

Effet sur la qualité de l'air et la santé des travailleurs et travailleuses dans les logements alternatifs des poules pondeuses

Magali-Wen St-Germain¹, Valérie Létourneau²,
Marc Veillette², Perrine Cruaud³, Candice Lemaille¹,
Kim Robitaille¹, Éloïse Denis⁴, Araceli Dalila Larios Martínez⁵,
Sébastien Fournel⁵⁻⁶, Stéphane Godbout⁴,
Geneviève Dion², Andréanne Côté², Laurianne Gratton¹,
Martine Boulianne⁴, Caroline Duchaine¹⁻²

R-1227-fr



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 Chercheuse indépendante, Laurentides, France, ⁴ Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, ⁵ Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA), ⁶ Département des sols et de génie agroalimentaire, Université Laval



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.

Pour en savoir plus

Visitez notre dépôt institutionnel PhareSST! Vous y trouverez une information complète et à jour. De plus, toutes les publications éditées par l'IRSST peuvent être téléchargées gratuitement.

www.pharesst.irsst.qc.ca

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

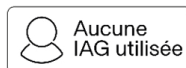
- au magazine Prévention au travail, publié conjointement par l'Institut et la CNESST (preventionautravail.com)
- au bulletin électronique [InfoIRSST](#)

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2026
ISBN 978-2-89797-336-0 (PDF)

<https://doi.org/10.70010/UZAD9010>

Divulgence de l'utilisation de
l'intelligence artificielle générative (IAG)



Aucune
IAG utilisée

© Institut de recherche Robert-Sauvé en santé
et en sécurité du travail, 2026

Ce document est sous une licence Creative Commons.
[Attribution - Utilisation non commerciale - Pas d'œuvre dérivée 4.0 International](#). Cette licence autorise l'utilisation et le partage du document, à condition que l'IRSST soit cité en tant que source, que le contenu est diffusé sans modification et qu'il est utilisé à des fins non commerciales. Si vous souhaitez modifier son contenu ou l'utiliser à des fins commerciales, veuillez contacter :
publications@irsst.qc.ca



IRSST – Service des communications et des relations publiques
505, boul. De Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec) H3A 3C2
Téléphone : 514 288-1551
publications@irsst.qc.ca
www.irsst.qc.ca

Note au lectorat

Cette étude a été financée par l'IRSST. Les conclusions et recommandations sont celles des autrices et auteurs. 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.

Avis de non-responsabilité

L'IRSST ne donne aucune garantie relative à l'exactitude, 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 dépôt institutionnel de l'IRSST (PhareSST).

Cadre de référence pour la recherche en SST



Prévention des atteintes à l'intégrité physique et psychique



Réadaptation, retour et maintien au travail



Surveillance et prospection des données en SST



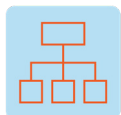
Identification des dangers, estimation et évaluation des risques



Élimination des dangers et maîtrise des risques



Métrologie appliquée à la SST



Organisation du travail



Santé mentale et psychologique



Population, société et SST

REMERCIEMENTS

L'équipe de recherche remercie les producteurs et les productrices d'œufs ayant accepté de participer aux volets d'échantillonnage de l'air ainsi qu'aux personnes ayant participé au volet santé respiratoire. Nous remercions aussi Mylène Duchaine (infirmière) et Claudine Ferland (professionnelle de recherche clinique), qui ont réalisé les prélèvements et la collecte de données dans le cadre du volet santé, ainsi que Marie-Ève Boulay (professionnelle de recherche), qui a réalisé la validation des données de spirométrie dans le cadre du volet santé. Sont aussi remerciés la Fédération des producteurs d'œufs du Québec et les Producteurs d'œufs du Canada, lesquels ont été d'un support considérable pour le recrutement auprès des responsables de pondoirs.

SOMMAIRE

Les œufs de poules en liberté et les œufs provenant « d'élevage confort » sont maintenant des produits communs dans les marchés alimentaires du Québec. Cette nouvelle variété de produits est le résultat de l'évolution des pratiques afin de concilier le bien-être des poules pondeuses et les besoins de l'industrie. En effet, d'ici l'année 2036, les logements conventionnels pour poules pondeuses (logements grillagés pour des petits groupes de poules) seront graduellement remplacés par des logements alternatifs. Les logements alternatifs pour poules pondeuses regroupent les colonies enrichies et les logements sans cages (sur plancher ou en volière). Ils ont en commun une plus grande surface et un plus grand espace vertical pour les animaux ainsi que la présence d'enrichissements, tels que des perchoirs et des nids reclus, qui permettent aux poules d'exprimer davantage leurs comportements naturels. Les logements sans cages se démarquent des colonies enrichies par la présence de litière au sol, qui est généralement composée de copeaux de bois ou de matériel sablonneux, sur laquelle les poules peuvent picorer, gratter et prendre des bains de sable. L'adoption des logements alternatifs pour poules pondeuses impliquera de nombreux changements d'infrastructures et de pratiques de travail. La plus grande liberté de mouvement des animaux et la présence de surface de litière dans certains poulaillers pourraient entraîner de plus hautes concentrations de poussières et de particules biologiques dans l'air de ces environnements de travail. Toutefois, la qualité de l'air des poulaillers alternatifs au Québec n'a pas encore été caractérisée, même si un effet sur la santé respiratoire des travailleurs et des travailleuses de l'industrie ovicole est à prévoir.

Ce projet a permis d'évaluer les concentrations de poussières, de bactéries et de moisissures en poulaillers conventionnels, en colonies enrichies et en logements sans cages de type volière au Québec. De plus hautes concentrations de poussières, d'endotoxines et de certaines bactéries ont été trouvées dans les volières. Toutefois, le type de poulailler n'a pas eu le même effet pour d'autres bioaérosols. La diversité bactérienne dans l'air des volières se distingue de celle trouvée dans les poulaillers utilisant des logements grillagés, et est également similaire à celle retrouvée dans la litière. Un suivi longitudinal des concentrations de bactéries totales et d'archées totales en poulaillers alternatifs a révélé l'effet de la saison sur les concentrations des bioaérosols à l'étude. Compte tenu des plus hautes concentrations de poussières dans les volières, un essai en poulaillers expérimentaux à petite échelle a révélé le potentiel de méthodes de mitigation des poussières et de l'ammoniac sur les bioaérosols, notamment l'aspersion d'émulsion d'huile sur la surface de litière. Un essai en volière commerciale a ensuite confirmé l'importance du dosage et de la fréquence d'aspersion pour réduire les poussières et l'ammoniac. Enfin, des données préliminaires quant à la santé respiratoire des travailleurs et des travailleuses montre la pertinence de poursuivre et de raffiner l'évaluation de l'effet des nouvelles pratiques sur la santé humaine par le recrutement d'une plus importante cohorte.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
1. ÉTAT DES CONNAISSANCES	3
1.1 Les poulaillers alternatifs	3
1.2 Bioaérosols et ammoniac dans les pondeurs classiques et alternatifs, et effets sur la santé	4
1.3 Stratégies de mitigation des poussières, de l'ammoniac et des bactéries	5
2. OBJECTIFS DE RECHERCHE	7
2.1 Objectif 1a : Évaluation de la qualité de l'air et des bioaérosols en poulaillers conventionnels et alternatifs.....	9
2.2 Objectif 1b : Suivi longitudinal des concentrations de bactéries totales et d'archées totales, et analyse de la diversité bactérienne en logements alternatifs pour poules pondeuses	9
2.3 Objectif 2 : Évaluation de la santé respiratoire de personnes travaillant dans l'industrie ovicole	9
2.4 Objectif 3 : Effet des méthodes de mitigation des poussières et de l'ammoniac sur les bioaérosols	10
3. MÉTHODOLOGIE	11
3.1 Objectif 1a : Évaluation de la qualité de l'air et des bioaérosols en poulaillers conventionnels et alternatifs.....	11
3.1.1 Poulaillers conventionnels et alternatifs	11
3.1.2 Mesure des conditions environnementales	11
3.1.3 Mesure des poussières et échantillonnage des endotoxines et des bioaérosols	12
3.1.4 Échantillonnage et traitement des échantillons de fientes et de litières.....	13
3.1.5 Quantification des endotoxines par un essai chromogénique de type cinétique LAL)	13
3.1.6 Quantification de bactéries et des moisissures cultivables.....	14
3.1.7 Éluion et extraction de l'ADN total des échantillons de bioaérosols	14
3.1.8 PCR quantitative sur l'ADN extrait des échantillons de bioaérosols.....	15
3.1.9 Analyses statistiques relatives à la quantification des bioaérosols.....	16
3.1.10 Analyse de la diversité bactérienne des échantillons de bioaérosols : préparation des librairies, séquençage haut débit et analyse bio-informatique.....	16

3.2	Objectif 1b : Suivi longitudinal des concentrations de bactéries et d'archées totales, et analyse de la diversité bactérienne dans les logements alternatifs pour poules pondeuses.....	17
3.2.1	Campagnes d'échantillonnage	17
3.2.2	Élution des bioaérosols et extraction d'ADN	18
3.2.3	Analyses par qPCR	18
3.2.4	Analyses statistiques des données qPCR	19
3.2.5	Analyse de la diversité bactérienne par séquençage haut débit	19
3.2.6	Préparation de librairie et flux de travail bio-informatique	19
3.3	Objectif 2 : Évaluation de la santé respiratoire de personnes travaillant dans l'industrie ovicole	21
3.3.1	Recrutement des participants et des participantes	21
3.3.2	Évaluation de la santé respiratoire.....	21
3.3.3	Traitement des données des questionnaires santé.....	22
3.4	Objectif 3 : Effet des stratégies de mitigation des poussières et de l'ammoniac sur les bioaérosols.....	22
3.4.1	Volières expérimentales et suivi des conditions ambiantes.....	22
3.4.2	Stratégies de mitigation à l'étude en volières expérimentales.....	23
3.4.3	Analyses statistiques pour la détermination de l'effet des stratégies de mitigation sur les émissions de poussières et de bioaérosols de volières expérimentales.....	25
3.4.4	Application des stratégies de mitigation les plus efficaces en volière commerciale.....	25
3.4.5	Mesures des poussières et échantillonnage des bioaérosols en volière commerciale.....	26
3.4.6	Analyses statistiques pour la détermination de l'effet de la stratégie de mitigation sur les concentrations de poussières et de bioaérosols d'une volière commerciale.....	26
4.	RÉSULTATS	27
4.1	Objectif 1a : Évaluation de la qualité de l'air et des bioaérosols en poulaillers conventionnels et alternatifs.....	27
4.1.1	Évaluer la qualité de l'air (poussières totales, PM10, PM2,5, endotoxines totales, bactéries totales, bactéries et moisissures cultivables) et vérifier la présence dans l'air de bactéries d'origine fécale	27
4.1.2	Caractériser et comparer la diversité des bactéries de l'air et de la litière des poulaillers à l'aide du séquençage haut débit	29

4.2	Objectif 1b : Suivi longitudinal des concentrations de bactéries totales et d'archées totales, et analyse de la diversité bactérienne en logements alternatifs pour poules pondeuses	32
4.2.1	Concentrations de bactéries totales et d'archées totales dans l'air des colonies enrichies et des volières	32
4.2.2	Analyse de la diversité bactérienne	34
4.3	Objectif 2 : Évaluation de la santé respiratoire de personnes travaillant dans l'industrie ovicole	38
4.3.1	Description des cohortes	38
4.3.2	Travail actuel et antécédents de travail.....	39
4.3.3	Tabagisme et antécédents	42
4.3.4	Symptômes respiratoires	44
4.3.5	Allergies	45
4.3.6	Résultats de spirométrie	46
4.4	Objectif 3 : Effet des stratégies de mitigation des poussières et de l'ammoniac sur les bioaérosols	47
4.4.1	Effet des stratégies de mitigation sur les émissions de poussières, d'ammoniac et de bioaérosols en volières expérimentales	47
4.4.2	Effet de l'aspersion d'une émulsion d'huile sur la litière sur les concentrations de poussières et de bioaérosols en volière commerciale	49
5.	DISCUSSION	51
5.1	Objectif 1a : Évaluation de la qualité de l'air et des bioaérosols en poulaillers conventionnels et alternatifs.....	51
5.1.1	Évaluer la qualité de l'air (poussières totales, PM10, PM2,5, endotoxines totales, bactéries totales, bactéries et moisissures cultivables) et vérifier la présence dans l'air de bactéries d'origines fécales.....	51
5.1.2	Caractériser et comparer la diversité des bactéries de l'air, des fientes et de litière des poulaillers à l'aide du séquençage haut débit	53
5.2	Objectif 1b : Suivi longitudinal des concentrations de bactéries totales et d'archées totales, et analyse de la diversité bactérienne en logements alternatifs pour poules pondeuses	55
5.2.1	Concentrations de bactéries totales et d'archées totales	55
5.2.2	Analyse de la diversité bactérienne	57
5.2.3	Forces et limites de l'objectif 1b.....	58
5.3	Objectif 2 : Évaluation de la santé respiratoire de personnes travaillant dans l'industrie ovicole	59

5.3.1	Description des cohortes à l'étude.....	59
5.3.2	Résumé des résultats, limites de l'étude et perspectives	60
5.4	Objectif 3 : Effet des stratégies de mitigation des poussières et de l'ammoniac sur les bioaérosols	62
5.4.1	Effet des stratégies de mitigation sur les émissions de poussières en volières expérimentales	62
5.4.2	Effet de l'aspersion d'une émulsion d'huile sur la litière sur les concentrations de poussières et de bioaérosols en volière commerciale	63
CONCLUSION.....		65
BIBLIOGRAPHIE		68

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.	Tests et mesures dans le cadre de l'objectif d'évaluation de la santé respiratoire de personnes travaillant dans l'industrie ovocole.....	10
Tableau 2.	Amorces et sondes pour les essais qPCR	15
Tableau 3.	Amorces et sondes utilisées pour la quantification des bactéries et des archées totales	18
Tableau 4.	Description et assignation des méthodes de mitigation étudiées en volières expérimentales	23
Tableau 5.	Informations sur les applications de l'émulsion d'huile et sur la prise des mesures de poussières et des échantillons de bioaérosols au début du cycle d'élevage	26
Tableau 6.	Caractéristiques des poulaillers à l'étude dans le cadre de l'objectif 1a - Minimum-maximum (médiane).....	27
Tableau 7.	Couverture (%) des échantillons d'air et de fientes/litière provenant des logements conventionnels, des colonies enrichies ou des volières (moyenne \pm SD, min-max) (*= p < 0.05, Mann-Whitney) (n=36, 12 par type de logement).....	30
Tableau 8.	Informations sur le travail de la cohorte en production d'œufs et celle de personnes non exposées (% (n) ou moyennes \pm écart-type)	40
Tableau 9.	Antécédents tabagiques de cohortes (% , n, moyennes et écart-type).....	42
Tableau 10.	Liste des allergies non médicamenteuses déclarées par les personnes de la cohorte en production d'œuf totale (n=25) pairée (n=16) et de la cohorte non exposée aux bioaérosols agricoles (n=6)	43
Tableau 11.	VEMS moyen (% , L) écart type et Tiffenau moyen % de sujets de la cohorte PO et du groupe non exposé.....	46

