes, étaient de 1 000 UFC/m³ d'air pour les bactéries à Gram négatif et de 10 000 UFC/m³ d'air pour les bactéries totales cultivables (Lavoie, J., Marchand, Pépin, Beaudet et Lachapelle, 1997a).

Les résultats obtenus dans cette étude sont comparables à ceux publiés dans la littérature (Albatany et El-Shafie, 2011; Sánchez-Monedero, Stentiford et Urpilainen, 2005; Teixeira *et al.*, 2013). On remarque que ces deux valeurs recommandées ont été rarement atteintes, et ce, même pour les étapes de traitement générant le plus de bioaérosols comme la biofiltration. Il est à remarquer qu'en raison des températures supérieures de l'effluent traité en été, les concentrations de bactéries totales cultivables et de bactéries à Gram négatif s'approchent de ces limites sans toutefois les dépasser.

Une autre valeur limite recommandée concerne la quantité d'endotoxines mesurées dans l'air. Un comité d'experts, le DECOS, a rehaussé la recommandation concernant les endotoxines dans l'air en la faisant passer de 50 UE/m³ à 90 UE/m³ (DECOS, 2010).

Contrairement aux valeurs mesurées pour les bactéries cultivables, en été, les concentrations d'endotoxines observées dans les CTEU visités dépassaient la plupart du temps la valeur limite recommandée, et ce, à toutes les étapes du traitement des eaux usées, hormis celle de décantation. En effet, des concentrations d'endotoxines plus de 10 fois supérieures aux 90 UE/m³ recommandées ont été observées. En hiver, bien que les concentrations soient

majoritairement inférieures à cette limite, on remarque toutefois que l'étape de biofiltration génère des concentrations supérieures à 90 UE/m³. Ces résultats démontrent qu'il peut exister un risque pour la santé respiratoire des travailleurs qui seraient exposés de manière prolongée à l'air de ces environnements, particulièrement lors des étapes de biofiltration. Le port d'équipement de protection personnelle répondant à la norme N95 est donc recommandé.

Les résultats issus des mesures de bactéries cultivables et d'endotoxines montrent que lorsque les valeurs de bactéries totales cultivables et/ou à Gram négatif sont inférieures aux limites recommandées, les concentrations d'endotoxines peuvent s'avérer de beaucoup supérieures aux valeurs limites généralement considérées comme sécuritaires. En effet, les corrélations entre les résultats obtenus grâce à la mesure des endotoxines et des bactéries cultivables suggèrent que la limite de 90 UE/m³ est atteinte avec des valeurs aussi petites que 260 UFC/m³ de bactéries à Gram négatif et 1 900 UFC/m³ de bactéries totales cultivables.

Bien que la mesure d'endotoxines puisse estimer de manière directe le risque pour la santé des travailleurs au regard de la recommandation du DECOS, il n'en demeure pas moins que tant l'échantillonnage que l'analyse en laboratoire des endotoxines sont des méthodes considérées comme fastidieuses et qui demandent un niveau d'expertise élevé. C'est la raison pour laquelle une mesure basée sur un biomarqueur, comme les bactéries cultivables, peut toujours s'avérer pertinente, mais la limite recommandée devrait possiblement être abaissée.

6.2.2 *Bactéries totales mesurées par qPCR*

La quantification de la biomasse bactérienne par qPCR est une technique de plus en plus commune dans le domaine de l'aérobiologie (Bonifait *et al.*, 2017; Gilbert, Veillette et Duchaine, 2010; Gilbert, Veillette, Meriaux, *et al.*, 2010; Just *et al.*, 2013; Mbareche, Brisebois, Veillette et Duchaine, 2017; Mbareche, Veillette, Bilodeau, *et al.*, 2018; Mbareche, Veillette, Dubuis, *et al.*, 2018; Nehme *et al.*, 2009; Triadó-Margarit *et al.*, 2017; Verreault, Marcoux-Voiselle, Turgeon, Moineau et Duchaine, 2015). Cette approche repose sur l'échantillonnage de l'air et l'extraction/purification de l'ADN total dans l'échantillon. Ainsi, l'ADN obtenu, couplé à une approche qPCR, peut être utilisé afin de quantifier la biomasse bactérienne ou fongique. Elle peut aussi servir à quantifier spécifiquement certaines cibles, par exemple des pathogènes viraux, bactériens ou fongiques.

Présentement, il n'existe aucune limite d'exposition officielle basée sur la quantification de bactéries totales par qPCR dans des échantillons d'air. Dans la présente étude, une grande disparité est observée entre les concentrations de bactéries totales obtenues aux différentes étapes du traitement des eaux usées et les concentrations obtenues en dénombrant les bactéries cultivables. En effet, il est admis que les méthodes de culture ne permettent de dénombrer qu'un faible pourcentage de la flore totale (Eduard, 2006; Harwani, 2013; Yoo *et al.*, 2017). Dans les CTEU, on remarque que les concentrations en été peuvent atteindre jusqu'à 10⁸ bactéries/m³ alors qu'en hiver, les valeurs sont plutôt aux alentours de 10⁶ bactéries/m³, hormis pour l'étape de biofiltration où elles sont plus de 10 fois plus élevées.

Une excellente corrélation positive entre les bactéries totales (qPCR) et les endotoxines dans l'air des CTEU est observée. En effet, sur la base de cette corrélation, la limite de 90 EU/m³ pourrait être atteinte à des concentrations correspondant à 1 x 10⁷ bactéries totales/m³ estimées par qPCR.

Le dénombrement de la flore cultivable peut être ardu et peut engendrer plusieurs sources d'erreur, notamment l'effet du stress d'échantillonnage sur la cultivabilité et l'interprétation des résultats par le personnel de laboratoire. L'analyse par amplification de l'ADN n'est pas non plus sans sources de variabilité, l'extraction de l'ADN étant aussi d'efficacité variable selon l'échantillon (possédant plus ou moins d'inhibiteurs) et le type de cellules microbiennes ciblées (plus ou moins facile à lyser). Cependant, les auteurs ont appliqué une méthode d'échantillonnage et de purification d'ADN simple couplée à une quantification des bactéries totales par qPCR. Ce protocole pourrait s'avérer un outil rapide afin d'apprécier la biomasse présente et la qualité de l'air dans les CTEU.

6.2.3 Quantification de bactéries pathogènes par qPCR

Les bactéries pathogènes communes au tractus intestinal humain pourraient s'avérer de bons indicateurs de la qualité de l'air dans les CTEU. Comme les autres indicateurs, les bactéries pathogènes à l'étude ont toutes été mesurées à des concentrations supérieures en été. Les quatre biomarqueurs bactériens à l'étude ont été retracés dans presque la totalité des échantillons à des concentrations pouvant atteindre jusqu'à 1×10^5 génomes/m³ d'air. Bien que des concentrations élevées de ces microorganismes aient été trouvées dans l'air des CTEU, le rôle des aérosols dans leur transmission n'est pas clairement établi et des mesures d'hygiène, tel le lavage des mains, devraient protéger les travailleurs du risque d'infection. Par contre, ces espèces sont des bactéries à Gram négatif et peuvent contribuer à l'exposition aux endotoxines.

Bien que ces bactéries se retrouvent dans les eaux usées et dans les bioaérosols des CTEU, aucune corrélation significative ne fut établie entre les concentrations mesurées et les différents paramètres utilisés afin de recommander des valeurs limites d'exposition chez les travailleurs de CTEU (données non présentées). Par conséquent, elles ne représentent potentiellement pas de bons marqueurs d'exposition.

6.2.4 Quantification de virus pathogènes par qPCR

De tous les virus mesurés par qPCR, seuls quatre (rotavirus, adénovirus, rhinovirus et entérovirus) furent quantifiés de manière fréquente dans les échantillons des deux CTEU supplémentaires, situés hors Québec. La présence des autres virus à l'étude s'est avérée anecdotique ou négative.

Le rotavirus est une cause fréquente de gastroentérite chez les enfants. Toutefois, les adultes peuvent aussi être touchés, mais avec des symptômes moindres (Glass *et al.*, 1996). Les concentrations de rotavirus détectées étaient légèrement inférieures pendant la saison froide.

L'entérovirus est un habitant du tractus intestinal humain et peut causer des gastroentérites et des méningites virales. Toutefois, il affecte plusieurs personnes sans causer de symptômes graves (Solomon *et al.*, 2010). Les concentrations mesurées dans les échantillons positifs prélevés dans les CTEU investigués étaient relativement stables pendant toute l'année durant laquelle s'est déroulée la période d'échantillonnage. Toutefois, la fréquence de prélèvement d'échantillons positifs a été moindre pendant les campagnes d'échantillonnages se tenant en été et à l'automne.

Pour sa part, l'adénovirus cause un large éventail de symptômes pouvant ressembler soit à un rhume commun, à la gastroentérite, à de la fièvre et à des conjonctivites. Toutefois, il cause rarement des complications chez les gens normaux, mais les personnes immunosupprimées, les jeunes enfants ou les personnes ayant déjà des problèmes respiratoires ou cardiaques sont plus à risque de développer des symptômes plus sévères (Schmmtz, Wigand et Heinrich, 1983).

Au fil des quatre saisons au cours desquelles ont été échantillonnés les CTEU hors Québec, l'adénovirus a été trouvé à des concentrations comparables. L'adénovirus est le seul virus pour lequel des corrélations significatives ont été observées avec les bactéries totales estimées par qPCR et les endotoxines. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par un groupe suisse qui a trouvé des adénovirus dans la presque totalité de leurs échantillons d'air provenant de CTEU, dans des concentrations comparables (Masclaux *et al.*, 2014).

Le rhinovirus cause des infections du système respiratoire supérieur et en cas de complication, peut aussi atteindre les voies respiratoires inférieures. Il est responsable du rhume commun (Monto, 2002). Bien qu'au Canada les infections à rhinovirus peuvent survenir pendant toute l'année, l'incidence est à son maximum au cours des mois de septembre à mai. Ainsi, la fréquence d'échantillons d'air positifs dans ces CTEU a été élevée pendant toutes les campagnes d'échantillonnages, sauf au printemps, où l'échantillonnage a eu lieu en juin.

Certains échantillons étaient positifs pour le virus de la grippe influenza A. Ce virus peut causer des symptômes sévères qui peuvent résulter en des hospitalisations ou être mortels. Les personnes âgées, les enfants et les gens avec certaines conditions médicales préexistantes sont plus susceptibles d'être victimes de complications dues à une infection à influenza. Bien que le nombre d'échantillons positifs à influenza soit faible, les dates de prélèvements de ces derniers correspondent à la période d'activité de l'influenza A dans la région où étaient situées les CTEU participants.

Certains échantillons ont été positifs aux norovirus. Ce virus est la cause principale de gastroentérites. Il se transmet rapidement dans des environnements comme les hôpitaux, les centres de soins, les écoles et les garderies. Il est très contagieux et la dose infectieuse est très faible. Comme dans l'étude de Masclaux et collaborateurs, il n'a été détecté que dans quelques échantillons (Masclaux *et al.*, 2014).

Aucune corrélation significative ne fut établie entre les concentrations de rotavirus, d'entérovirus et de rhinovirus, et les différents paramètres utilisés afin de recommander des valeurs limites d'exposition chez les travailleurs de CTEU (données non présentées). La présence de ces pathogènes dans les bioaérosols des CTEU est toutefois préoccupante étant donné les symptômes qui y sont associés et leurs effets sur la santé publique en général. De plus, certains de ces virus peuvent possiblement se transmettre par la voie des aérosols (Hendley, Wenzel et Gwaltney Jr, 1973; Herfst *et al.*, 2012; Li, Yiping *et al.*, 2007; Myatt *et al.*, 2004).