LISTE DES FIGURES

Figure 1.	Schéma du projet « Effet sur la qualité de l'air et la santé des travailleuses et travailleurs de logements alternatifs pour les poules pondeuses » tel que présenté dans la proposition initiale.	8
Figure 2.	Concentrations de poussières et de bioaérosols en logements conventionnels, en colonies enrichies et en volières (moyenne géométrique des moyennes géométriques \pm écart-type géométrique) (Procédure mixed, * = $p < 0,05$, LQ= limite de quantification)	28
Figure 3.	Indices de diversité alpha des échantillons d'air et de fientes/litière provenant de logements conventionnels (LC), de colonies enrichies (CE) et de volières (V) (moyenne, min-max) (Mann-Whitney, *= $p < 0,05$)	30
Figure 4.	Abondance relative des 15 phyla et des 20 genres bactériens les plus abondants dans les échantillons d'air et de fientes/litière provenant des logements conventionnels (LC), des colonies enrichies (CE) et des volières	31
Figure 5.	Positionnement multidimensionnel non métrique (NMDS) des échantillons d'air et des échantillons de fèces/litière provenant de logements conventionnels (LC), de colonies enrichies (CE) et de volières (V) (Bray-Curtis, 50 UTO les plus abondants)	32
Figure 6.	Concentrations de bactéries totales (A) et d'archées totales (B) dans les bioaérosols de colonies enrichies et de volières pendant un cycle de production, selon la semaine de vie des troupeaux (médiane, Tukey, GLMM, * = $p < 0,05$)	33
Figure 7.	Concentrations de bactéries totales (A) et d'archées totales (B) pendant la saison froide et pendant la saison chaude dans l'air de colonies enrichies et de volières pendant un cycle de production (Médiane, Tukey, GLMM, * = $p < 0,05$).	33
Figure 8.	Richesse spécifique (A) et index de Shannon (B) des échantillons de colonies enrichies et des échantillons de volières (1), et pendant la saison froide/chaude et le début/fin du cycle de production (2) (Median, Tukey, GLMM *= $p < 0,05$)	35
Figure 9.	Abondances relatives des 10 phyla bactériens les plus abondants dans l'air de colonies enrichies et de volières, pendant les différentes saisons et à différents moments du cycle d'élevage	36
Figure 10.	Abondances relatives des 20 genres bactériens les plus abondants dans l'air de colonies enrichies et de volières pendant les différentes saisons et à différents moments du cycle d'élevage	37

Figure 11.	Positionnement multidimensionnel non métrique des échantillons d'air prélevés au début du cycle de production et ceux prélevés à la fin du cycle de production, dans des colonies enrichies (CE) et des volières (V), respectivement (Bray-Curtis)	38
Figure 12.	Proportion du sexe des participants et des participantes et répartitions des âges (moyenne ± écart-type) dans la cohorte en production d'œuf et la cohorte des personnes non exposées.....	39
Figure 13.	Heures allouées aux principales tâches de travail par la cohorte en production d'œufs et pourcentage de port de masque lors de la réalisation des tâches	41
Figure 14.	Antécédents respiratoires et associés des cohortes (%).....	43
Figure 15.	Pourcentages de symptômes respiratoires, généraux et oculaires s'étant manifestés dans les 3 mois précédant l'étude.....	45
Figure 16.	Résultats des tests d'allergies parmi les cohortes en pourcentages et en ratios bruts	46
Figure 17.	Émissions de poussières (PM _{2,5} , PM ₁₀ et poussières totales) pour chaque type de traitement pendant les trois campagnes d'échantillonnage : la période d'adaptation et les 2 campagnes d'échantillonnage A et B (n = 3, moyenne ± écart-type) (p < 0,05).....	48
Figure 18.	Concentrations de PM _{2,5} , de PM ₁₀ et de poussières totales en absence et en présence d'un traitement pour la mitigation des poussières et de l'ammoniac en volière commerciale (MG moyenne géométrique ± écart-type géométrique, ANOVA à deux facteurs, Tukey, * = p < 0,05).....	49
Figure 19.	Concentrations d'endotoxines, de bactéries totales (qPCR EUB) et de moisissures <i>Penicillium</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp. et <i>Paecilomyces variotii</i> (qPCR <i>PenAsp</i>) en absence et en présence de traitement pour la mitigation des poussières et de l'ammoniac en volière commerciale (MG moyenne géométrique ± écart-type géométrique, ANOVA à deux facteurs, Bonferroni, * = p < 0,05).....	50

LISTE DES ACRONYMES, SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Acronyme	Définition
LAL	Lysat d'amœbocyte de limule
UFC	Unité formatrice de colonie
CVF	Capacité vitale forcée
VEMS	Volume expiratoire maximal en une seconde
VEMS %	Pourcentage du VEMS d'une personne sur la valeur de référence établie compte tenu de son sexe, de son âge, de son poids et de son ethnie
UE	Unité d'endotoxine
UTO	Unité taxonomique opérationnelle

INTRODUCTION

Le Conseil national pour les soins aux animaux d'élevage et les Producteurs d'œufs du Canada ont mandaté le retrait des cages conventionnelles pour poules pondeuses, pour une adoption graduelle des logements alternatifs pour pondeuses et une transition complète prévue pour l'année 2036 (Les Producteurs d'œufs du Canada et Conseil national pour le soin des animaux d'élevage, 2017). Cet important changement dans l'industrie permettant l'amélioration du bien-être animal touchera près de 195 producteurs et productrices d'œufs dans la province de Québec (Les Producteurs d'œufs du Canada, 2023).

Les logements alternatifs pour poules pondeuses sont caractérisés par une plus grande surface allouée pour chaque animal et la présence d'enrichissements qui permettent l'expression de comportements naturels chez les animaux (ex. : perchage, grattage, ponte en nid reclus, etc.) (Appleby et Hughes, 1991; Duncan *et al.*, 1992; Hartcher et Jones, 2017; Tanaka et Hurnik, 1992). Les logements sans cages, dont les volières, présentent une surface de litière sur le plancher. Elle peut être composée de sable, de sciure de bois ou de matière végétale (Al-Homidan *et al.*, 2018; Gustafsson et von Wachenfelt, 2006; Hartcher et Jones, 2017; Shepherd *et al.*, 2017). La surface de litière constitue un espace sur lequel les poules peuvent gratter, picorer et prendre des bains de poussières (Duncan, 2001; Hartcher et Jones, 2017; Widowski *et al.*, 2016). Les élevages sans cages ont toutefois rencontré des défis en termes de maintenance sanitaire, par la présence de structures sur lesquelles les fientes peuvent s'accumuler, le libre mouvement des oiseaux pouvant faciliter la transmission de maladies et par la présence de litière (Abrahamsson *et al.*, 1998; Appleby et Hughes, 1991; Fossum *et al.*, 2009; Tauson, 2005). La présence de fientes sur la surface de litière et l'humidité de celle-ci peuvent également contribuer à la production d'ammoniac (Groot Koerkamp, 1994). Les logements enrichis et les élevages sans cages pour poules pondeuses pourraient ainsi avoir un effet sur la qualité de l'air, la concentration et la composition des bioaérosols, et potentiellement sur la santé respiratoire des travailleurs et des travailleuses.

L'air des pondoires conventionnels et alternatifs contient d'importantes concentrations de poussières, de bactéries, de moisissures, d'endotoxines et d'ammoniac (Arteaga *et al.*, 2015; Donham *et al.*, 2000; Ellen *et al.*, 2000; Just *et al.*, 2011; Kirychuk *et al.*, 2006; Le Bouquin *et al.*, 2013; Nimmermark *et al.*, 2009; Radon *et al.*, 2001; Senthilselvan *et al.*, 2011). L'exposition aux poussières, aux endotoxines et à l'ammoniac dans les poulaillers a d'ailleurs été associée à une diminution des fonctions respiratoires à la suite d'une journée de travail (Donham *et al.*, 2000). Les personnes travaillant dans ces pondoires ont de plus rapporté davantage de toux et de sécrétions qu'une cohorte non exposée (Donham *et al.*, 2000; Donham *et al.*, 1990; Kirychuk *et al.*, 2003).

La présence et les concentrations de poussières et d'ammoniac dans l'air des pondoires et leur effet sur la qualité de l'air préoccupent, et des stratégies de mitigation sont à l'étude.

La surface de litière est une source majeure de poussières aériennes et offre un substrat riche en humidité, ce qui constitue un environnement favorable pour la production d'ammoniac par les microorganismes (Groot Koerkamp, 1994). Des études ont ainsi investigué des stratégies de réduction des poussières et de l'ammoniac telles que l'ajout d'un inoculant à la litière par brumisation ou aspersion, la précipitation électrostatique et la modification de la diète alimentaire des animaux afin de réduire la production d'ammoniac (Chai, Xin, *et al.*, 2018; Janczak *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2016; Zheng *et al.*, 2013).

Les effets sur la qualité de l'air des logements alternatifs pour poules pondeuses sont toutefois méconnus au Québec, alors que ces environnements pourraient être propices à la production de poussières, d'ammoniac et de bioaérosols. Au cours du présent projet, les concentrations de poussières et de bioaérosols ont ainsi été évaluées dans six pondoires conventionnelles, six colonies enrichies et six volières dans la province de Québec. L'analyse des échantillons d'air par séquençage haut débit a de plus permis d'observer plus en détail l'effet des différents types de logements sur les communautés bactériennes. Des stratégies de mitigation ciblant les poussières et l'ammoniac ont de plus été évaluées en volières expérimentales, puis à l'échelle commerciale. Finalement, l'effet des poulaillers conventionnels et alternatifs sur la santé respiratoire des producteurs et productrices d'œufs a été évalué par le recrutement de 25 personnes travaillant dans les poulaillers conventionnels ou alternatifs et par la participation, à titre de sujets contrôles n'ayant jamais été dans des poulaillers, de 15 personnes travaillant en production laitière et de 16 personnes ne travaillant pas dans un domaine agricole. Ces dernières ont été recrutées pour correspondre au sexe, à l'âge et au statut tabagique des personnes travaillant en production ovicole.

1. ÉTAT DES CONNAISSANCES

1.1 Les poulaillers alternatifs

Les poulaillers conventionnels pour poules pondeuses ont connu leur essor dans les années 1960 et pendant les décennies suivantes (Duncan, 2001). Les poules ayant atteint leur maturité sexuelle (environ 19 ou 21 semaines d'âge) sont logées en groupes de 6 à 10 individus dans un logement grillagé avec un accès à volonté à l'eau et à la nourriture (Les Producteurs d'œufs du Canada et Conseil national pour le soin des animaux d'élevage, 2017). Le plancher grillagé du logement conventionnel est typiquement incliné afin d'acheminer les œufs pondus sur des courroies de transport, lesquelles sont activées ponctuellement pour la récolte des œufs. Ce type de logement est appelé cages en batterie, cages-classiques ou logement conventionnel (Les Producteurs d'œufs du Canada et Conseil national pour le soin des animaux d'élevage, 2017).

Les logements conventionnels ont présenté des avantages pour la gestion des troupeaux, le maintien des conditions sanitaires, la gestion en cas de maladie et la réduction des coûts énergétiques et de ressources alimentaires (Arndt, 1931; Duncan, 2001; Hester, 2005). Cependant, la haute densité, le surpeuplement et l'absence d'enrichissements environnementaux peuvent contribuer au stress, à de l'agressivité, au développement de problèmes musculosquelettiques et à l'émergence de comportements stéréotypés chez les poules pondeuses (Appleby et Hughes, 1991; Hartcher et Jones, 2017; Hester, 2005). Les critiques et préoccupations quant au bien-être animal des pondeuses ont mené à des codes et à des lignes directrices pour l'industrie afin d'abolir les logements classiques pour poules pondeuses et d'instaurer les logements alternatifs (Council of the European Union, 1999; Les Producteurs d'œufs du Canada et Conseil national pour le soin des animaux d'élevage, 2017; Shields *et al.*, 2017).

Au Canada, le nouveau *Code de pratiques pour le soin et la manipulation des poulettes et pondeuses* reconnaît trois principaux types de logements alternatifs : les cages enrichies (aussi appelées « colonies-enrichies »), les systèmes à un niveau (aussi appelés « élevages au sol ») et les volières (systèmes à plusieurs niveaux) (Les Producteurs d'œufs du Canada et Conseil national pour le soin des animaux d'élevage, 2017). Les élevages sans cages offrant l'accès à l'extérieur sont appelés élevages en libre parcours. Au terme de l'année 2023, 33,86 % des œufs produits au Canada provenaient de colonies enrichies, 11,34 % provenaient de volières, 5,40 % provenaient d'élevages biologiques et 1,38 % d'élevages en libre parcours (Les Producteurs d'œufs du Canada, 2023). Les logements conventionnels contribuent à 48,02 % de la production, alors qu'ils contribuaient à 82 % de la production canadienne lors de la publication du nouveau Code de pratiques en 2017 (Les Producteurs d'œufs du Canada, 2018). La transition graduelle des logements conventionnels vers les logements alternatifs pour poules pondeuses

impliquera près de 195 producteurs et productrices dans la province de Québec (Les Producteurs d'oeufs du Canada, 2022). L'effet des pondoires alternatifs sur la qualité de l'air et les bioaérosols n'a pas été étudié dans la production québécoise et même canadienne, alors qu'ils pourraient probablement avoir une incidence sur la santé respiratoire dans ces milieux de travail.

1.2 Bioaérosols et ammoniac dans les pondoires classiques et alternatifs, et effets sur la santé

L'air des poulaillers conventionnels pour poules pondeuses et des élevages de poulets de chair contient, entre autres de la matière particulaire (poussières), des bactéries, des moisissures, des archées, des endotoxines et de l'ammoniac (Donham *et al.*, 2000; Ellen *et al.*, 2000; Groot Koerkamp, 1994; Kirychuk *et al.*, 2006; Senthilselvan *et al.*, 2011).

La matière particulaire retrouvée dans l'air ou les bioaérosols des poulaillers provient du sol, des fèces, des squames de peau de la volaille, des plumes, de la nourriture et des microorganismes. Les concentrations de poussières sont généralement plus élevées dans les élevages de poulets de chairs que les logements conventionnels pour poules pondeuses (Just *et al.*, 2011; Kirychuk *et al.*, 2006). Les activités animales, la ventilation du bâtiment, le moment de la journée, l'âge des oiseaux, le type de nourriture et l'humidité peuvent affecter la présence de poussières dans l'air (Cambra-López *et al.*, 2010; Ellen *et al.*, 2000). L'exposition occupationnelle aux matières particulaires en milieu agricole a été associée au développement de symptômes tels que la toux, des sifflements et de l'oppression thoracique et à des bronchites chroniques (Donham *et al.*, 2000; Kirychuk *et al.*, 2003). Plusieurs études réalisées sur le continent européen et aux États-Unis relèvent des concentrations plus élevées de matière particulaire dans les élevages de poules pondeuses sans cages, dont les volières (Arteaga *et al.*, 2015; Le Bouquin *et al.*, 2013; Nimmermark *et al.*, 2009). Cette différence est largement attribuée à la surface de litière trouvée dans les volières et les élevages au sol.

L'analyse des bioaérosols a révélé la présence des bactéries *Bacillus*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *Salmonella* et *Enterococcus* (Agunos *et al.*, 2021; Just *et al.*, 2012), avec des concentrations de bactéries cultivables s'élevant de 10^4 à 10^9 unités formatrices de colonies par mètre cube d'air (UFC/m³). Une étude ayant analysé les bioaérosols en élevages conventionnels pour poules pondeuses par séquençage haut débit a révélé la présence des genres bactériens *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Turicibacter*, *Flacklamia*, *Corynebacterium*, *Fusobacterium*, *Aerococcus*, *Comamonas*, *Faecalibacterium*, *Enterococcus*, *Olsenella*, *Jeotgalicoccus*, et *Stenotrophomonas* (Cui *et al.*, 2023). Bien que certaines de ces bactéries soient des agents pathogènes opportunistes chez la volaille et chez les humains (ex. : *Enterococcus*, *Salmonella*), le rôle des bactéries dans l'air sur le développement de symptômes respiratoires chez les personnes travaillant dans les poulaillers demeure à explorer.

Les archées sont d'autres microorganismes ayant été détectés dans l'air d'élevages animaux (Blais-Lecours *et al.*, 2012; Nehmé *et al.*, 2009), dont les poulaillers (Just *et al.*, 2013), avec des concentrations entre $1,2 \times 10^4$ et $1,2 \times 10^6$ copies/m³ d'air dans ces derniers. Certaines archées méthanogènes étant capables d'induire une réponse inflammatoire chez la souris, par exposition intranasale (Blais-Lecours *et al.*, 2011), l'exposition des travailleurs et travailleuses aux archées dans l'air des poulaillers peut possiblement avoir une incidence sur leur santé respiratoire. Toutefois, peu d'études se sont penchées sur les concentrations d'archées totales dans l'air des poulaillers.

L'exposition aux hautes concentrations d'endotoxines des poulaillers a toutefois pu être associée au développement de symptômes respiratoires, tels que l'oppression thoracique, les myalgies, de la fièvre, des frissons et de la dyspnée (Donham *et al.*, 2000; Kirychuk *et al.*, 2003; Singh et Schwartz, 2005). Les genres fongiques *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium* et *Geotricum* ont précédemment été retrouvés dans les poulaillers (Just *et al.*, 2012). Ces mycètes sont communément trouvés dans l'environnement et décomposent la matière organique (St-Germain et Summerbell, 1996). L'exposition aux particules fongiques (ex. : spores, fragments de mycélium) et leurs métabolites (ex. : métabolites, composés organiques volatils) a été liée au développement de symptômes non spécifiques et à de l'irritation chez les personnes sensibles (Delort et Amato, 2018; St-Germain et Summerbell, 1996). Les concentrations de bactéries, d'endotoxines et de mycètes demeurent toutefois peu étudiées dans les poulaillers alternatifs.

Dans les poulaillers, l'ammoniac (NH₃) est issu de la dégradation par des microorganismes de l'acide urique et de protéines non digérées contenues dans les excréments de la volaille (David *et al.*, 2015; Groot Koerkamp, 1994). Ce processus est favorisé lorsque les températures sont supérieures à 20 °C, le pH est compris entre 5,5 et 9, et que l'humidité se situe entre 40 % et 60 %, soient des conditions fréquemment trouvées en poulaillers (Groot Koerkamp, 1994). L'ammoniac sous forme gazeuse est perceptible à l'odeur à une concentration de 10 ppm. Cette concentration est suffisante pour causer l'irritation de la conjonctive et des muqueuses des voies respiratoires supérieures chez l'humain et chez les poules (Groot Koerkamp, 1994). Les poules montrent une aversion à l'ammoniac dès 25 ppm (Wathes *et al.*, 2002).

1.3 Stratégies de mitigation des poussières, de l'ammoniac et des bactéries

Les poussières et l'ammoniac sont reconnus comme des substances affectant la qualité de l'air dans les poulaillers et dans l'environnement autour de ces élevages. Ainsi, plusieurs stratégies ont été étudiées afin de mitiger leurs concentrations dans les élevages avicoles, incluant les poulaillers de poules pondeuses.

La ventilation est utilisée pour diluer les polluants, dont les gaz et les poussières à l'intérieur du bâtiment (Harry, 1978; Les Producteurs d'œufs du Canada et Conseil

national pour le soin des animaux d'élevage, 2017; Valentine, 1964). Toutefois, comparativement aux gaz, la diminution des concentrations de poussières n'est pas assurée en totalité par la ventilation. En effet, la présence et le comportement dans l'air des particules de poussières et leur évacuation par les ventilateurs varient selon leur distribution granulométrique (taille, diamètre aérodynamique) (Harry, 1978). Le contrôle de l'humidité ambiante a de même un effet sur les concentrations de poussières. Une humidité relative de 75 % a mené à une réduction des concentrations de poussières de 20 % dans un élevage de poulet de chair (Ellen *et al.*, 2000). L'aspersion de liquide dans l'environnement intérieur ou sur la surface de litière a de plus été étudiée pour la réduction des concentrations de poussières et d'ammoniac. La production de gouttelettes dans l'air favorise la déposition des particules et l'aspersion en surface de la litière permet l'agglomération de la matière particulaire prévenant l'aérosolisation de celle-ci (Harry, 1978). L'aspersion d'eau, d'eau électrolysée acide, d'eau électrolysée légèrement acide et d'émulsions d'eau et d'huile dans l'élevage ou directement sur la litière a été étudiée à cet effet (Chai, Xin, *et al.*, 2018; Chai *et al.*, 2017; Chai, Zhao, *et al.*, 2018; Ellen *et al.*, 2000; Ogink *et al.*, 2012). Peu d'études révèlent toutefois leurs effets sur les bioaérosols. L'utilisation de l'eau constitue toutefois un risque de corrosion des équipements dans l'élevage (Tan et Zhang, 2004) ainsi que des conditions propices pour la production d'ammoniac (Wood et Van Heyst, 2016), par la hausse d'humidité sur la surface de la litière.

Les stratégies de mitigation de l'ammoniac agissent sur le contenu en acide urique dans les excréments de la volaille et le contenu en eau de la surface de litière (Wood et Van Heyst, 2016). À titre d'exemples, une alimentation conçue pour réduire le contenu en azote dans les excréments a permis de réduire les émissions d'ammoniac (Prasai *et al.*, 2018; Wood et Van Heyst, 2016), tout comme l'utilisation d'une litière ayant une meilleure capacité d'évaporation afin de réduire l'eau libre (Prasai *et al.*, 2018; Shepherd *et al.*, 2017). L'utilisation de biochar¹ comme amendement à la litière a de plus été étudiée pour réduire les émissions d'ammoniac, puisque celui-ci a la capacité de fixer l'ammoniac par absorption et adsorption chimiques et physiques (Prasai *et al.*, 2018). De façon similaire, l'acidification par l'ajout de bisulfate de sodium, vendu sous le nom de Poultry Litter Treatment, contribue à la réduction des émissions d'ammoniac en formant du sulfate d'ammonium (Chai, Xin, *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2016).

¹ Biochar : biocharbon issu de la pyrolyse anaérobie de la matière organique.

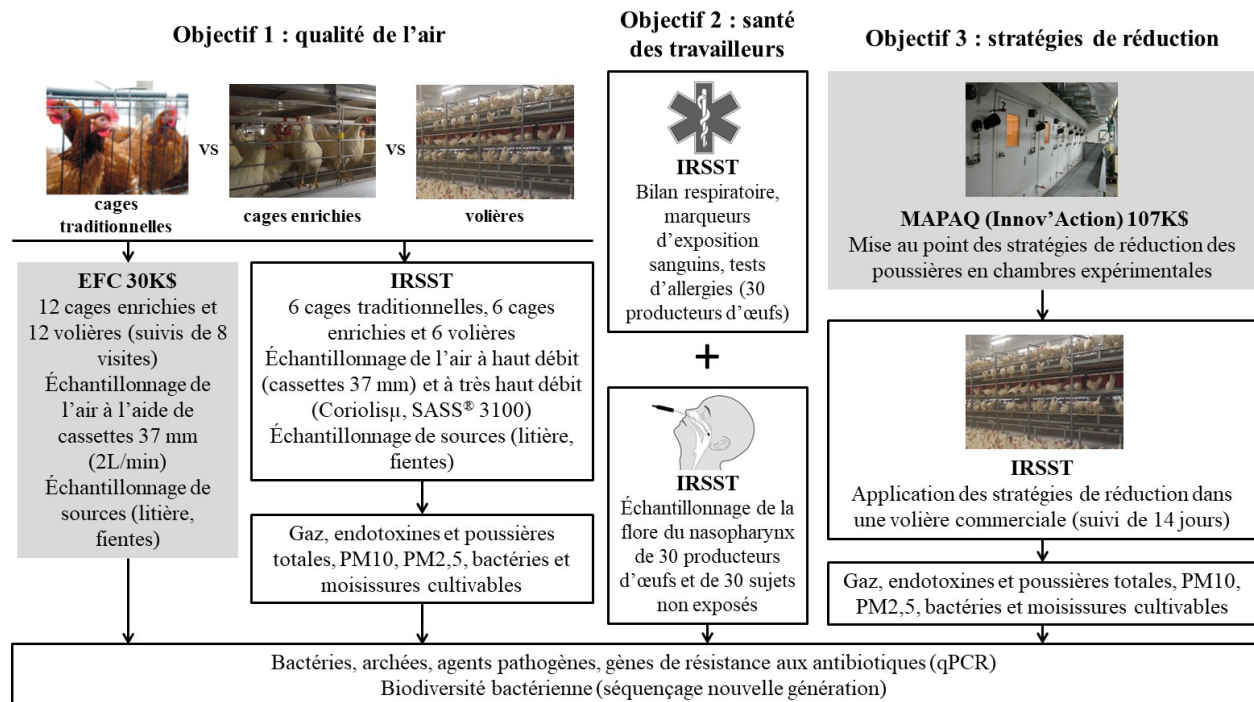
2. OBJECTIFS DE RECHERCHE

Le présent projet a eu pour objectifs d'évaluer l'effet des logements alternatifs pour poules pondeuses sur la qualité de l'air et les bioaérosols (objectifs 1a et 1b) ainsi que sur la santé des travailleurs et des travailleuses (objectif 2), et d'étudier l'efficacité de méthodes de mitigation des poussières et de l'ammoniac sur les bioaérosols (objectif 3).

Les objectifs du projet ont été complétés grâce au financement de l'IRSST ainsi que celui des Egg Farmers of Canada (EFC) pour l'objectif 1b (financement obtenu par les Drs Martine Boulianne, Caroline Duchaine et Stéphane Godbout) et du Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) (via le programme Innov'Action agroalimentaire) pour l'objectif 3 (Stéphane Godbout et Caroline Duchaine).

L'objectif 1b a permis d'effectuer un suivi longitudinal des concentrations de bactéries totales et d'archées totales, ainsi que la caractérisation de la diversité bactérienne, dans 12 poulaillers utilisant des cages enrichies et 12 poulaillers utilisant des volières. La prise d'échantillon d'air a été financée par les EFC, tandis que le financement de l'IRSST a permis l'analyse du contenu des échantillons. L'objectif 3 du présent projet s'est déroulé en volières expérimentales grâce au financement du MAPAQ, puis les stratégies de mitigation les plus prometteuses contre les poussières et l'ammoniac ont été appliquées dans une volière commerciale (le présent projet, IRSST). La figure 1 présente un survol du portfolio de projets déployés pour cette programmation de recherche, tel que présenté dans la proposition de projet initiale à l'IRSST.

Figure 1. Schéma du projet « Effet sur la qualité de l'air et la santé des travailleuses et travailleurs de logements alternatifs pour les poules pondeuses » tel que présenté dans la proposition initiale.



Les zones en gris représentent les activités financées par les autres partenaires.

La réalisation des objectifs a permis la rédaction et la publication des articles scientifiques suivants :

St-Germain, M.-W., Létourneau, V., Larios Martínez, A.D., Godbout, S., Boulianne, M. et Duchaine, C. (2024). Airborne dust and bioaerosols in Canadian conventional and alternative laying hen houses. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 21(12), 909-919. <https://doi.org/10.1080/15459624.2024.2406240>

St-Germain, M.-W., Veillette, M., Létourneau, V., Larios Martínez, A.D., Godbout, S., Boulianne, M. et Duchaine, C. (2025). Characterization of airborne bacterial diversity in conventional, enriched and multileveled free-roam hen houses, and link between possible bioaerosol sources. *Poultry Science*, 104(8), article 105217. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.105217>

St-Germain, M.-W., Létourneau, V., Cruaud, P., Lemaille, C., Robitaille, K., Denis, E., Boulianne, M. et Duchaine, C. (2024). Longitudinal survey of total airborne bacterial and archaeal concentrations and bacterial diversity in enriched colony housing and aviaries for

laying hens. *Poultry Science*, 103(11), article 104119.
<https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104119>

St-Germain, M.-W., Létourneau, V., Larios Martínez, A.D., Godbout, S., Fournel, S., et Duchaine, C. (2023). Assessing environmental mitigation strategies in controlled cage-free aviary housing systems: Effect on air quality and bioaerosols. *Journal of the ASABE*, 66(5), 1255–1263. <https://doi.org/10.13031/ja.15506>

2.1 Objectif 1a : Évaluation de la qualité de l'air et des bioaérosols en poulaillers conventionnels et alternatifs

- Échantillonner l'air et la litière de 18 poulaillers ayant des systèmes de logements conventionnels ou alternatifs (6 cages classiques, 6 cages enrichies, 6 volières);
- Évaluer la qualité de l'air (poussières totales, PM10, PM2,5, endotoxines totales, bactéries totales, bactéries et moisissures cultivables);
- Vérifier la présence dans l'air de bactéries d'origine fécale;
- Caractériser et comparer la biodiversité des bactéries de l'air et de la litière des poulaillers à l'aide du séquençage haut débit.

2.2 Objectif 1b : Suivi longitudinal des concentrations de bactéries totales et d'archées totales, et analyse de la diversité bactérienne en logements alternatifs pour poules pondeuses

- Les échantillons d'air ont été prélevés dans le cadre de l'étude *Impact of alternative housing systems on layers health and egg production* des Drs Martine Boulianne, Caroline Duchaine et Stéphane Godbout;
- Analyser le contenu d'échantillons d'air pris sur plusieurs mois en poulaillers alternatifs (12 avec des cages enrichies, 12 volières, 8 visites par poulailler);
- Quantifier les bactéries et archées totales dans l'air;
- Révéler par séquençage haut débit la diversité bactérienne.

2.3 Objectif 2 : Évaluation de la santé respiratoire de personnes travaillant dans l'industrie ovicole

- Recruter des personnes travaillant en poulailler classique ou alternatif ou en production laitière et des sujets n'ayant pas été exposés à des bioaérosols d'activités agricoles (sujets contrôles);
- Jumeler les sujets contrôles avec les personnes travaillant dans l'industrie ovicole par leur sexe, leur âge et leur statut tabagique;
- Effectuer les tests et mesures et récolter les données suivantes auprès des participants à l'étude (tableau 1).

Tableau 1. Tests et mesures dans le cadre de l'objectif d'évaluation de la santé respiratoire de personnes travaillant dans l'industrie ovicole

	Producteurs d'œufs	Contrôles non exposés
Questionnaire santé : occupation présente et passée, antécédents de symptômes respiratoires et généraux, présence de symptômes liés au travail	Oui	Oui
Test de fonction respiratoire (spirométrie) : volume maximal expiré en une seconde et capacité vitale forcée	Oui	Oui
Test d'allergie cutané <ul style="list-style-type: none"> • Contrôle positif (histamine, 1mg/ml) et contrôle négatif (saline normale phénolée) • Mélange de plumes (canard, oie et poulet), blé entier, maïs sucré et orge, <i>Hormonodendrum cladosporoides</i>, <i>Aspergillus mix</i> (4), <i>Penicillium mix</i> (3), mélange de moisissures #4 (<i>Alternaria tenuis</i>, <i>Aspergillus mix</i>, <i>Hormonodendrum cladosporoides</i>, <i>Penicillium mix</i>) 	Oui	Oui
Prélèvement de sérum pour la détection d'IgG contre des antigènes associés aux poulaillers (soit <i>Aspergillus sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i> et actinomycètes thermophiles)	Oui	Non
Prélèvement de la flore nasopharyngée : analyse de la diversité bactérienne	Oui	Oui

2.4 Objectif 3 : Effet des méthodes de mitigation des poussières et de l'ammoniac sur les bioaérosols

- Tester trois stratégies de mitigation des poussières et de l'ammoniac en volières expérimentales et différentes combinaisons de celles-ci;
- Évaluer les taux d'émission de poussières totales, de PM10, de PM2,5, d'endotoxines totales, de bactéries totales, de bactéries et moisissures cultivables, et de bactéries d'origines fécales dans les volières expérimentales dans lesquelles sont utilisées différentes stratégies de mitigation;
- Appliquer les stratégies de mitigation les plus efficaces en volière commerciale (mesure des poussières totales, des PM10, des PM2,5, des endotoxines totales et des bactéries totales).