6.2.5 Biodiversité des bioaérosols de CTEU

Les indices de biodiversité dans l'air des CTEU montrent une grande richesse et sont comparables en été et en hiver. Toutefois, une grande variabilité est observée pendant la période hivernale. La température de l'effluent en été favorisait peut-être l'homogénéité des espèces dans celui-ci. Il en est de même pour l'analyse de l'indice de biodiversité en fonction

des différentes étapes de traitement. Les valeurs de l'indice de diversité de Chao sont relativement similaires au fil du traitement. Toutefois, l'analyse en composante principale montre que les échantillons issus de l'étape de biofiltration ont une diversité légèrement différente des échantillons récupérés lors des autres étapes du procédé. En effet, les bactéries présentes dans le biofiltre sont possiblement aussi aérosolisées et contribuent ainsi à la diversité microbienne trouvée dans cet environnement spécifique. Néanmoins, on remarque que, tant sur la base des indices de diversité que sur celle de l'analyse en composante principale, la diversité bactérienne varie peu en fonction des étapes de traitement.

6.2.6 Grosseur et contenu biologique des bioaérosols

Les échantillonneurs Marple, utilisés pour séparer les bioaérosols selon leur taille aux différentes étapes du traitement d'eaux usées, montrent qu'aucune différence statistique n'est observable entre les saisons ni même entre les différents étages en ce qui concerne les bactéries totales. Comme marqueur viral, le rotavirus a été utilisé étant donné qu'il était fréquemment détecté dans les différents CTEU. Comme pour les bactéries totales, on remarque que les bioaérosols contenant des rotavirus sont compris dans une large fenêtre de grosseurs de particules, étant présents sur tous les étages des échantillonneurs Marple. Cela suggère que les bactéries et virus présents dans les bioaérosols des CTEU peuvent se retrouver en grande concentration sur des particules de petite taille (quelques microns) et ainsi demeurer en suspension dans l'air pour de longues périodes (Hinds, 2012).

6.3 Description de l'exposition personnelle des travailleurs

6.3.1 Exposition aux bactéries

Quinze travailleurs répartis dans quatre CTEU ont porté des échantillonneurs personnels pendant cinq jours de travail, en été et en hiver, représentant ainsi un total de 150 jours de travail. Les bactéries totales quantifiées par qPCR sont le marqueur utilisé afin de quantifier l'exposition des travailleurs. La moyenne de toutes les mesures est significativement différente selon la saison, soit $2,61 \times 10^4$ bactéries/8 h en hiver comparativement à $1,05 \times 10^6$ bactéries/8 h en été, ce qui est conséquent avec les mesures obtenues avec les échantillonnages stationnaires. Toutefois, sur une base individualisée, les travailleurs sont exposés de façon comparable entre les saisons sauf pour deux d'entre eux, pour lesquels on observe des différences statistiquement significatives. Dans ces cas, l'exposition estivale était la plus élevée, et ce, même si les changements d'air dans les CTEU y sont plus fréquents.

6.3.2 Exposition aux endotoxines

Les mesures d'exposition personnelle aux endotoxines n'ont pas pu être effectuées, puisque les travailleurs ne voulaient pas porter deux cassettes simultanément. Les auteurs ont décidé d'estimer cette exposition en transposant les valeurs bactériennes totales (qPCR) obtenues et les valeurs d'endotoxines correspondantes en échantillonnage stationnaire aux valeurs de bactéries totales en mesure personnelle. En établissant cette extrapolation, il est estimé qu'occasionnellement, en été, la valeur limite d'exposition de 90 UE est vraisemblablement dépassée. En effet, les moyennes d'exposition journalières estivales pour trois travailleurs sont supérieures à la valeur limite considérée comme étant sécuritaire. Cela n'est évidemment qu'une extrapolation. Les valeurs réelles n'étant pas disponibles.

6.4 Suivi épidémiologique exploratoire

6.4.1 Cohorte

Le recrutement de CTEU comme sites d'échantillonnages représentait une excellente opportunité de réaliser une étude épidémiologique exploratoire sur cette population de travailleurs. Bien que plusieurs ouvrages dans la littérature scientifique relatent que ce groupe de travailleurs semble victime de symptômes respiratoires ou gastroentériques, aucune étude n'est disponible au Québec ou au Canada.

Ainsi, il a été possible de recruter 23 travailleurs et 18 sujets témoins afin de répondre à un questionnaire mensuel autoadministré pendant une année complète. Les participants ont remis en moyenne 10 formulaires chacun pour un total de 223 formulaires provenant de travailleurs et 180 provenant du groupe contrôle. Les deux cohortes étaient comparables au regard du sexe, de l'âge, du tabagisme, du contexte familial, de la présence d'asthme et de maladie inflammatoire de l'intestin. Pour la majorité d'entre eux, les travailleurs de CTEU étaient à l'emploi de leur centre depuis plus d'un an et étaient exposés aux différentes étapes de traitement de quelques heures jusqu'à plus de 200 heures par mois.

Sur la base des réponses mensuelles aux questionnaires (annexe A), il est rapporté qu'en moyenne, chaque mois, près de 20 % des travailleurs de CTEU participant à l'étude se sont absentés du travail au minimum une journée en raison de symptômes gastroentériques inconfortables contre environ 5 % pour le groupe contrôle. Toutefois, le groupe de travailleurs a été moins fréquemment absent du travail, en comparaison avec le groupe contrôle en raison de symptômes respiratoires. Les résultats relatifs aux symptômes gastroentériques concordent avec ceux publiés dans la littérature (Fannin *et al.*, 1985; Rylander, 1999; Uhrbrand *et al.*, 2011). En ce qui concerne les symptômes respiratoires, les quelques études qui ont exploré cet aspect ont réalisé des mesures de fonctions respiratoires sur les sujets, chose qu'il n'a pas été possible de réaliser dans le contexte de la présente étude.

6.4.2 Symptômes

Les participants des deux groupes devaient mensuellement colliger les symptômes respiratoires et gastroentériques dont ils estimaient avoir été victimes au cours des quatre dernières semaines.

La fréquence et l'intensité des symptômes respiratoires et gastroentériques ont été regroupées sous deux catégories soit faible-moyenne et moyenne-sévère. Pour les symptômes respiratoires, bien que les travailleurs de CTEU se soient absentés moins fréquemment du travail en raison de ces atteintes, ils relatent être plus souvent affectés, particulièrement en ce qui a trait à la congestion nasale, à la présence d'expectorations, à la douleur aux oreilles et aux yeux larmoyants. Ces symptômes, hormis lors d'infection respiratoire, sont souvent un indice de mauvaise qualité de l'air, suggérant une possible exposition à des contaminants pouvant avoir un effet sur la santé respiratoire (Baroody, 2011; Trevino, 1996). Bien entendu, les réponses obtenues par questionnaire autoadministré pouvant avoir un caractère subjectif, des mesures de fonctions respiratoires et l'administration d'un questionnaire plus détaillé chez ces deux groupes seraient essentielles afin de pouvoir tirer des conclusions plus robustes.

La population de travailleurs indique être plus fréquemment touchée par des atteintes du système gastrique que la population contrôle. En effet, ils semblent plus souvent souffrir de nausées, de brassage intestinal, de douleurs abdominales et de brûlements d'estomac. Ces résultats sont en adéquation avec ceux de la littérature sur le sujet et suggèrent une exposition possible à des microorganismes d'origine entérique. Bien que plusieurs de ces agents aient été retrouvés dans l'air des CTEU, le contact par d'autres voies d'exposition (matière contaminée, ingestion) ne peut être exclu (Fannin *et al.*, 1985; Rylander, 1999; Uhrbrand *et al.*, 2011).

7. CONCLUSION

Le présent projet de recherche a permis d'appliquer des méthodologies dites traditionnelles, utilisant la culture de microorganismes, et des techniques plus modernes mettant à profit l'utilisation de l'ADN des microorganismes. L'utilisation de ces deux approches permet de s'appuyer sur la littérature existante et de se tourner vers le futur en actualisant les connaissances pour les recherches à venir.

Ainsi, bien que l'exposition aux bioaérosols des travailleurs de CTEU soit un souci depuis plus d'une trentaine d'années, il n'en demeure pas moins que cet environnement est mal connu. En effet, la nature de l'effluent traité dans ces installations est bien décrite, mais la proportion de cette diversité émise sous forme de bioaérosols était jusqu'à présent peu comprise. De plus, l'absence de normes d'exposition rend la tâche difficile aux organismes de régulation, aux concepteurs ainsi qu'aux gestionnaires de ces établissements quant à l'instauration et à l'application de mesures visant à réduire l'exposition des travailleurs.

La concentration de 90 unités d'endotoxines mesurée dans les échantillons d'air est la seule recommandation internationale qui est présente dans la presque totalité des études s'intéressant à la mesure de la qualité de l'air dans ce secteur d'activité. Cependant, la mesure expérimentale des endotoxines est une tâche fastidieuse nécessitant un niveau d'expertise élevé.

La pertinence et le besoin d'une recommandation mettant à profit l'utilisation des marqueurs microbiens sont évidents. L'établissement d'un protocole d'évaluation du risque plus rapide, plus spécifique et mieux ciblé est confirmé dans cette étude. Par contre, les biomarqueurs recommandés depuis la fin des années 1990 jusqu'à présent ne corrélaient pas très bien avec les mesures d'endotoxines. De l'avis des auteurs, les recommandations en matière de bactéries cultivables (10^4 UFC/m³ d'air) et de bactéries à Gram négatif (10^3 UFC/m³ d'air) sont actuellement trop élevées. En effet, lorsque ces concentrations étaient atteintes, des taux d'endotoxines supérieurs aux limites d'expositions actuellement recommandées étaient observés. Sur la base des corrélations obtenues dans les dix CTEU ayant participé à l'étude, une recommandation plus stricte serait appropriée, soit entre 200 et 500 UFC/m³ pour les bactéries à Gram négatif et entre 1 000 et 2 000 UFC/m³ pour les bactéries totales. Si une telle recommandation plus précise devait être établie, des expérimentations additionnelles seraient nécessaires afin d'y inclure un protocole d'échantillonnage simple et standard, facilitant le suivi de l'exposition.

L'utilisation des techniques de biologie moléculaire comme la qPCR afin de quantifier les bactéries totales pourrait éventuellement faire partie des biomarqueurs utilisés afin de suivre l'exposition professionnelle. En effet, d'excellentes corrélations ont été observées entre ces mesures et les concentrations d'endotoxines dans les dix CTEU visités, et ce, peu importe les saisons au cours desquelles ont eu lieu les échantillonnages. Ces corrélations se sont avérées supérieures à celles réalisées avec les bactéries issues du tractus intestinal humain ayant été testées dans cette recherche.

Cette étude est la première dans ce secteur d'activité qui évalue l'exposition à un tel éventail de virus dans les bioaérosols. La présence de plusieurs virus pathogènes humains fut établie, mais

la mesure de ces microorganismes en utilisant les méthodes de biologie moléculaire ne constitue pas une preuve de leur intégrité (potentiel infectieux), mais uniquement de leur présence.

En conséquence, plusieurs virus pathogènes présents dans la flore humaine furent quantifiés avec succès et à des concentrations et fréquences importantes. Seul l'adénovirus montre une corrélation avec les bactéries totales mesurées par qPCR et les endotoxines. La mesure de ce virus pourrait servir de biomarqueur d'exposition virale par la voie des bioaérosols et, couplée à une mesure bactérienne comme les endotoxines, les bactéries cultivables ou les bactéries totales mesurées par qPCR, pourrait permettre d'estimer plus précisément la qualité de l'air dans les CTEU.

Les mesures réalisées à partir d'échantillonneurs personnels ont démontré que les travailleurs sont effectivement exposés aux bioaérosols présents dans les CTEU. La sensibilisation des travailleurs aux mesures d'hygiène personnelle, à la formation et au renforcement des mesures de protection personnelle, comme le port du masque N95, sont simples à appliquer et peuvent réduire le risque relatif à l'exposition aux bioaérosols. D'autres mesures comme le confinement/extraction d'air à la source des bassins de traitement (dessablage et décantation) et des dégrilleurs sont d'autres façons de réduire de manière significative les concentrations de bioaérosols dans l'air ambiant.