3. MÉTHODOLOGIE

3.1 Objectif 1a : Évaluation de la qualité de l'air et des bioaérosols en poulaillers conventionnels et alternatifs

3.1.1 Poulaillers conventionnels et alternatifs

Six poulaillers conventionnels, six colonies enrichies et six volières ont été visités au cours du présent projet. Les poulaillers logeaient au moins 18 000 poules âgées de 50 semaines ou plus, et étaient situés dans un rayon de moins de 200 km de la ville de Québec (Québec, Canada). Tous les bâtiments étaient ventilés mécaniquement par des ventilateurs muraux. Les visites d'échantillonnage ont été réalisées entre les années 2020 et 2022, plus spécifiquement entre les mois d'octobre et de mars. Chaque poulailler a été visité une fois.

Chaque poulailler a été caractérisé lors de chaque visite à l'aide d'un questionnaire rempli à l'aide du gérant ou du propriétaire du poulailler. Le questionnaire a permis, entre autres, de recueillir des informations sur les dimensions du bâtiment, les caractéristiques de la ventilation, la gestion des excréments, les mesures de biosécurité et sur la santé du troupeau.

3.1.2 Mesure des conditions environnementales

Des mesures ponctuelles de la vitesse de l'air, de la température et de l'humidité relative ont été réalisées aux entrées d'air et à plusieurs endroits à l'intérieur des bâtiments, ainsi qu'à chaque ventilateur fonctionnel dans les poulaillers. La température et l'humidité relative extérieures ont également été mesurées. Ces mesures ont été réalisées parallèlement à celles des poussières et à l'échantillonnage des endotoxines et des bioaérosols. La température, l'humidité relative et la vitesse de l'air ont été évaluées à l'aide d'un thermo-hygro-anémomètre (VT-210M + sonde SMT 900; KIMO® Instruments, Waterdown, Ontario, Canada). Les mesures ont été enregistrées chaque seconde pendant 5 minutes.

Les mesures des concentrations d'ammoniac ont été réalisées simultanément à l'aide de l'analyseur de gaz infrarouge FTIR DX4040 (Gasmeter, Vantaa, Uusimaa, Finlande). La moyenne des températures, d'humidité relative et de concentrations d'ammoniac a été calculée pour chaque poulailler. Les taux de ventilations ($\text{m}^3/\text{h}/\text{poule}$) ont été déterminés en utilisant les mesures de vitesse de l'air aux ventilateurs (Bergeron *et al.*, 2024). La vitesse de l'air a été mesurée en divisant le diamètre des ventilateurs en six sections, puis en réalisant 30 mesures par section.

Le débit d'air de chaque ventilateur (q_f , m³ d'air humide/ h) a été calculé à partir de la vitesse de l'air moyenne (v , m/h), de l'aire du ventilateur (A , m²) et le cycle de service du ventilateur (Ω) (Rosa *et al.*, 2019), tel que :

$$q_f = v \times A \times \Omega$$

Le taux de ventilation (VR, m³ d'air par heure) d'un bâtiment correspond à la somme des débits de chaque ventilateur en fonction. Les taux de ventilation de chaque bâtiment ont été normalisés par le nombre de poules dans chaque bâtiment.

3.1.3 Mesure des poussières et échantillonnage des endotoxines et des bioaérosols

Les échantillonnages d'air ont été réalisés en l'absence d'activité des travailleurs et des travailleuses dans les poulaillers. Un site d'échantillonnage a été choisi dans chaque bâtiment à distance des entrées et des sorties d'air (ventilateurs en fonction). Tous les échantillonneurs ont été placés au même site d'échantillonnage et placés à environ 1,2 m au-dessus du sol.

Les endotoxines totales ont été échantillonnées pendant 4 heures en triplicata à l'aide de cassettes de 37 mm contenant un filtre en fibre de verre 0,8 µm (SKC, Eighty Four, Pennsylvanie, É-U), chacune reliée à une pompe Gilian GilAir-5 Trimode (Sensidyne®, St-Petersburg, Floride, É-U). Les pompes ont été calibrées à un débit de 2 L/min à l'aide d'un Mass Flow Meter 4140 (TSI, Shoreview, Minnesota, É-U). Une calibration des pompes a été réalisée la veille de l'échantillonnage, puis le débit a été revalidé sur le site avant et après l'échantillonnage. Les échantillons ont été conservés sur filtre à -20 °C jusqu'à leur élution.

Les poussières et les bioaérosols ont été échantillonnés pendant 10 minutes et à trois reprises au cours de la période d'échantillonnage des endotoxines totales (ex : 10 h, 11 h 15, 12 h 30). Les concentrations de poussières totales, de PM10 et de PM2.5 ont été mesurées à l'aide du mesureur de particules DustTrak™ DRX Modèle 8534 (3 L/min, TSI Inc. Shoreview, Minnesota, É-U) pendant 10 minutes (données enregistrées à chaque seconde pendant 10 minutes). Une remise à zéro (une purge) de l'appareil a été réalisée entre chaque échantillonnage en échantillonnant de l'air passant par un filtre HEPA pendant une minute. Les données ont été extraites à l'aide du logiciel TrakPro™ *Version 4.6.1.0 et 4.7.2.1, TSI Inc, Shoreview, Minnesota, É-U) afin de calculer les concentrations moyennes des différentes fractions de poussières.

Les bioaérosols ont été échantillonnés à l'aide du Coriolis Micro Biological Air Sampler (200 L/min, Bertin Corp. Rockville, Maryland, É-U) dans 15 mL de tampon phosphate salin (PBS 1X) stérile, et à l'aide du SASS® 3100 Dry Air Sampler (300 L/min, Research International, Monroe, Washington, É-U) sur un filtre électrostatique. Les bioaérosols ont

été échantillonnés pendant 10 minutes en triplicata (3 x 10 min) au cours de la période d'échantillonnage des endotoxines totales. Un blanc de terrain pour chaque échantillonneur a été réalisé pour chaque bâtiment. Les échantillons d'endotoxines et de bioaérosols ont été conservés à 4 °C jusqu'à leur traitement en laboratoire.

3.1.4 Échantillonnage et traitement des échantillons de fientes et de litières

Deux échantillons de 25 g de fientes (ou de litières, en volière) ont été prélevés à des endroits aléatoires dans chaque poulailler à l'aide de pelles et de sacs stériles. Pour le blanc de terrain, un ensemble de pelle et de sac a été exposé à l'air de chaque poulailler. Les échantillons de fientes provenaient des courroies de récupération de fientes et ont été prélevés au plus 4 jours suivant la dernière évacuation des fientes en poulaillers conventionnels, et au plus 7 jours en colonies enrichies. Les échantillons de fientes et de litières ont été conservés à 4 °C jusqu'à leur traitement en laboratoire.

Deux jours suivant chaque visite, 25 g de chaque échantillon de fientes ou de litières ont été émulsifiés dans 200 mL de PBS 1X supplémenté de 0,05 % Tween®20 pendant 1 minute à l'aide d'un mélangeur à palette du Laboratoire AES (bioMérieux, série 90410857, 50/60 Hz, Marcy-l'Étoile, Lyon, France), pour les échantillons provenant des 12 premiers poulaillers, et à l'aide d'un Fisherbrand™ Triplemix Paddle Blender (230 rpm, Fisher Scientific, Hampton, New Hampshire, É.-U.), pour les échantillons provenant des autres fermes. Les pelles et les sacs utilisés pour les blancs de terrain ont été rincés avec la solution d'homogénéisation et traités comme les échantillons. Des aliquotes (3 x 1 mL) de chaque échantillon ont été centrifugées à 14 000 x g pendant 10 minutes à température pièce. Les culots ont été conservés à -20 °C jusqu'à l'extraction d'ADN à l'aide de la trousse DNeasy® PowerLyzer® PowerSoil® de QIAGEN (Maryland, É.-U.). Les extraits d'ADN ont été conservés à -20 °C jusqu'à leur analyse.

3.1.5 Quantification des endotoxines par un essai chromogénique de type cinétique LAL)

Afin d'éluer les endotoxines des filtres en fibre de verre, les filtres ont été placés individuellement dans des tubes de polypropylène stériles de 50 mL contenant 20 mL de solution saline stérile (0,9 % NaCl, ICU Medical, Saint-Laurent, Canada) supplémentée de 0,025 % Tween® 20 (Millipore Sigma, St-Louis, Missouri, É.-U.). Les filtres ont été agités dans un vortex Glas-Col® (Terre Haute, Indiana, É.-U.) pendant une heure à une température de 4 °C. Les tubes ont ensuite été centrifugés à 500 x g pendant 10 min. Les surnageants ont été conservés (3 x 1 mL) à -20 °C jusqu'à leur analyse.

Les endotoxines ont été quantifiées à l'aide de la trousse Kinetic-QCL™ Chromogenic Limulus Amoebocyte Lysate Assay (Lonza, Walkersville, Maryland, É.-U.) et d'une courbe standard construite à partir d'endotoxines de *E. coli* O55 : B5, tel que recommandé par le fabricant. Les résultats ont été rapportés en unités d'endotoxines par mètre cube d'air (UE/m³).

3.1.6 Quantification de bactéries et des moisissures cultivables

Les échantillons de bioaérosols prélevés par le Coriolis Micro ont été récupérés à l'aide d'une pipette sérologique afin de mesurer le volume résiduel du liquide de collection. Chaque récipient de collecte a été rincé avec une solution de PBS 1X stérile supplémentée de 0,1 % Tween® 20 afin de compléter le volume de l'échantillon à 15 mL et récupérer les bioaérosols s'étant déposés sur les parois des récipients de collecte. Des dilutions sérielles de 1 :10 ont été réalisées dans une solution de PBS 1X et étalées en triplicata sur deux milieux de culture sélectifs : le milieu Tryptic Soy Agar (BD Difco™, Sparks, Nevada, É.-U.) contenant 5 µg/mL d'amphotéricine B (Milipore Sigma, St-Louis, Missouri, É.-U.) pour la quantification de bactéries mésophiles aérobies (incubation 25°C, 48 h), et le milieu Rose Bengal Agar (BD Difco™, Sparks, Nevada, É.-U.) contenant 50 µg/mL de chloramphénicol (Milipore Sigma, St-Louis, Missouri, É.-U.) pour la quantification des moisissures mésophiles aérobies (incubation à 25°C, 7 jours). Les moisissures ont été identifiées au niveau du genre par identification macroscopique et microscopique (St-Germain et Summerbell, 1996).

Les moisissures n'ayant pas pu être identifiées par leurs caractéristiques macroscopiques et leurs caractéristiques microscopiques ont été identifiées par séquençage Sanger d'amplicons des régions ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG- 3') et IST4 (5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Plateforme de séquençage SANGER, Centre de recherche du CHU de Québec-Université Laval, Québec, Canada), à partir d'extraits d'ADN de cultures pures des moisissures inconnues cultivées sur milieu Sabouraud Dextrose Agar puis incubées à 20 °C en aérobie pendant 5 jours. L'identité des moisissures inconnues a été établie par alignement des contigs ITS1-ITS4, assemblés à l'aide du logiciel Bioedit (v.7.2.5), dans la base de données Blastn du National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Les concentrations de bactéries et de moisissures cultivables ont été exprimées en unités formatrices de colonies par mètre cube d'air (UFC/m³).

3.1.7 Éluion et extraction de l'ADN total des échantillons de bioaérosols

Les filtres électret du SASS®3100 Dry Air Sampler ont été élués à l'aide de l'extracteur de particules SASS®3010 Particle Extractor (Research International, Monroe, Washington, USA) et de 7 mL de tampon d'extraction (138 mM chlorure de sodium, 10 mM tampon sodium phosphate, 2,5 mM de chlorure de potassium, 0,5 % Triton X-100 et < 0,1 % azoture de sodium). L'extracteur de particule a été désinfecté avant chaque utilisation avec 7 mL d'une solution 1:5 d'hypochlorite de sodium. Deux lavages à l'eau déminéralisée stérile (2 x 7 mL) et un conditionnement au tampon d'extraction (7 mL) ont aussi été réalisés entre chaque éluion d'échantillon afin de limiter la contamination croisée entre les échantillons. Un millilitre d'éluat a par la suite été filtré en triplicata (3 x 1mL) par échantillon sur une membrane filtrante de polycarbonate de porosité de 0,2 µm

(MiliporeSigma, Comté de Cork, Irlande) (Mbareche, Veillette, Teertstra, *et al.*, 2019). Les filtres ont été individuellement placés dans des tubes en polypropylène stériles (1,7 mL) et conservés à -20 °C jusqu'à l'extraction d'ADN.

L'extraction d'ADN des bioaérosols recueillis sur membrane de polycarbonate a été réalisée à l'aide d'une trousse DNeasy® PowerLyzer® PowerSoil® de QIAGEN (Germantown, Maryland, USA) avec une pulvérisation préalable des membranes filtrantes par agitation (30 révolutions par seconde, 20 min, Mixer Mill MM301, Düsseldorf, Allemagne) avec une bille de tungstène stérile tel que décrit par Mbareche, Veillette, Teertsta, *et al.* (2019). Les extraits d'ADN ont été conservés à -20 °C jusqu'à leur analyse.

3.1.8 PCR quantitative sur l'ADN extrait des échantillons de bioaérosols

Les bactéries totales, les moisissures *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. et *Paecilomyces variotii* (PenAsp), et des indicateurs de contamination fécale (*Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus* sp. et *Salmonella* sp.) (tableau 2) ont été quantifiés par PCR. Les amorces et les sondes ont été synthétisées chez Integrated DNA Technologies (Coralville, Iowa, É.-U.). Des plasmides contenant une séquence cible ont été utilisés pour construire des courbes d'étalonnage pour la quantification des bactéries totales, de *Campylobacter coli*, de *Capylobacter jejuni*, de *Clostridium perfringens*, et d'*Enterococcus* sp. Les courbes d'étalonnage pour la quantification des moisissures (PenAsp) et de *Salmonella* sp. ont été produites à partir d'ADN génomique d'*Aspergillus fumigatus* (Mériaux *et al.*, 2006) et de *Salmonella choleraesuis choleraesuis enterolitica* (désignation de ATCC 13076 au moment de l'acquisition, American Type Culture Collection, Manassas, Virginie, É-U), respectivement. L'ADN génomique de ces cultures a été extrait à l'aide du kit DNeasy® PowerLyzer® Powersoil® de QIAGEN (Germantown, Maryland, USA). Les données de qPCR ont été exprimées en copies de gène cible par mètre cube d'air ou en équivalent d'*Aspergillus fumigatus* par mètre cube d'air.