Cette étude a également permis de récolter des données relatives à la santé des travailleurs. Bien qu'il soit nécessaire d'observer une certaine prudence quant à l'interprétation de ces résultats, ces derniers confirment ce qui est relaté dans la littérature, soit que les travailleurs des CTEU sont plus fréquemment victimes de symptômes gastroentériques, qu'ils s'absentent plus fréquemment du travail pour cette raison et qu'ils sont plus sujets à ressentir des symptômes relatifs au contact avec de l'air de moins bonne qualité. Afin de tirer des conclusions plus probantes sur cet aspect de la recherche, une investigation plus poussée comportant un questionnaire plus détaillé ainsi que des mesures de fonctions respiratoires, le tout administré par des professionnels, serait souhaitable et serait une suite logique à l'étude exploratoire.

BIBLIOGRAPHIE

- Albatanony, M. A. et El-Shafie, M. K. (2011). Work-related health effects among wastewater treatment plants workers. *International Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 2(4), 237-244. Tiré de <https://www.theijoem.com/ijoem/index.php/ijoem/article/view/104>
- Andersen, A. A. (1958). New sampler for the collection, sizing, and enumeration of viable airborne particles. *Journal of Bacteriology*, 76(5), 471-484.
- Bach, H. J., Tomanova, J., Schlöter, M. et Munch, J. C. (2002). Enumeration of total bacteria and bacteria with genes for proteolytic activity in pure cultures and in environmental samples by quantitative PCR mediated amplification. *Journal of Microbiology Methods*, 49(3), 235-245. Tiré de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701201003700>
- Baroody, F. M. (2011). How nasal function influences the eyes, ears, sinuses, and lungs. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 8(1), 53-61.
- Bin Kingombe, C. I., Huys, G., Tonolla, M., Albert, M. J., Swings, J., Peduzzi, R. et Jemmi, T. (1999). PCR detection, characterization, and distribution of virulence genes in *Aeromonas* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(12), 5293-5302. Tiré de <https://aem.asm.org/content/65/12/5293.short>
- Bonifait, L., Marchand, G., Veillette, M., M'Bareche, H., Dubuis, M.-E., Pépin, C., . . . Duchaine, C. (2017). Workers' exposure to bioaerosols from three different types of composting facilities. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 14(10), 815-822.
- Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., . . . Gordon, J. I. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7(5), 335.
- Carducci, A., Arrighi, S. et Ruschi, A. (1995). Detection of coliphages and enteroviruses in sewage and aerosol from an activated sludge wastewater treatment plant. *Letters in Applied Microbiology*, 21(3), 207-209.
- Carducci, A., Tozzi, E., Rubulotta, E., Casini, B., Cantiani, L., Rovini, E., . . . Pacini, R. (2000). Assessing airborne biological hazard from urban wastewater treatment. *Water Research*, 34(4), 1173-1178. doi: 10.1016/S0043-1354(99)00264-X
- Corey, L., Huang, M. L., Selke, S. et Wald, A. (2005). Differentiation of herpes simplex virus types 1 and 2 in clinical samples by a real-time taqman PCR assay. *Journal of Medical Virology*, 76(3), 350-355.
- Debbink, K., Lindesmith, L. C. et Baric, R. S. (2014). The state of norovirus vaccines. *Clinical Infectious Diseases*, 58(12), 1746-1752.
- DECOS. (2010). *Endotoxins: Health-based recommended occupational exposure limit*. Tiré de <https://www.healthcouncil.nl/documents/advisory-reports/2010/07/15/endotoxins-health-based-recommended-occupational-exposure-limit>
- Dietz, R. N. et Cote, E. A. (1982). Air infiltration measurements in a home using a convenient perfluorocarbon tracer technique. *Environment International*, 8(1-6), 419-433.
- Donaldson, A., Hearps, A. et Alexandersen, S. (2001). Evaluation of a portable, 'real-time' PCR machine for FMD diagnosis. *The Veterinary Record*, 149(14), 430-430.
- Donham, K. J., Reynolds, S. J., Whitten, P., Merchant, J. A., Burmeister, L. et Popendorf, W. J. (1995). Respiratory dysfunction in swine production facility workers: dose-response relationships of environmental exposures and pulmonary function. *American Journal of Industrial Medicine*, 27(3), 405-418.

- Donham, K. J., Yeggy, J. et Dague, R. R. (1985). Chemical and physical-parameters of liquid manure from swine confinement facilities: Health implications for workers, swine and the environment. *Agricultural Wastes*, 14(2), 97-113.
- Douwes, J., Mannetje, A. et Heederik, D. (2001). Work-related symptoms in sewage treatment workers. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 8(1), 39-45. Tiré de <http://www.aaem.pl/Work-related-symptoms-in-sewage-treatment-workers-72727,0,2.html>
- Edgar, R. C. (2013). UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods*, 10(10), 996.
- Eduard, W. (2006). *The Nordic expert group for criteria documentation of health risks from chemicals: 139. Fungal spores*. Tiré de https://qupea.ub.gu.se/bitstream/2077/4359/1/ah2006_21.pdf
- Fannin, K. F., Vana, S. C. et Jakubowski, W. (1985). Effect of an activated sludge wastewater treatment plant on ambient air densities of aerosols containing bacteria and viruses. *Applied and Environmental Microbiology*, 49(5), 1191-1196. Tiré de <https://aem.asm.org/content/49/5/1191.short>
- Fracchia, L., Pietronave, S., Rinaldi, M. et Giovanna Martinotti, M. (2006). Site-related airborne biological hazard and seasonal variations in two wastewater treatment plants. *Water Research*, 40(10), 1985-1994. doi: 10.1016/j.watres.2006.03.016
- Gilbert, Y., Veillette, M. et Duchaine, C. (2010). Metalworking fluids biodiversity characterization. *Journal of Applied Microbiology*, 108(2), 437-449. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04433.x
- Gilbert, Y., Veillette, M., Meriaux, A., Lavoie, J., Cormier, Y. et Duchaine, C. (2010). Metalworking fluid-related aerosols in machining plants. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 7(5), 280-289. doi: 10.1080/15459621003680227
- Giusti, L. (2009). A review of waste management practices and their impact on human health. *Waste Management*, 29(8), 2227-2239. doi: 10.1016/j.wasman.2009.03.028
- Glass, R. I., Kilgore, P. E., Holman, R. C., Jin, S., Smith, J. C., Woods, P. A., . . . Gentsch, J. R. (1996). The epidemiology of rotavirus diarrhea in the United States: Surveillance and estimates of disease burden. *Journal of Infectious Diseases*, 174(1), S5-S11.
- Grisoli, P., Rodolfi, M., Villani, S., Grignani, E., Cottica, D., Berri, A., . . . Dacarro, C. (2009). Assessment of airborne microorganism contamination in an industrial area characterized by an open composting facility and a wastewater treatment plant. *Environmental Research*, 109(2), 135-142. doi: 10.1016/j.envres.2008.11.001
- Harwani, D. (2013). The great plate count anomaly and the unculturable bacteria. *Microbiology*, 2(9), 350-351.
- Heim, A., Ebnet, C., Harste, G. et Pring-Åkerblom, P. (2003). Rapid and quantitative detection of human adenovirus DNA by real-time PCR. *Journal of Medical Virology*, 70(2), 228-239.
- Heinonen-Tanski, H., Reponen, T. et Koivunen, J. (2009). Airborne enteric coliphages and bacteria in sewage treatment plants. *Water Research*, 43(9), 2558-2566. doi: 10.1016/j.watres.2009.03.006
- Hendley, J. O., Wenzel, R. P. et Gwaltney Jr, J. M. (1973). Transmission of rhinovirus colds by self-inoculation. *New England Journal of Medicine*, 288(26), 1361-1364.
- Herfst, S., Schrauwen, E. J., Linster, M., Chutinimitkul, S., de Wit, E., Munster, V. J., . . . Smith, D. J. (2012). Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets. *Science*, 336(6088), 1534-1541.