Tableau 2. Amorces et sondes pour les essais qPCR

Microorganisme cible	Gène cible	Référence
Bactéries totales	ARNr 16S	(Bach <i>et al.</i> , 2002)
<i>Penicillium</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp. et <i>Paecilomyces variotii</i>	ITS1-5.8S	(Haugland <i>et al.</i> , 2004)
<i>Campylobacter coli</i>	<i>GlyA</i>	(LaGier <i>et al.</i> , 2004)
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>HipO</i>	
<i>Clostridium perfringens</i>	ARNr 16S	(Wise et Siragusa, 2005)
<i>Enterococcus</i> sp.	ARNr 16S	(Rinttilä <i>et al.</i> , 2004)
<i>Salmonella</i> sp.	<i>InvA</i>	(Shannon <i>et al.</i> , 2007)
	<i>ttRSBCA</i>	(Malorny <i>et al.</i> , 2004)

3.1.9 Analyses statistiques relatives à la quantification des bioaérosols

La moyenne géométrique et l'écart-type géométrique des concentrations de poussières et de bioaérosols ont d'abord été calculés puis les données ont subi une transformation logarithmique (en \log_{10}) pour les analyses statistiques. L'effet du type de poulailler, des caractéristiques du bâtiment et des conditions environnementales sur les concentrations de poussières et de bioaérosols a été évalué à l'aide de la procédure MIXED (modèle linéaire mixte) dans le logiciel SAS (v9.4, SAS Institute Inc., Cary, North Caroline, É-U) ($\alpha = 0,05$). Une analyse de corrélation (test non paramétrique de Spearman) sur les concentrations de poussières et de bioaérosols (en \log_{10}) a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad Prism (version 9.5.7).

3.1.10 Analyse de la diversité bactérienne des échantillons de bioaérosols : préparation des bibliothèques, séquençage haut débit et analyse bio-informatique

L'analyse de la diversité bactérienne a été réalisée sur des échantillons composites et équimolaires des échantillons de bioaérosols (3 échantillons par poulailler, 3 x 10 μ L) et des échantillons de fientes/litières (2 échantillons par poulailler, 2 x 15 μ L). Les blancs de terrain ont été regroupés en fonction de leur nature et du type de logement (conventionnel, enrichi, volière), pour un volume final de 30 μ L. Les échantillons ont été envoyés à la plateforme d'analyse génomique de l'Institut de biologie intégrative et des systèmes (IBIS, Université Laval, Québec, Québec, Canada), pour l'amplification de la région V6-V8 du gène de l'ARNr 16S (Comeau *et al.*, 2011) et la réalisation du séquençage haut débit. La préparation des bibliothèques a été réalisée à l'aide d'un essai PCR à double index et à deux étapes conçu pour la plateforme de séquençage Illumina® MiSeq (Mbareche, Veillette, Pilote, *et al.*, 2019).

Les séquences obtenues ont été traitées et analysées suivant un flux de travail bio-informatique précédemment décrit (Mbareche, Veillette, Pilote, *et al.*, 2019). Les séquences complémentaires démultiplexées ont été fusionnées en contigs à l'aide du logiciel mothur version 1.48.0 en utilisant la fonction *make.contig* (Schloss *et al.*, 2009). Les séquences comprises entre le 2^e et le 95^e percentile en longueur (430 à 466 paires de bases) ont été conservées dans le jeu de données, alors que les séquences incluant des homopolymères de 9 nucléotides ou plus ont été éliminées. L'alignement des séquences a été réalisé à l'aide du logiciel SILVA et du script *align_seqs.py* (Caporaso *et al.*, 2010). Les séquences chimériques ont été éliminées à l'aide du script *chimera.slayer* dans mothur version 1.48.0. Les séquences ont ensuite été classifiées dans le Ribosomal Database Project (RDP, mothur version 1.48.0, trainset 14). Celles correspondant aux chloroplastes, aux mitochondries, aux séquences inconnues, aux gènes archéens et aux gènes eucaryotes ont été retirées du jeu de données à l'aide de la commande *remove.lineage* (mothur version 1.48.0). Les séquences trouvées dans les blancs de terrain ont également été supprimées du jeu de données. Les séquences restantes ont été assignées en unités taxonomiques opérationnelles (UTO) en utilisant les paramètres

par défaut afin de déterminer la qualité du regroupement (*cluster.split*, Opticlust, mothur version 1.48.0). Les séquences uniques ont été retirées. Finalement, les échantillons ont été raréfiés à 6 989 lectures, suivant le traçage des courbes de raréfaction.

Les indices S_{obs} , InvSimpson, CHAO1 et Shannon ont été utilisés pour décrire la diversité alpha du jeu de données. Des tests de Mann-Whitney ont été réalisés pour évaluer les différences entre les types de poulaillers pour chaque type d'échantillon (air, fientes/litières) et pour révéler les différences entre les types d'échantillons pour chaque type de poulailler. Des tests multiples de T et une AMOVA (*Analysis of molecular variance*) ont été réalisés pour évaluer la variance entre les types d'échantillons. Des tests HOMOVA (*Homogeneity of variance analysis*) sur les indices de dissimilarité de Bray-Curtis ont été utilisés sur les UTO les plus abondantes dans le jeu de données afin de comparer la diversité entre les types d'échantillon. Le seuil de significativité a des valeurs P a été fixé à 0,05.

3.2 Objectif 1b : Suivi longitudinal des concentrations de bactéries et d'archées totales, et analyse de la diversité bactérienne dans les logements alternatifs pour poules pondeuses

3.2.1 Campagnes d'échantillonnage

Douze volières et douze colonies enrichies (utilisant des cages enrichies), logeant chacune entre 10 000 et 50 000 poules pondeuses, ont été visitées entre le mois d'octobre 2017 et le mois d'octobre 2021. Les poulaillers étaient situés à moins de 300 km de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal (Saint-Hyacinthe, Québec) et logeaient des poules de variété Lohmann LSL-Lite, à l'exception d'une volière et d'une colonie enrichie logeant des poules Dekalb blanches. Les campagnes d'échantillonnage se sont déroulées mensuellement pendant les cinq premiers mois de production (19, 23, 27, 31 et 35 semaines de vie pour les poules, ou l'âge le plus proche), et à 45, 55 et 65 semaines de vie des troupeaux.

Lors de chaque campagne d'échantillonnage, trois échantillons d'air ont été prélevés simultanément sur filtres de polycarbonate (0,8 µm de porosité, SKC Inc, Eighty four, Pennsylvanie, É-U) contenus dans des cassettes de 37 mm de diamètre et à un débit de 2 L/min (Gilian GilAir-5 Air Sampling Pumps, Sensidyne, St-Petersburg, Floride, É-U). Les pompes ont été calibrées à l'aide du TSU 4043 Mass Flow Meter (TSI, Shoreview, Minnesota). Un blanc de terrain a été réalisé lors de chaque visite. Les filtres ont été conservés à une température de 4 °C jusqu'à leur traitement. L'élution des échantillons de bioaérosols ainsi que les extractions d'ADN ont été réalisées pendant les mois de juin à août 2020, de juin à août 2021 et pendant le mois de novembre 2021.

3.2.2 Éluion des bioaérosols et extraction d'ADN

Les cassettes ont d'abord été conditionnées à température pièce avant de procéder à l'éluion des bioaérosols à l'aide de 4 mL de tampon phosphate salin (PBS 1X, Lonza, Walkersville, Maryland, É.-U.) contenant 0,05 % Tween20 (Sigma-Aldrich, St-Louis, Missouri, É.-U.). Les cassettes étaient ensuite agitées à l'aide de l'agitateur orbital VWR Digital 3D Rotator Wave (VWR, Radnor, Pennsylvanie, É-U) pendant 30 minutes à température pièce. Les bioaérosols élués de chaque cassette ont été récoltés et des aliquotes de 1 mL ont été centrifugées pendant 10 minutes à 21 000 g. Les culots ont été préservés à une température de -20 °C jusqu'à l'extraction d'ADN à l'aide d'une trousse DNeasy® PowerLyser® PowerSoil® Kit de QIAGEN (Germantown, Maryland, É-U). Les extraits d'ADN ont été conservés à une température de -20 °C jusqu'à leur analyse subséquente.

3.2.3 Analyses par qPCR

La quantification des bactéries et des archées totales a été réalisée par PCR quantitative à l'aide des amorces et sondes incluses dans le tableau 3. Le mélange réactionnel pour la quantification de bactéries totales incluait 2 µL d'extrait d'ADN, 10 µL d'iQ Supermix 2X (Bio-Rad Laboratories, Hercules, Californie, É-U), 0,1 µL d'amorces sens et anti-sens (concentration finale de 250 nM chacune), 0,1 µL de sonde (concentration finale de 50 nM) et 7,8 µL d'eau stérile sans nucléase, pour un volume total de 20 µL. Le thermoprotocole consistait en un cycle de 94 °C pendant 3 minutes, 40 cycles de 95 °C pendant 20 s, et 62 °C pendant 1 minute. Le mélange réactionnel requis pour la quantification des archées totales était composé de : 2 µL d'extrait d'ADN, 10 µL iQ SYBR Green Supermix 2X, 0,1 µL d'amorces sens et antisens (concentration finale de 250 nM chacune) et de 7,9 µL d'eau stérile sans nucléase, pour un volume total de 20 µL. Le thermoprotocole consistait en un cycle de 95 °C pendant 3 minutes, suivi de 35 cycles de 95 °C pendant 10 s, 55 °C pendant 20 s, et 72 °C pendant 25 s.

Tableau 3. Amorces et sondes utilisées pour la quantification des bactéries et des archées totales

Microorganisme cible	Gène cible	Séquence (5'–3')	Référence
Bactéries totales	Régions V4-V5 du gène de l'ARNr 16s	F: GGTAGTCYAYGCMSTAAACG R: GACARCCATGCASCACCTG P: /56- FAM/TKCGCGTTG/ZEN/CDTCGAA TTAAWCCAC/ 3IABkFQ/	(Bach <i>et al.</i> , 2002)
Archées totales	Région V4 du gène de l'ARNr 16s	F: CCGACGGTGAGRGRYGAA R: YCCGGCGTTGAMTCCAATT	(Baker <i>et al.</i> , 2003)

Les thermoprotocoles ont été réalisés à l'aide du thermocycleur CFX384 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Hercules, Californie, É.-U.). Les courbes d'étalonnage ont été réalisées à partir de plasmides synthétiques contenant la séquence

cible. Les plasmides, les amorces et les sondes ont été achetés chez Integrated DNA Technologies (IDT, Coralville, Iowa, É.-U.). Les données ont été exprimées en copies/m³ d'air.

3.2.4 Analyses statistiques des données qPCR

Les concentrations en bactéries totales et en archées totales ont été analysées à l'aide de R (v. 4.0.3) et du modèle généralisé linéaire mixte (GLMM) avec distribution gamma du *package lme4*. L'identité des poulaillers a été définie comme un facteur aléatoire, alors que les éléments suivants ont été définis comme variable explicative : le type de poulailler (colonie enrichie ou volière), la saison (chaude ou froide), les mois et l'âge du troupeau (en semaines de vie). Les normales de saisons relevées de 1981 à 2010 aux stations météo Montréal/St-Hubert A, Montréal/Mirabel INT'L A, St-Hyacinthe 2, St-Wenceslas et Ste-Anne-du-Lac ont été utilisées pour définir la « saison froide » (mois d'octobre à avril), pendant laquelle les températures extérieures moyennes étaient sous 10 °C. La « saison chaude » inclut quant à elle les mois de mai à septembre, avec des températures extérieures moyennes supérieures à 10 °C. Le seuil alpha (α), soit le seuil de significativité, a été établi à 0,05.

3.2.5 Analyse de la diversité bactérienne par séquençage haut débit

Des triplicata équimolaires (30 µL par échantillon) de certains échantillons ont été sélectionnés pour l'analyse de la diversité bactérienne par séquençage haut débit : échantillons prélevés au début (troupeaux ayant 19 à 23 semaines de vie, ou l'âge le plus proche) et à la fin du cycle de production (troupeaux ayant 55 à 65 semaines de vie, ou l'âge le plus proche), ainsi que pendant les saisons froide et chaude en présence de troupeaux âgés entre 35 et 45 semaines de vie. Pour chaque poulailler, les blancs de terrain de ces périodes ont été mélangés de façon équimolaire avant de procéder au séquençage.

Le séquençage haut débit des amplicons du gène de l'ARNr 16S a été réalisé par la plateforme d'analyse génomique à l'Institut de biologie intégrative et des systèmes (IBIS, Université Laval, Québec, Canada) et incluait la préparation de la librairie, l'amplification en grappe (*cluster amplification*), le séquençage et l'analyse des données. L'amplification en grappe et le séquençage ont été réalisés sur une cellule micro fluidique à huit canaux.

3.2.6 Préparation de librairie et flux de travail bio-informatique

Les librairies ont été préparées à l'aide d'un protocole à deux étapes à double index conçu pour la plateforme MiSeq d'Illumina.

Le contrôle qualité des données démultiplexées a été réalisé à l'aide de FastQC (v.0.11.9) et Vsearch (v.2.21.1). Les lectures (*reads*) sens et antisens ont été fusionnées à l'aide de Vsearch en utilisant les paramètres par défaut et une superposition minimale de 10 paires

de bases. Les séquences d'amorces (17 nucléotides à l'extrémité 5' et 21 nucléotides à l'extrémité 3') ont été éliminées des contigs à l'aide de Cutadapt (v.3.5). Les séquences ont ensuite été filtrées de sorte à ne conserver que celles entre 390 pb et 470 pb. Les séquences ont été dérépliquées et rassemblées en unités taxonomiques opérationnelles (UTO) avec un seuil de similarité de 97 %. Les séquences uniques et les chimères ont été retirées du jeu de données par détection *de novo*.

Le logiciel mothur (version 1.47.0) (Schloss *et al.*, 2009) a été utilisé pour réaliser l'assignation taxonomique des UTO en utilisant le classificateur Bayésien sur la banque de données Silva (r. 138.1). La table des UTO a été produite pour le deuxième et le huitième rang taxonomique. Les UTO affiliés aux séquences inconnues, aux archées, aux séquences mitochondriales, aux séquences associées aux chloroplastes et aux séquences eucaryotes ont été éliminés du jeu de données.

Les UTO identifiés dans les blancs de terrain et les contrôles négatifs de séquençage ont été retirés de leurs échantillons correspondants (raréfiés à 2 041 séquences) selon leur nombre maximal d'apparitions dans les blancs de terrain et contrôles négatifs de séquençage. L'assignation taxonomique des UTO a été réalisée en utilisant l'ancienne désignation du phylum *Bacillota* (*Firmicutes*) (Oren et Garrity, 2021). Toutefois, le nouveau terme *Bacillota* a été utilisé pour désigner le phylum *Bacteroidetes*.

Les calculs d'indices, les analyses statistiques et les calculs d'ordination ont été réalisés dans l'environnement logiciel R (v.4.2.1) avec l'aide de la trousse de RStudio (v.2023.06.1.524) implémenté avec le *Vegan package* (Oksanen *et al.*, 2007). La richesse en espèces et l'indice de Shannon ont été utilisés pour décrire la diversité alpha des groupes d'échantillons. La comparaison des types de logements a été réalisée à l'aide du Test U de Mann-Whitney ($\alpha = 0,05$), alors que les comparaisons entre l'âge du troupeau (début vs fin de cycle de production) et les comparaisons entre les saisons (froide vs chaude) pour chaque type de poulailler ont été réalisées à l'aide du test de Wilcoxon. Les indices de dissimilarité de Bray-Curtis ont été calculés pour chaque groupe d'échantillons. Un positionnement multidimensionnel non métrique (NMDS) a été utilisé pour produire une ordination basée sur les indices de Bray-Curtis et une analyse non paramétrique multivariée de la variance (NPMANOVA) a été utilisée pour déterminer les différences significatives entre les regroupements. Enfin, l'analyse SIMPER (*Similarity percentage*) a été utilisée pour déterminer la contribution de chaque groupe à la dissimilarité entre les échantillons (Clarke, 1993).