- Hickey, M. J. et Kubes, P. (2009). Intravascular immunity: The host-pathogen encounter in blood vessels. *Nature Reviews Immunology*, 9(5), 364-375. doi: 10.1038/nri2532
- Hinds, W. C. (2012). *Aerosol technology: Properties, behavior, and measurement of airborne particles* (2^e éd.). Hoboken, NY: John Wiley & Sons.
- Horneman, A. J., Ali, A. et Abbott, S. L. (2007). Aeromonas. Dans P. R. Murray, E. J. Baron, M. L. Landry, J. H. Jorgensen et M. A. Pfaller (Édit.). *Manual of clinical microbiology* (9^e éd., p. 715-722). Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Ivens, U. I., Breum, N. O., Ebbenhøj, N., Nielsen, B. H., Poulsen, O. M. et Würtz, H. (1999). Exposure-response relationship between gastrointestinal problems among waste collectors and bioaerosol exposure. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 238-245.
- Janda, J. M. et Abbott, S. L. (2006). The Genera Klebsiella and Raoultella. *The Enterobacteria* (2^e éd.). Washington, DC: ASM Press.
- Jones, P. W., Quirk, F. et Baveystock, C. (1991). The St George's respiratory questionnaire. *Respiratory Medicine*, 85, 25-31.
- Just, N., Blais Lecours, P., Marcoux-Voiselle, M., Kirychuk, S., Veillette, M., Singh, B. et Duchaine, C. (2013). Archaeal characterization of bioaerosols from cage-housed and floor-housed poultry operations. *Canadian Journal of Microbiology*, 59(1), 46-50. doi: 10.1139/cjm-2012-0305
- Kageyama, T., Shinohara, M., Uchida, K., Fukushi, S., Hoshino, F. B., Kojima, S., . . . Katayama, K. (2004). Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to norovirus in Japan. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(7), 2988-2995.
- Korzeniewska, E. (2011). Emission of bacteria and fungi in the air from wastewater treatment plants: A review. *Front Biosci (Schol Ed)*, 1(3), 393-407. Tiré de <https://www.basingstoke.gov.uk/content/doclib/1239.pdf>
- Lacey, J. (1991). Aerobiology and health: The role of airborne fungal spores in respiratory-disease. Dans D. Hanhwarth (Édit.), *Frontiers in Mycology* (p. 157-185). Oxon, Angleterre: CAB International.
- Lacey, J. et Dutkiewicz, J. (1994). Bioaerosols and occupational lung-disease. *Journal of Aerosol Science*, 25(8), 1371-1404. doi: 10.1016/0021-8502(94)90215-1
- Lacy, B. et Patel, N. (2017). Rome criteria and a diagnostic approach to irritable bowel syndrome. *Journal of Clinical Medicine*, 6(11), 99.
- Lavoie, J. (2000). Évaluation de l'exposition aux bioaérosols dans les stations de traitement des eaux usées. *Vecteur Environnement*, 33(3), 43-50.
- Lavoie, J., Marchand, G., Pépin, C., Beaudet, Y. et Lachapelle, G. (1997a). Contaminants biologiques dans les centres de traitement des eaux usées. (Rapport n° R-163). Montréal, QC : IRSST.
- Lavoie, J., Marchand, G., Pépin, C., Beaudet, Y. et Lachapelle, G. (1997b). Contaminants biologiques dans les centres de traitement des eaux usées. (Rapport n° R-163). Montréal, QC : IRSST.
- Li, Y., Leung, G. M., Tang, J., Yang, X., Chao, C., Lin, J. Z., . . . Qian, H. (2007). Role of ventilation in airborne transmission of infectious agents in the built environment-a multidisciplinary systematic review. *Indoor Air*, 17(1), 2-18.
- Li, Y., Yang, L., Meng, Q., Qiu, X. et Feng, Y. (2013). Emission characteristics of microbial aerosols in a municipal sewage treatment plant in Xi'an, China. *Aerosol and Air Quality Research*, 13(1), 343-349.

- Liebers, V., Raulf-Heimsoth, M. et Brüning, T. (2008). Health effects due to endotoxin inhalation (review). *Archives of Toxicology*, 82(4), 203-210. doi: 10.1007/s00204-008-0290-1
- Malinen, E., Kassinen, A., Rinttilä, T. et Palva, A. (2003). Comparison of real-time PCR with SYBR Green I or 5'-nuclease assays and dot-blot hybridization with rDNA-targeted oligonucleotide probes in quantification of selected faecal bacteria. *Microbiology*, 149(1), 269-277.
- Masclaux, F. G., Hotz, P., Gashi, D., Savova-Bianchi, D. et Oppliger, A. (2014). Assessment of airborne virus contamination in wastewater treatment plants. *Environmental Research*, 133, 260-265.
- Mbareche, H., Brisebois, E., Veillette, M. et Duchaine, C. (2017). Bioaerosol sampling and detection methods based on molecular approaches: No pain no gain. *Science of the Total Environment*, 599, 2095-2104.
- Mbareche, H., Veillette, M., Bilodeau, G. J. et Duchaine, C. (2018). Bioaerosol sampler choice should consider efficiency and ability of samplers to cover microbial diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(23), doi: 10.1128/AEM.01589-18
- Mbareche, H., Veillette, M., Dubuis, M.-È., Bakhiyi, B., Marchand, G., Zayed, J., . . . Duchaine, C. (2018). Fungal bioaerosols in biomethanization facilities. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 68(11), 1198-1210.
- Mena, K. D. et Gerba, C. P. (2009). Risk assessment of pseudomonas aeruginosa in water. Dans D. M. Whitacre (Édit.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, (vol. 201, p. 71-115). New York, NY: Springer.
- Mériaux, A., Cormier, Y., Pageau, P., Israël-Assayag, E. et Duchaine, C. (2006). Sensitization to airborne molds and its health effects in peat moss processing plant workers. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 3(8), 442-447. doi: 10.1080/15459620600790744
- Monto, A. S. (2002). Epidemiology of viral respiratory infections. *The American Journal of Medicine*, 112(6), 4-12.
- Myatt, T. A., Johnston, S. L., Zuo, Z., Wand, M., Keadze, T., Rudnick, S. et Milton, D. K. (2004). Detection of airborne rhinovirus and its relation to outdoor air supply in office environments. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 169(11), 1187-1190.
- Nehme, B., Gilbert, Y., Letourneau, V., Forster, R. J., Veillette, M., Villemur, R. et Duchaine, C. (2009). Culture-independent characterization of archaeal biodiversity in swine confinement building bioaerosols. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(17), 5445-5450. doi: 10.1128/AEM.00726-09
- Orsini, M., Laurenti, P., Boninti, F., Arzani, D., Lanni, A. et Romano-Spica, V. (2002). A molecular typing approach for evaluating bioaerosol exposure in wastewater treatment plant workers. *Water Research*, 36(5), 1375-1378. Tiré de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135401003360>
- Pillai, S. D., Widmer, K. W., Dowd, S. E. et Ricke, S. C. (1996). Occurrence of airborne bacteria and pathogen indicators during land application of sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(1), 296-299. Tiré de <https://aem.asm.org/content/aem/62/1/296.full.pdf>
- Qiu, F., Cao, J., Su, Q., Yi, Y. et Bi, S. (2014). Multiplex hydrolysis probe real-time PCR for simultaneous detection of hepatitis A virus and hepatitis E virus. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(6), 9780-9788.

- Rylander, R. (1999). Health effects among workers in sewage treatment plants. *Occupational and Environmental Medicine*, 56(5), 354-357. Tiré de <https://oem.bmj.com/content/oemed/56/5/354.full.pdf>
- Rylander, R. (2002). Endotoxin in the environment: Exposure and effects. *Journal of Endotoxin Research*, 8(4), 241-252. doi: 10.1179/096805102125000452
- Rylander, R., Andersson, K., Belin, L., Berglund, G., Bergstrom, R., Hanson, L. A., . . . Mattsby, I. (1976). Sewage worker's syndrome. *Lancet*, 2(7983), 478-479.
- Sanchez-Monedero, M. A., Aguilar, M. I., Fenoll, R. et Roig, A. (2008). Effect of the aeration system on the levels of airborne microorganisms generated at wastewater treatment plants. *Water Research*, 42(14), 3739-3744. doi: DOI 10.1016/j.watres.2008.06.028
- Sánchez-Monedero, M. A., Stentiford, E. I. et Urpilainen, S. T. (2005). Bioaerosol generation at large-scale green waste composting plants. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 55(5), 612-618.
- Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., . . . Robinson, C. J. (2009). Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7537-7541.
- Schmütz, H., Wigand, R. et Heinrich, W. (1983). Worldwide epidemiology of human adenovirus infections. *American Journal of Epidemiology*, 117(4), 455-466.
- Selvaraju, S. B. et Selvarangan, R. (2010). Evaluation of three influenza A and B real-time reverse transcription-PCR assays and a new 2009 H1N1 assay for detection of influenza viruses. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(11), 3870-3875.
- Shannon, K., Lee, D.-Y., Trevors, J. et Beaudette, L. (2007). Application of real-time quantitative PCR for the detection of selected bacterial pathogens during municipal wastewater treatment. *Science of the total environment*, 382(1), 121-129.
- Smit, L. A. M., Spaan, S. et Heederik, D. (2005). Endotoxin exposure and symptoms in wastewater treatment workers. *American Journal of Industrial Medicine*, 48(1), 30-39. doi: Doi 10.1002/Ajim.20176
- Solomon, T., Lewthwaite, P., Perera, D., Cardosa, M. J., McMinn, P. et Ooi, M. H. (2010). Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. *The Lancet Infectious Diseases*, 10(11), 778-790.
- Srikanth, P., Sudharsanam, S. et Steinberg, R. (2008). Bio-aerosols in indoor environment: composition, health effects and analysis. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 26(4), 302-312. Tiré de <http://www.ijmm.org/article.asp?issn=0255-0857;year=2008;volume=26;issue=4;spage=302;epage=312;aulast=Srikanth>
- Teixeira, J. V., Miranda, S., Monteiro, R. A. R., Lopes, F. V. S., Madureira, J., Silva, G. V., . . . Boaventura, R. A. R. (2013). Assessment of indoor airborne contamination in a wastewater treatment plant. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(1), 59-72. doi: 10.1007/s10661-012-2533-0
- Thorn, J. et Beijer, L. (2004). Work-related symptoms and inflammation among sewage plant operatives. *International Journal of Occupation and Environmental Health*, 10(1), 84-89. Tiré de <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1179/oeh.2004.10.1.84?needAccess=true>
- Thorn, J. et Kerekes, E. (2001). Health effects among employees in sewage treatment plants: A literature survey. *American Journal of Industrial Medicine*, 40(2), 170-179. doi: 10.1002/Ajim.1085