3.3 Objectif 2 : Évaluation de la santé respiratoire de personnes travaillant dans l'industrie ovicole

3.3.1 Recrutement des participants et des participantes

Vingt-cinq personnes travaillant dans un des trois types de pondeurs à l'étude (conventionnels, enrichis et volières) ont été recrutées pour la réalisation de l'objectif 2. Seize personnes non exposées aux bioaérosols d'activités agricoles ont de plus été recrutées pour un jumelage avec les producteurs d'œufs en fonction du sexe, de l'âge (\pm 5 ans d'écart) et du statut tabagique. La réalisation de l'objectif 2 a été autorisée par le Comité d'éthique à la recherche de l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec – Université Laval (CÉR : 21989, 13 novembre 2020).

3.3.2 Évaluation de la santé respiratoire

Les participantes et participants à l'étude ont été rencontrés par une infirmière de recherche pour l'administration des tests et le prélèvement des échantillons de sang et de flore du nasopharynx. Un questionnaire santé concernant les emplois occupés par le passé, les antécédents médicaux et la présence de symptômes respiratoires en lien avec le travail (ex. : dyspnée, toux, expectorations, sifflements, rhinite) a été rempli avec l'aide de l'infirmière de recherche.

Les fonctions respiratoires ont été évaluées à l'aide d'un test de spirométrie (Graham *et al.*, 2019) à l'aide du spiromètre Spirobank G (MIR, Rome, Italie) (embout PDS 8505), pour l'obtention du volume d'air maximal expiré en une seconde (VEMS) et de la capacité vitale forcée (CVF) de chaque participant. Les critères suivants ont été établis afin d'établir la validité des tests : expiration d'une durée minimale de six secondes, obtention de trois tests valides (dont deux tests ayant moins de 5 % de variation entre leurs données), et la réalisation d'au plus huit tests par personnes (Pellegrino *et al.*, 2005). Des allergènes susceptibles d'être présents dans les poulaillers ont été sélectionnés pour réaliser les tests d'allergies cutanées (*skin prick test*) (Basomba *et al.*, 1985) : mélange de plumes (canard, oie, poulet), blé entier, maïs sucré, orge, *Horomonodendron cladosporoides*, moisissures du genre *Penicillium*, mélange de moisissures (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Horomonodendron*, *Penicillum*), et moisissures du genre *Aspergillus*. Des solutions de saline normale phénolée et d'histamine (1 mg/mL) ont été utilisées comme contrôle négatif et positif, respectivement. Les allergènes utilisés ont été fournis par Allergo Inc et les Laboratoires Omega Ltée.

Un prélèvement de sang a été fait sur les personnes travaillant en production d'œufs. Le sérum a été isolé des échantillons par centrifugation, à la suite de chaque prélèvement. La réalisation d'essais ELISA ciblant des antigènes d'*Aspergillus* sp., de *Penicillium* sp., et de *Saccharopolyspora rectivirgula* susceptibles d'être retrouvées dans les poulaillers (au niveau de la matière organique composant la litière) a été envisagée dans la proposition

de projet initiale afin de révéler la présence d'immunoglobulines G spécifiques aux antigènes, indiquant alors l'exposition des travailleurs et travailleuses à ces moisissures et à l'actinomycète.

Enfin, des échantillons de la flore du nasopharynx provenant de production d'œufs et de sujets contrôles ont été prélevés par écouvillonnage (Puritan® HydraFlock® Collection Devices, Puritan Diagnostics LLC, Guifort, Maine, É-U). À la suite de l'échantillonnage, les écouvillons ont été conservés à 4 °C jusqu'à l'extraction de leur contenu, soit dès que possible suivant leur prélèvement. Les écouvillons ont été individuellement agités dans 1 mL de solution de PBS 1X stérile contenant 0,05 % Tween® 20. Les échantillons en suspension ont ensuite été centrifugés pendant 10 minutes à 21 000 x g. Les surnageants ont été enlevés, puis les culots ont été mis à -20 °C jusqu'à l'extraction d'ADN à l'aide de la trousse DNeasy® PowerLyzer® PowerSoil® de QIAGEN (Germantown, Maryland, USA). Le séquençage haut débit des amplicons des gènes de l'ARN16S (régions V6-V8) et l'analyse de la diversité bactérienne de la flore du nasopharynx des participants ont été effectués suivant la méthode décrite dans l'objectif 1a.

3.3.3 Traitement des données des questionnaires santé

Les réponses des questionnaires ont été compilées à l'aide du logiciel Excel 2016 de la Suite Office de Windows 10 Professionnel. Le nombre de personnes de chaque sexe, l'âge moyen des personnes et le pourcentage de déclaration des antécédents, des symptômes et de positivité des tests d'allergies ont été compilés sous forme graphique à l'aide du logiciel GraphPad Prism 10.3.1. Les données sont présentées dans la section résultats pour les producteurs d'œufs (n = 25), et 16 d'entre eux pairés avec les sujets contrôles (n=16), selon le sexe, l'âge et le statut tabagique.

3.4 Objectif 3 : Effet des stratégies de mitigation des poussières et de l'ammoniac sur les bioaérosols

3.4.1 Volières expérimentales et suivi des conditions ambiantes

Douze volières expérimentales ont été aménagées au laboratoire sur le bilan agroenvironnemental des bâtiments d'élevage (BABE) (Létourneau *et al.*, 2009) de l'Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA) à Deschambault (Québec, Canada). Les douze chambres (volières) de dimensions identiques (1,2 m de largeur, 2,44 m de profondeur et 2,44 m de hauteur) étaient indépendamment ventilées et l'air extérieur entrant était conditionné pour atteindre 22 ± 1°C. Le débit de ventilation a été programmé pour atteindre 2 m³/min et mesuré en temps réel par un mesureur de pression pourvu d'un diaphragme à ouverture variable (IRIS damper, 204 mm de diamètre, modèle 200, précision ± 5 %, Continental Fan Manufacturing Inc., Buffalo, New York, É-U). La température ainsi que l'humidité relative

ont été mesurées par des sondes présentes aux sorties d'air de chaque chambre (Model CS500, Campbell Scientific Canada, Alberta, Canada).

Les chambres ont été équipées d'un plancher grillagé, d'un espace de litière, d'une mangeoire longitudinale, d'abreuvoirs à tétine, d'un perchoir et d'une boîte de ponte. Les dimensions et les caractéristiques des chambres respectaient les critères du *Code de pratiques pour le soin et la manipulation des poulettes et pondeuses* (Les Producteurs d'œufs du Canada et Conseil national pour le soin des animaux d'élevage, 2017) pour les élevages en volières. L'espace alloué pour la litière représentait 17 % ou 33 % de la superficie d'élevage, excluant l'espace de ponte, et comportait 900 g ou 1 800 g de sciure de bois, respectivement. La litière a été renouvelée entre les périodes de mesures.

Quatorze poules Lohmann White âgées de 19 semaines ont d'abord été assignées à chaque chambre expérimentale (14 × 12 chambres) puis une période d'adaptation de 2 semaines a été allouée afin d'acclimater les animaux. L'application de différentes stratégies de mitigation a débuté suivant la période d'adaptation. L'application des stratégies s'est faite dans des chambres logeant 12 poules lors de 2 campagnes (campagnes A et B). La manipulation et le soin des animaux ont été approuvés par le Comité de protection des animaux du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (Québec, Canada) (no. Autorisation 19AVCPA01).

3.4.2 Stratégies de mitigation à l'étude en volières expérimentales

Trois stratégies de mitigation des poussières et de l'ammoniac ont été étudiées en volières expérimentales, celles-ci étant assignées aléatoirement parmi les douze chambres expérimentales (tableau 4).

Tableau 4. Description et assignation des méthodes de mitigation étudiées en volières expérimentales

Méthode de mitigation	Abréviation	Description et assignation
Aucune (contrôle)	Ctrl	Espace de litière occupant 33 % de l'espace utilisable (Chambres 4,8 et 12)
Réduction de l'espace de litière	T17	Espace de litière occupant 17 % de l'espace utilisable (Chambres 1, 5 et 11)
Plancher chauffant sous la litière et aspersion d'émulsion d'huile sur la litière	PC+H	Espace de litière occupant 33 % de l'espace utilisable Plancher sous la litière maintenue à 27 °C Aspersion d'émulsion d'huile sur la litière 1,17 L/m ² /semaine (Chambres 2,6 et 10)
Ajout d'absorbant à la litière et aspersion d'émulsion d'huile sur la litière	ABS+H	Espace de litière occupant 33 % de l'espace utilisable Ajout de biochar absorbant (10% m/m, AirEXEnergy, BiocharFX, Laval, Québec, Canada) dans la litière Aspersion d'émulsion d'huile sur la litière 1,17 L/m ² /semaine (Chambres 3,7 et 9)

L'émulsion d'huile a été préparée par un mélange d'huile de canola et d'une solution d'acide organique (viscosité (cp) : 31 : densité 0,962 g/mL) et a été aspergée sur les espaces de litière deux fois par semaine pour obtenir un dosage de 1,17 L/m²/semaine.

L'objectif 3 s'est déroulé en volières expérimentales sur une période de 18 semaines incluant la période d'adaptation (12 au 25 février 2019) et les deux périodes d'application des stratégies de mitigation (campagne A du 25 février au 23 avril 2019, et campagne B du 23 avril au 18 juin 2019). Les poules ont été retirées des chambres entre les deux campagnes pour permettre la désinfection et le nettoyage des chambres.

Les mesures des poussières et les échantillonnages des bioaérosols ont été réalisées au terme de la période d'adaptation et des campagnes A et B, soit : le 25 février 2019 (fin de la période d'adaptation), le 23 avril 2019 (campagne A) et le 18 juin 2019 (campagne B). Les poussières et les bioaérosols ont été évalués une fois pendant 10 minutes dans chaque chambre expérimentale. Les concentrations (mg/m³) de poussières totales, de PM10 et de PM2,5 ont été mesurées en temps réel par un compteur optique de particules, un DustTrak™ DRX Aerosol Monitor (Modèle 8534, 3 L/min, TSI Incorporated, Shoreview, Minnesota, É.-U.). Une purge (remise à zéro) de l'appareil a été réalisée entre chaque échantillonnage (traitement de l'air entrant dans l'appareil par un filtre HEPA pendant une minute). Les données ont été extraites à l'aide du logiciel TrakPro (Version 4.6.1.0, TSI TSI incorporated, Shoreview, Minnesota, É.-U.), puis les concentrations ont été transformées en émissions (milligrammes/jour/poule). Les bioaérosols ont été échantillonnés à l'aide d'un Coriolis Micro (200 L/min, Bertin Corp., Rockville, Maryland, É.-U.), en vue de la culture des moisissures et des bactéries, et d'un SASS®3100 Dry Air Sampler (300 L/min, Research International, Monroe, Washington, É.-U.), pour la quantification des endotoxines et l'analyse par qPCR du contenu des bioaérosols. Le compteur optique de particules et les deux échantillonneurs d'air à haut débit ont été utilisés en simultanée et hors de portée des animaux.

Les méthodes de traitement et d'analyse des échantillons pour la culture des moisissures et de bactéries et l'analyse par qPCR sont identiques à celles décrites dans les sections 3.1.6, 3.1.7 et 3.1.8. La quantification des endotoxines a été réalisée sur des aliquotes (500 µL) des échantillons liquides élués à partir des filtres électrets du SASS®3100. La qualification s'est faite à l'aide de la trousse Kinetic-QCL™ Chromogenic Limulus Amoebocyte Lysate Assay (Lonza, Walkersville, Maryland, É.-U.) et d'une courbe étalon construite à partir d'endotoxines de *E. coli* O55: B5, tel que recommandé par le fabricant.

3.4.3 Analyses statistiques pour la détermination de l'effet des stratégies de mitigation sur les émissions de poussières et de bioaérosols de volières expérimentales

Les émissions de poussières et de bioaérosols de chaque volière expérimentale ont été calculées à partir des concentrations et du débit de ventilation correspondant moyen pendant l'échantillonnage de 10 minutes (Bottcher *et al.*, 2004), avec l'aide de la formule suivante basée sur le calcul des émissions de gaz en élevage animal (Hassouna et Eglin, 2016) :

$$\text{Émission (x/jour/poule)} = \frac{(\text{unité})}{\text{m}^3} \times \text{débit de ventilation} \left(\frac{\text{m}^3}{\text{min}} \right) \times \frac{1\,440 \text{ min}}{\text{jour}} \times \frac{1}{\text{nbr poule}}$$

L'effet de la stratégie de mitigation sur les émissions de poussières et de bioaérosols a été évalué à l'aide de la procédure MIXED dans le logiciel SAS (version 9.5, SAS Institute Inc, Cary, Caroline du Nord, É-U) ($\alpha = 0,05$), appliquée sur les données transformées en log10.

3.4.4 Application des stratégies de mitigation les plus efficaces en volière commerciale

L'implémentation de l'aspersion d'une émulsion d'huile sur la surface de litière pour réduire les concentrations de poussières, de gaz et de certains bioaérosols a été explorée dans une volière commerciale pour poules pondeuses, au début du cycle d'élevage. L'aspersion d'une émulsion d'huile s'est révélée efficace à l'échelle expérimentale pour, entre autres, réduire les poussières dans l'air.

L'application s'est faite dans un pondoir de la région du Centre-du-Québec. Le bâtiment a été construit en 2012 et a un espace intérieur de 7,62 m (25 pieds) de haut, de 13,716 m (45 pieds) de large et de 86,868 m (285 pieds) de longueur. Le pondoir est composé de deux étages identiques et ventilés indépendamment, chacun comprenant quatre allées divisées en trois sections et logeant environ 20 000 poules chacun. L'élimination des fientes et la distribution de la nourriture (grains concassés) sur les perchoirs sont automatisées, avec l'élimination des fientes se déroulant tous les deux jours. Le plancher est recouvert de sciure de bois au début du cycle d'élevage (aucun ajout en cours d'élevage).

La présence de deux étages identiques a permis l'application de la stratégie de mitigation sur un étage et l'utilisation de l'autre étage comme contrôle (aucune application). L'espace de litière sous les perchoirs n'était pas accessible par les animaux ni pour l'application de l'émulsion d'huile. L'aspersion a ainsi été effectuée uniquement sur la litière des allées. Le tableau 5 présente, entre autres, les dates des mesures et prises d'échantillons, ainsi que celles des applications de l'émulsion d'huile.

Tableau 5. Informations sur les applications de l'émulsion d'huile et sur la prise des mesures de poussières et des échantillons de bioaérosols au début du cycle d'élevage

Date d'application de l'émulsion d'huile	Dosage par aspersion (L/m ²)	Date de l'échantillonnage	Âge du troupeau (semaines)
N/A	N/A	21 juin 2022	21
27 et 29 juin 2022	0,5	29 juin 2022	22
1 ^{er} et 4 juillet 2022	0,5	6 juillet 2022	23
11 juillet 2022	0,25	13 juillet 2022	24

3.4.5 Mesures des poussières et échantillonnage des bioaérosols en volière commerciale

Lors de chaque visite d'échantillonnage (4 visites), les poussières et les bioaérosols ont été évalués à trois reprises sur chaque étage du poulailler. L'ordre de mesure des poussières ou d'échantillonnage des bioaérosols des étages a été déterminé aléatoirement lors de chaque visite. Un compteur optique de particules, un DustTrak™ DRX Aerosol Monitor Modèle 8534 (3 L/min, 10 minutes, TSI inc. Shoreview, Minnesota, É-U) a été utilisé pour mesurer les concentrations de poussières totales, de PM10 et de PM2,5. Un échantillonneur d'air à haut débit SASS®3100 Dry Air Sampler (300 L/min, 10 min, Research International, Monroe, Washington, É-U) a permis la collecte des bioaérosols à l'aide de filtres électrostatiques. Les échantillonneurs ont été placés sur une table à environ 1,2 m de hauteur et à l'écart des entrées et des sorties d'air. Les sites de mesure et d'échantillonnage ont été les mêmes pour les quatre visites d'échantillonnage.

Les méthodes de traitement et d'analyse des échantillons ont été les mêmes que celles décrites dans les sections 3.1.3 et 3.3.3. Toutefois, seules les bactéries totales et les moisissures *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. et *Paecilomyces variottii* ont été quantifiées par PCR. La quantification des endotoxines a été réalisée à partir de l'éluat des filtres SASS®3100 et avec l'aide de la trousse Kinetic-QCL™ Chromogenic Limulus Amoebocyte Lysate Assay (Lonza, Walkersville, Maryland, É-U) et d'une courbe standard construite à partir d'endotoxines de *E. coli* O55:B5, tel que recommandé par le fabricant.

3.4.6 Analyses statistiques pour la détermination de l'effet de la stratégie de mitigation sur les concentrations de poussières et de bioaérosols d'une volière commerciale

Les concentrations de poussières, de bactéries et de moisissures (PenAsp) ont été transformées en log 10 en vue de leur analyse. Des analyses de la variance des deux facteurs ont été réalisées pour déterminer l'effet de l'application d'une émulsion d'huile sur les poussières et les bioaérosols. Des comparaisons multiples de Tukey ont été utilisées pour l'analyse des données de poussières, alors que des comparaisons multiples de Bonferroni ont été utilisées pour l'analyse des données de bactéries totales, de moisissures (PenAsp) et des endotoxines totales, à l'aide du logiciel GraphPad Prism (version 10.2.3, GraphPad Software, Boston, Maryland, É-U). Le seuil de significativité de la valeur α a été fixée à 0,05.

4. RÉSULTATS

4.1 Objectif 1a : Évaluation de la qualité de l'air et des bioaérosols en poulaillers conventionnels et alternatifs

Les poulaillers ont été caractérisés lors de chaque visite avec l'aide du gérant ou du propriétaire du poulailler (tableau 6).

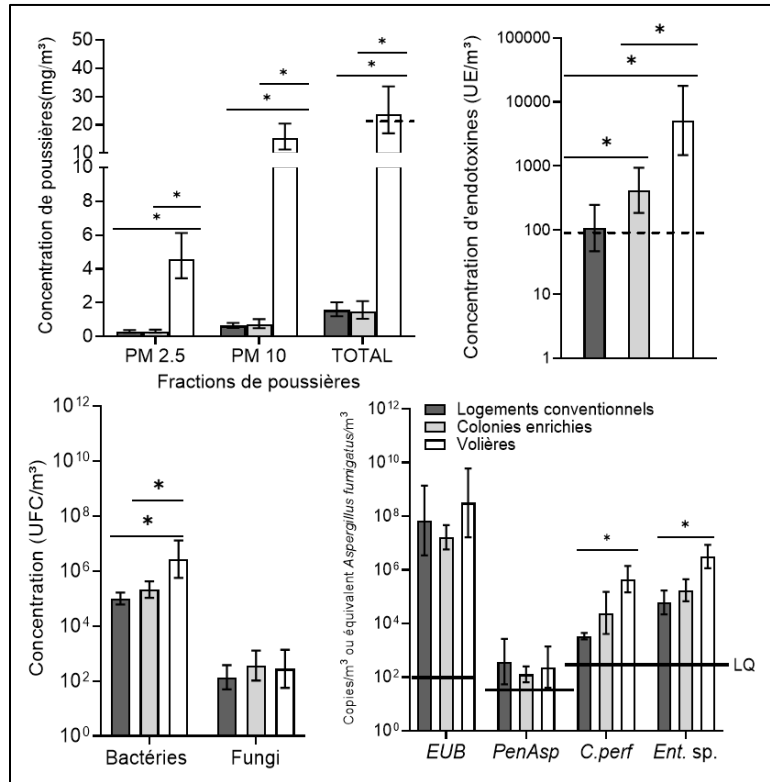
Tableau 6. Caractéristiques des poulaillers à l'étude dans le cadre de l'objectif 1a - Minimum-maximum (médiane)

	Logements conventionnels	Colonies enrichies	Volières
Nombre de bâtiments	6	6	6
Année de construction	1996 – 2016 (2003)	1977 – 2020 (2016)	2014 – 2017 (2016)
Année de rénovation	2001 – 2016 (2005)	2008 – 2020 (2016)	2014 – 2017 (2016)
Volume (ft³)	50310 – 140400 (96775)	61875 – 441000 (146168)	96876 – 268538 (158904)
Volume (m³)	1425 – 3976 (2741)	1752 – 12488 (4139)	2743 – 7604 (4500)
Nombre de poules	16 510 – 44 028 (25 025)	13 919 – 92 000 (18 499)	13 694 – 22 978 (18 750)
Âge des poules (semaine)	46 – 68 (60,5)	50,0 – 60,0 (56,5)	50,0 – 69,0 (57,5)
Taux de ponte (%)	92 – 97 (93,2)	92,5 – 96,0 (94,6)	89,0 – 97,5 (93,7)
Taux de mortalité (%)	0,06 – 2,05 (1,52)	1,00 – 3,20 (1,85)	0,67 – 4,00 (2,68)
Température intérieure (°C)	17,1 – 23,1 (21,4)	20,1 – 24,0 (22,6)	18,5 – 22,2 (21,4)
Température extérieure (°C)	-14,4 – 7,70 (-6,60)	-12,0 – 4,47 (-0,550)	-6,24 – 0,800 (-2,70)
Humidité relative intérieure (%)	49,1 – 61,6 (57,2)	54,1 – 63,6 (54,9)	51,7 – 67,5 (57,3)
Humidité relative extérieure (%)	32 – 58,0 (49,0)	44,0 – 72,0 (52,0)	34,0 – 52,0 (45,0)
Taux de ventilation (m³*h⁻¹*poule⁻¹)	0,230 – 1,04 (0,660)	0,110 – 0,760 (0,595)	0,160 – 1,08 (0,840)
Concentration d'ammoniac (ppm)	3,92 – 10,5 (6,55)	1,94 – 13,8 (9,70)	2,71 – 49,0 (13,7)

4.1.1 Évaluer la qualité de l'air (poussières totales, PM10, PM2,5, endotoxines totales, bactéries totales, bactéries et moisissures cultivables) et vérifier la présence dans l'air de bactéries d'origine fécale

La figure 2 présente les concentrations de différentes fractions de poussières (totales, PM10, PM2,5), d'endotoxines totales, de bactéries et de moisissures cultivables, de bactéries totales (qPCR EUB), des moisissures *Penicillium-Aspergillus* (qPCR *PenAsp*) et de bactéries d'origine fécale (qPCR).

Figure 2. Concentrations de poussières et de bioaérosols en logements conventionnels, en colonies enrichies et en volières (moyenne géométrique des moyennes géométriques \pm écart-type géométrique) (Procédure mixed, * = $p < 0,05$, LQ= limite de quantification)



Les concentrations de poussières totales, de PM10 et de PM2,5 étaient plus élevées dans les volières que dans les colonies enrichies et les logements conventionnels ($p < 0,05$). Aucune différence significative n'a été observée entre les logements conventionnels et les colonies, et ce, pour toutes les fractions de poussières à l'étude ($p > 0,05$). Les concentrations ambiantes d'endotoxines totales étaient significativement différentes entre les trois types de poulaillers ($p < 0,05$), avec une moyenne géométrique des concentrations de 108 unités d'endotoxines par mètre cube d'air (UE/m³) dans les logements conventionnels, de 418 UE/m³ dans les colonies enrichies, et de 5 130 UE/m³ dans les volières. Les concentrations de bactéries cultivables étaient significativement plus élevées ($p < 0,05$) dans les volières ($2,66 \times 10^6$ UFC/m³) que dans les logements conventionnels ($9,92 \times 10^4$ UFC/m³) et que dans les colonies enrichies ($2,11 \times 10^5$ UFC/m³). Aucune différence significative n'a été observée entre les logements conventionnels et les colonies enrichies ($p > 0,05$). Le type de poulailler n'a pas eu d'effet sur les concentrations de moisissures cultivables (environ 10^2 UFC/m³). Les genres de moisissures les plus fréquemment identifiés en culture ont été : *Cladosporium* sp.,

Aspergillus sp., *Scopulariopsis* sp., et *Penicillium* sp.. D'autres moisissures ont été plus rarement rencontrées : *Nectria* sp., *Wallemia* sp., *Ustilago* sp., et *Mucor* sp.

Les analyses qPCR ont été réalisées pour détecter et quantifier les bactéries totales (EUB), les moisissures *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., et *Paecilomyces variottii*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus* sp. et *Salmonella* sp. Toutefois, les bactéries : *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* et *Salmonella* sp. n'ont pas été suffisamment détectées dans les échantillons pour réaliser des analyses statistiques. *Campylobacter coli* a été détectée ($> 2,09 \times 10^4$ copies/m³) dans quatre logements conventionnels, une colonie enrichie et quatre volières. *Campylobacter jejuni* a été détectée ($> 3,0.6 \times 10^4$ copies/m³) dans cinq logements conventionnels, dans deux colonies enrichies et dans toutes les volières étudiées. Les gènes spécifiques pour *Salmonella* sp. (*InvA* et *ttrRSBCA*) ($> 2,28 \times 10^3$ copies/m³) ont été détectés dans une seule et même volière.

L'effet du type de logement sur les bactéries totales, sur les moisissures *PenAsp* et sur les bactéries d'origines fécales a été variable d'une cible à l'autre. Aucune différence significative ($p > 0,05$) entre les types de poulaillers n'a été observée pour les concentrations de bactéries totales et les concentrations de moisissures *Penicillium-Aspergillus* (qPCR *PenAsp*). Toutefois, les concentrations de *Clostridium perfringens* et d'*Enterococcus* sp. ont été significativement plus élevées dans les volières, comparé aux logements conventionnels.

4.1.2 Caractériser et comparer la diversité des bactéries de l'air et de la litière des poulaillers à l'aide du séquençage haut débit

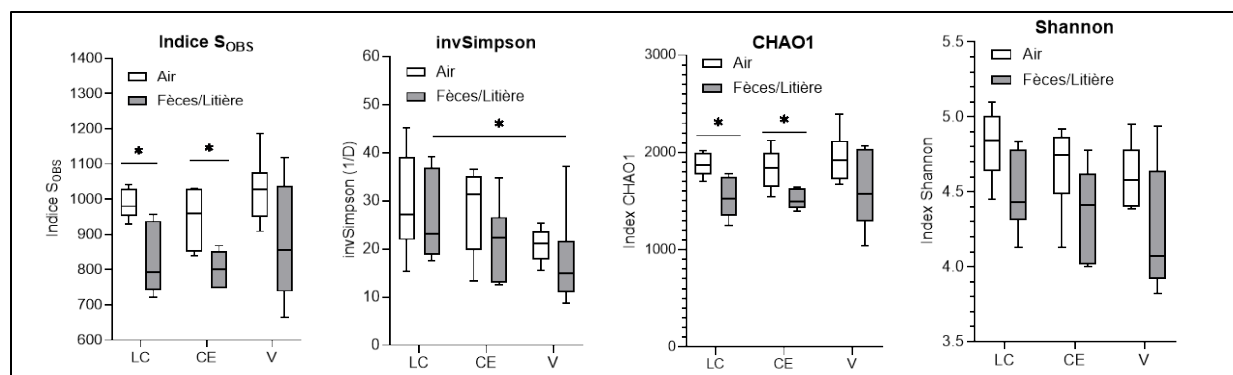
La diversité des populations de bactéries de 36 échantillons d'air et de fientes (ou de litière) et de 36 blancs de terrain a été analysée par séquençage haut débit. Le jeu de données a été raréfié à 6 989 lectures de séquences par échantillon. Entre 904 et 1835 attributions taxonomiques (moyenne : 1 200; écart-type 166) pour un total de 43 202 attributions taxonomiques ont été possibles pour l'ensemble des échantillons. La couverture du séquençage a été supérieure à 90 % pour tous les échantillons (tableau 7). Au niveau de la couverture, aucune différence significative n'a été trouvée entre les types de logements pour les deux types d'échantillons (air et fientes/litière) ($p > 0,05$). Toutefois, des différences de couverture entre les échantillons d'air et de fientes ont été relevées dans les échantillons provenant de logements conventionnels et de colonies enrichies ($p < 0,05$).

Tableau 7. Couverture (%) des échantillons d'air et de fientes/litière provenant des logements conventionnels, des colonies enrichies ou des volières (moyenne \pm SD, min-max) (*= $p < 0.05$, Mann-Whitney) (n=36, 12 par type de logement)

	Air	Fèces ou litière	Valeur P Air vs fèces/litière
Logements conventionnels	92,25 \pm 0,35 (91,69 -92,79)	93,59 \pm 1,09 (92,32–94,95)	P = 0,02 *
Colonies enrichies	92,36 \pm 0,80 (91,36-93,40)	93,65 \pm 0,40 (93,12-94,09)	P= 0,01 *
Volières	91,76 \pm 0,90 (90,21-92,76)	93,00 \pm 1,58 (90,90-95,29)	P = 0,18

Les indices S_{obs} (richesse spécifique : nombre d'UTO dans un échantillon), Simpson inverse, CHAO1 et Shannon ont été utilisés pour décrire la diversité de chaque groupe d'échantillon (diversité alpha, figure 3). L'indice S_{obs} et l'indice CHAO1 des échantillons d'air en logements conventionnels et des colonies enrichies étaient plus élevés que ceux de leurs échantillons de fientes respectifs, alors qu'aucune différence n'a été observée entre les échantillons d'air et les échantillons de litières des volières. Aucune différence significative entre les échantillons d'air et de fientes correspondants n'a été observée pour les indices invSimpson et Shannon, et ce, pour les trois types de logements. Toutefois, l'indice invSimpson était plus élevé dans les échantillons de fèces provenant des logements conventionnels, comparé aux échantillons de litières des volières. Aucun effet significatif du type de logement n'a été observé pour les quatre indices et pour les deux types d'échantillons.