- Thorn, J. et Rylander, R. (1998). Inflammatory response after inhalation of bacterial endotoxin assessed by the induced sputum technique. *Thorax*, 53(12), 1047-1052. Tiré de <https://thorax.bmj.com/content/thoraxjnl/53/12/1047.full.pdf>
- Trevino, R. J. (1996). Air pollution and its effect on the upper respiratory tract and on allergic rhinosinusitis. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*, 114(2), 239-241.
- Triadó-Margarit, X., Veillette, M., Duchaine, C., Talbot, M., Amato, F., Minguillón, M. C., . . . Moreno, T. (2017). Bioaerosols in the Barcelona subway system. *Indoor Air*, 27(3), 564-575.
- Uhrbrand, K., Schultz, A. C. et Madsen, A. M. (2011). Exposure to airborne noroviruses and other bioaerosol components at a wastewater treatment plant in Denmark. *Food and Environmental Virology*, 3(3-4), 130-137. doi: DOI 10.1007/s12560-011-9068-3
- Van Hooste, W., Charlier, A. M., Rotsaert, P., Bulterys, S., Moens, G., van Sprundel, M. et De Schryver, A. (2010). Work-related *Helicobacter pylori* infection among sewage workers in municipal wastewater treatment plants in Belgium. *Occupational and Environmental Medicine*, 67(2), 91-97. doi: DOI 10.1136/oem.2008.040436
- Veillette, M., Bonifait, L., Mbareche, H., Marchand, G. et Duchaine, C. (2018). Preferential aerosolization of Actinobacteria during handling of composting organic matter. *Journal of Aerosol Science*, 116, 83-91.
- Verreault, D., Marcoux-Voiselle, M., Turgeon, N., Moineau, S. et Duchaine, C. (2015). Resistance of aerosolized bacterial viruses to relative humidity and temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(20), 7305-7311. doi: 10.1128/aem.02484-15
- Yoo, K., Lee, T. K., Choi, E. J., Yang, J., Shukla, S. K., Hwang, S.-i. et Park, J. (2017). Molecular approaches for the detection and monitoring of microbial communities in bioaerosols: A review. *Journal of Environmental Sciences*, 51, 234-247.
- Zeng, S.-Q., Halkosalo, A., Salminen, M., Szakal, E., Puustinen, L. et Vesikari, T. (2008). One-step quantitative RT-PCR for the detection of rotavirus in acute gastroenteritis. *Journal of Virological Methods*, 153(2), 238-240.
- Ziros, P. G., Kokkinos, P. A., Legaki, E. et Vantarakis, A. (2011). Development of an optimized method for the detection of airborne viruses with real-time PCR analysis. *Virology Journal*, 8(1), 369.

ANNEXE A : QUESTIONNAIRE

Décrivez votre état de santé actuel :

Très bon bon moyen mauvais très mauvais

Fumez-vous?

Oui ou Non

Si oui :

Combien de cigarettes par jour? _____

Depuis combien d'années? _____

Si non :

Avez-vous déjà fumé?

Oui ou Non?

Si oui :

Combien de cigarettes par jour? _____

Pendant combien d'années? _____

Êtes-vous asthmatique? _____

Oui ou Non

Prenez-vous de la médication pour l'asthme?

Oui ou Non

Laquelle? _____

À quelle fréquence? _____

Avez-vous reçu un diagnostic pour une maladie inflammatoire de l'intestin?

Oui ou Non

Santé respiratoire

Les questions suivantes portent sur la fréquence des problèmes respiratoires que vous avez eus au cours **des 4 dernières semaines**.

Cochez la case décrivant le mieux votre état :

	Presque tous les jours de la semaine (E)	Plusieurs jours par semaine (D)	Quelques jours par mois (C)	Seulement lors des jours d'infection respiratoire (B)	Pas du tout (A)
J'ai eu de la toux					
J'ai eu des expectorations (crachats)					
J'ai eu des écoulements nasaux					
J'ai eu de la congestion nasale					
J'ai eu de la fièvre					
J'ai eu les yeux rouges/qui grattent/larmoyants					
J'ai eu de la douleur aux oreilles					
J'ai été essoufflé					
J'ai ressenti des sifflements dans la poitrine					

Au cours des 4 dernières semaines, combien de jours avez-vous eu des problèmes respiratoires?

Aucun 1 ou 2 3 ou 4 presque tous les jours tous les jours

Au cours des 4 dernières semaines, vous êtes- vous absenté du travail en raison de problèmes respiratoires?

Oui ou Non

Si oui, combien de jours? _____

Avez-vous obtenu un billet du médecin pour motiver cette absence?

Oui ou Non

Santé gastro-intestinale

Les questions suivantes portent sur la fréquence des problèmes gastroentériques que vous avez eus au cours **des 4 dernières semaines**.

Pendant les 4 dernières semaines avez-vous :

	Aucune (A)	Légère (B)	Modéré (C)	Fortes (D)	Sévères (E)	Très Sévères (F)	Extrême (G)
ressenti de la douleur abdominale							
ressenti de la douleur à l'estomac							
eu des brûlements d'estomac							
eu des retours gastriques							
eu des brassages intestinaux							
eu l'impression de faim							
eu des nausées							
eu des vomissements							
eu des flatulences							

Au cours des 4 dernières semaines, combien de jours avez-vous eu des problèmes gastroentériques?

Aucun 1 ou 2 3 ou 4 presque tous les jours tous les jours

Au cours des 4 dernières semaines, vous êtes-vous absenté du travail en raison de problèmes gastroentériques?

Oui ou Non

Si oui, combien de jours? _____

Avez-vous obtenu un billet du médecin pour motiver cette absence?

Oui ou Non