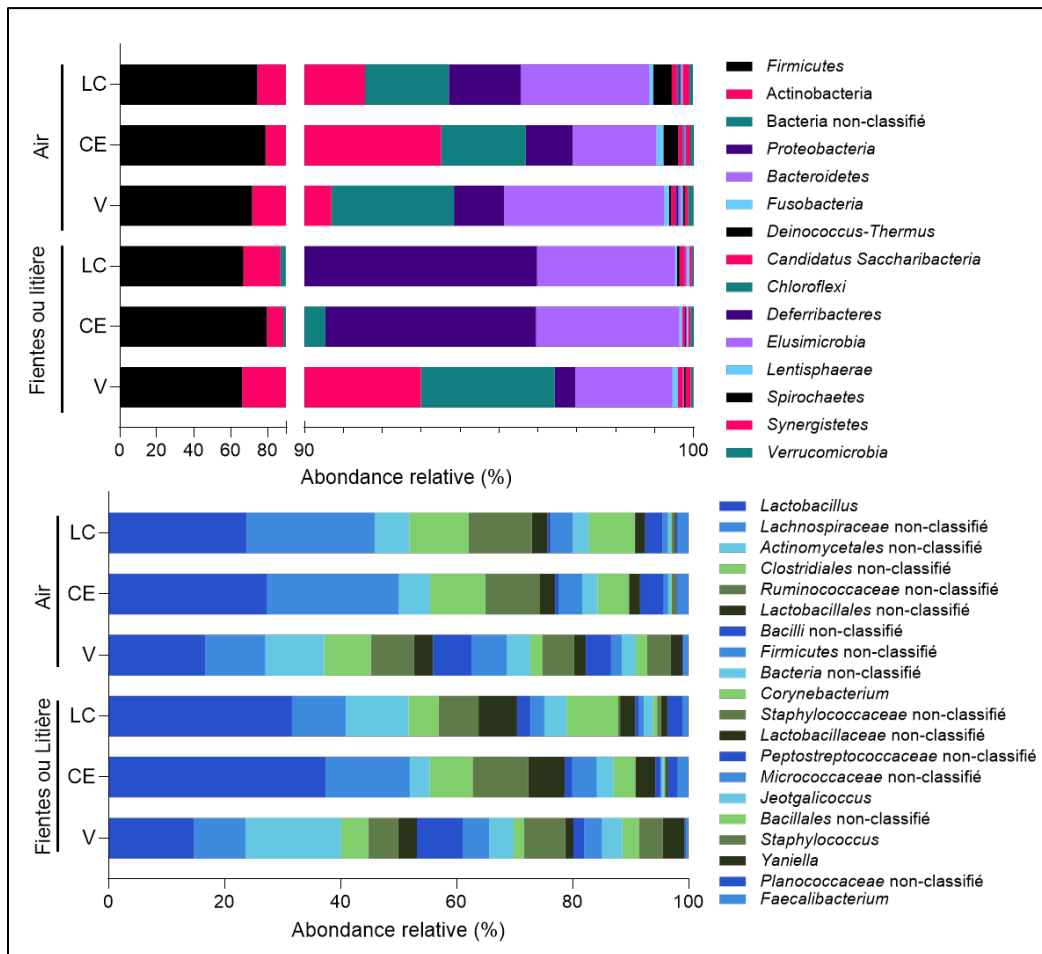
Figure 3. Indices de diversité alpha des échantillons d'air et de fientes/litière provenant de logements conventionnels (LC), de colonies enrichies (CE) et de volières (V) (moyenne, min-max) (Mann-Whitney, *= $p < 0,05$)



La figure 4 présente l'abondance relative 15 phyla et les 20 genres bactériens les plus abondants du jeu de données. Les *Firmicutes* ont été le phylum le plus abondant, avec une abondance relative moyenne entre 66,22 % et 79,51 % parmi les 15 phyla les plus abondants. Le second phylum le plus abondant a été *Actinobacteria*, représentant entre

8,86 % et 26,77 % des phyla. Les autres phyla représentaient moins de 10 % de l'abondance relative. Le genre *Lactobacillus* était le genre le plus abondant (de 14,73 % à 37,39 % d'abondance relative) alors que *Lachnospiraceae* (de 8,92 % à 16,43 % d'abondance relative) et *Actinomycetales* non classifié (3,43 % à 16,43 % d'abondance relative) ont été le second et le troisième genre les plus abondants, respectivement.

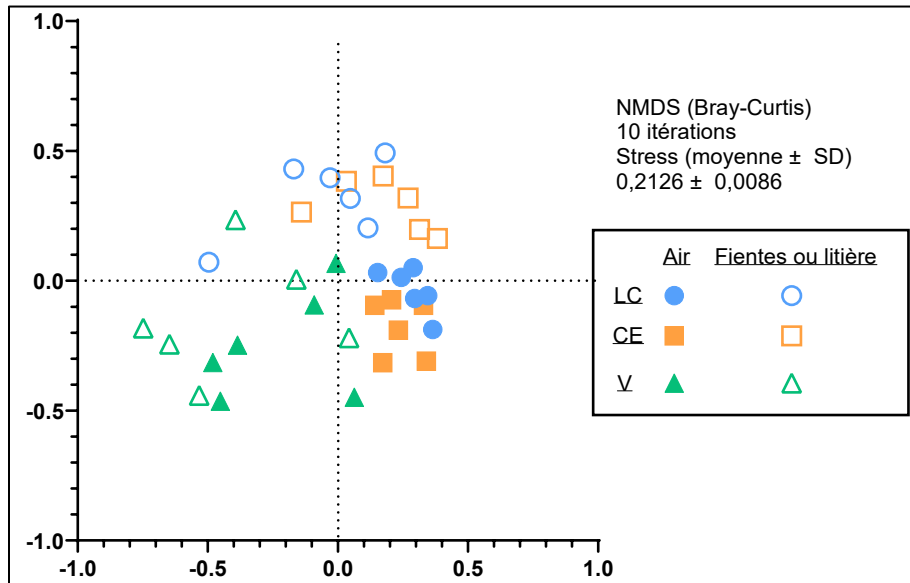
Figure 4. Abondance relative des 15 phyla et des 20 genres bactériens les plus abondants dans les échantillons d'air et de fientes/litière provenant des logements conventionnels (LC), des colonies enrichies (CE) et des volières



La figure 5 illustre les types d'échantillons à l'aide d'un positionnement multidimensionnel (NMDS) utilisant les indices de dissimilarité de Bray-Curtis. L'analyse de l'homogénéité de la variance (HOMOVA) a révélé des différences significatives entre les échantillons d'air provenant des volières et ceux provenant des logements conventionnels ($p < 0,001$) et des colonies enrichies ($p = 0,01$). Des différences significatives entre les échantillons d'air et les échantillons de fientes ont été trouvées pour ceux provenant des logements conventionnels ($p = 0,003$) et des colonies enrichies ($p = 0,035$). Toutefois, aucune différence significative n'a été observée entre les échantillons d'air des volières et leurs

échantillons de litière respectifs ($p = 0,245$), ni entre les échantillons de fientes/litières des différents logements (LC vs CE : $p = 0,933$, LC vs V : $p = 0,057$, CE vs V : $p = 0,096$).

Figure 5. Positionnement multidimensionnel non métrique (NMDS) des échantillons d'air et des échantillons de fèces/litière provenant de logements conventionnels (LC), de colonies enrichies (CE) et de volières (V) (Bray-Curtis, 50 UTO les plus abondants)

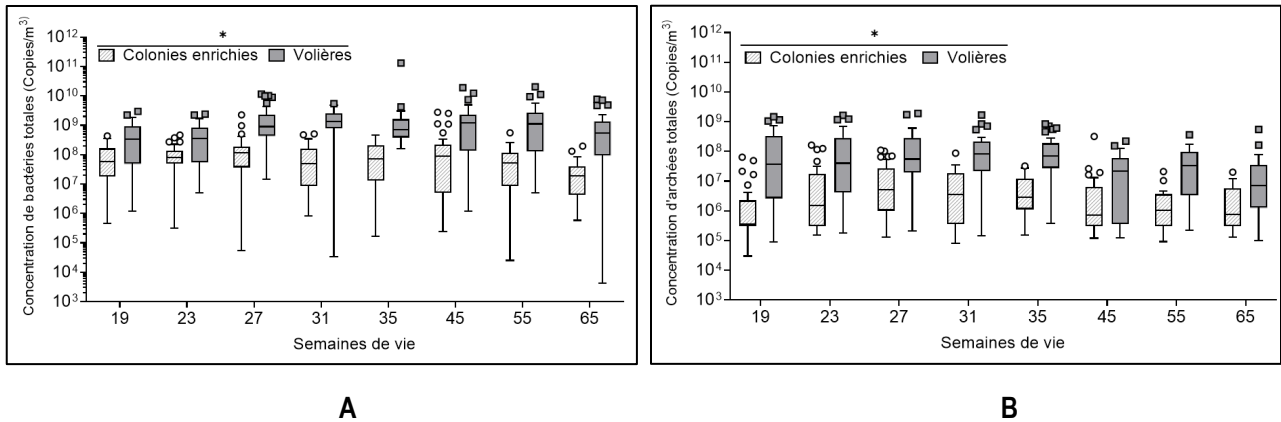


4.2 Objectif 1b : Suivi longitudinal des concentrations de bactéries totales et d'archées totales, et analyse de la diversité bactérienne en logements alternatifs pour poules pondeuses

4.2.1 Concentrations de bactéries totales et d'archées totales dans l'air des colonies enrichies et des volières

Les concentrations de bactéries totales et les concentrations d'archées totales ont été évaluées lors de chaque semaine de vie des troupeaux, dans l'air des deux types de poulaillers (colonies enrichies et volières). De plus hautes concentrations de bactéries totales et d'archées totales ont été trouvées dans les bioaérosols des volières, comparées aux colonies enrichies (figure 6, GLMM, $\alpha = 0,05$).

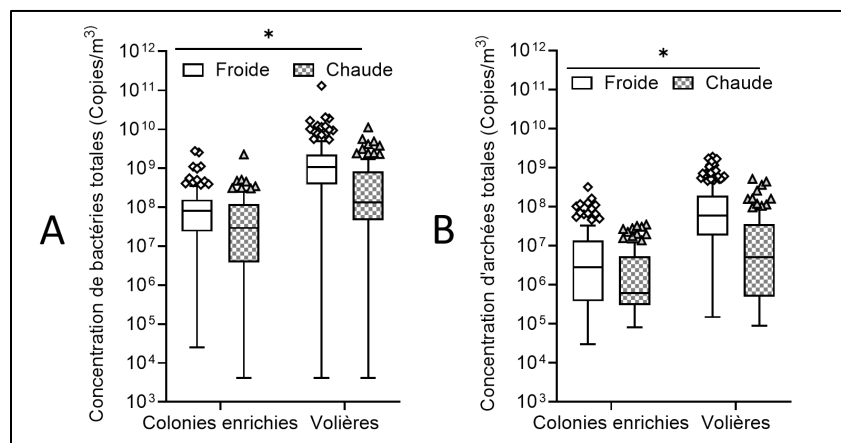
Figure 6. Concentrations de bactéries totales (A) et d'archées totales (B) dans les bioaérosols de colonies enrichies et de volières pendant un cycle de production, selon la semaine de vie des troupeaux (médiane, Tukey, GLMM, * = p < 0,05)



Des concentrations plus élevées en bactéries et archées totales ont également été retrouvées pendant la saison froide (mois d'octobre au mois de mai) plutôt que pendant la saison chaude (mois de mai au mois de septembre), et ce, pour les deux types de poulaillers (figure 7, GLMM, $\alpha = 0,05$). Cependant, l'âge des troupeaux et les mois de l'année n'ont pas eu d'effet significatif sur les concentrations de bactéries totales et d'archées totales dans les deux types de logements (GLMM, $\alpha = 0,05$).

Figure 7. Concentrations de bactéries totales (A) et d'archées totales (B) pendant la saison froide et pendant la saison chaude dans l'air de colonies enrichies et de volières pendant un cycle de production (Médiane, Tukey, GLMM, * = p < 0,05).

Saison froide : mois d'octobre au mois d'avril, inclusivement; Saison chaude : mois de mai au mois de septembre, inclusivement.



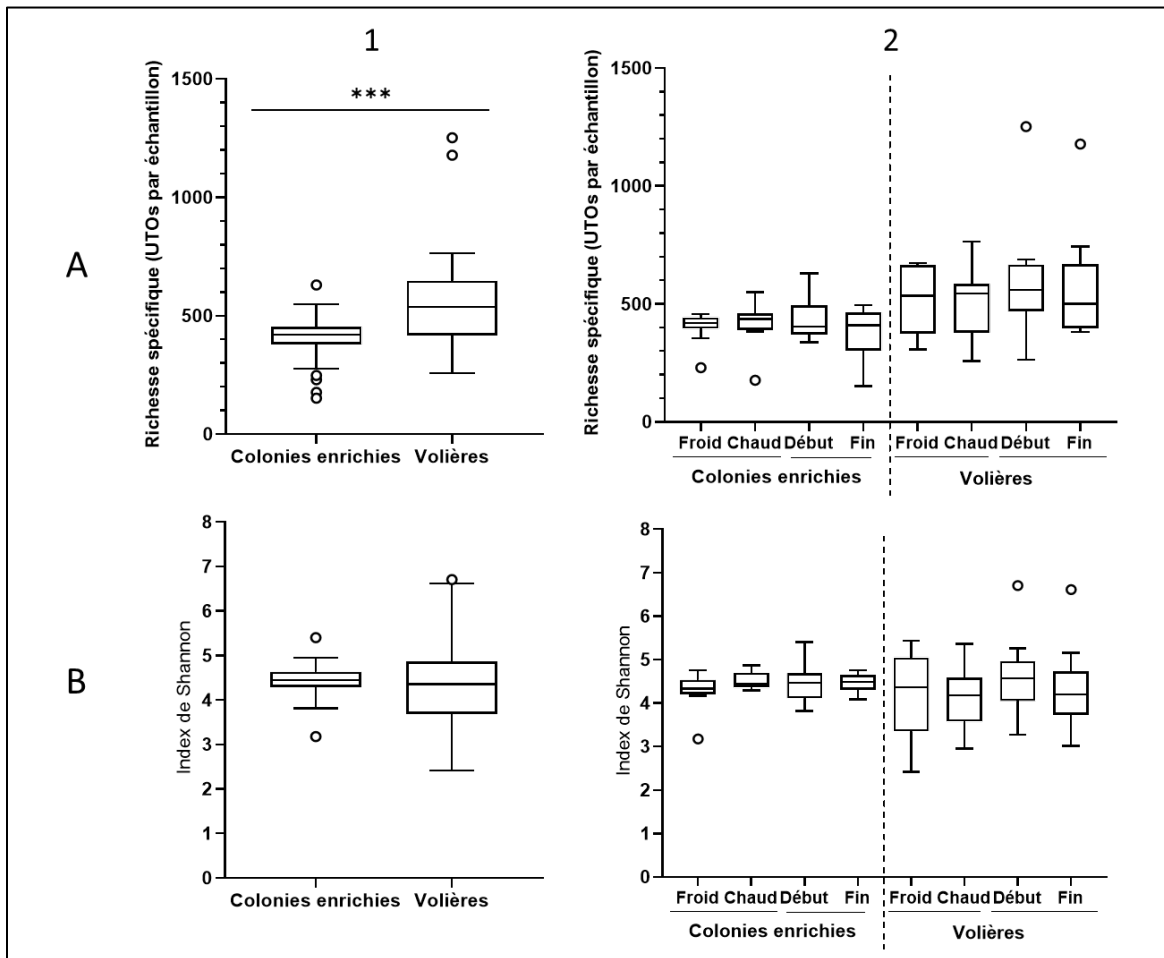
4.2.2 Analyse de la diversité bactérienne

Suivant le contrôle qualité des lectures (*reads*), le retrait des séquences non bactériennes et le retrait des séquences trouvées dans les blancs de terrain et les contrôles négatifs de séquençage, 18 702 *reads* ont été trouvés en moyenne dans chaque échantillon, avec un nombre minimal de 2 041 *reads* et un maximum de 45 671 *reads*. Les échantillons ont ainsi été raréfiés à 2 041 séquences par échantillon pour les analyses subséquentes. Deux échantillons (saison chaude de la colonie enrichie no 5 et saison froide de la colonie enrichie no 10) ont été retirés du jeu de données, puisque 40 % de leurs séquences ont été éliminées pendant l'étape de filtration selon la taille des séquences.

La figure 8 montre la richesse spécifique (nombre d'UTO par échantillon) et les indices de Shannon pour les deux types de poulaillers à l'étude et les différents groupes d'échantillons. Les volières ont montré une plus grande richesse spécifique que les colonies enrichies (Mann-Whitney, $\alpha= 0,05$). Toutefois, aucune différence significative n'a été observée entre les autres groupes d'échantillons, soit entre les saisons et entre le début et la fin du cycle de production (Wilcoxon et Student, $\alpha=0,05$). De même, aucune différence significative n'a été observée entre les indices de Shannon de tous les groupes d'échantillons (Wilcoxon et Student, $\alpha=0,05$).

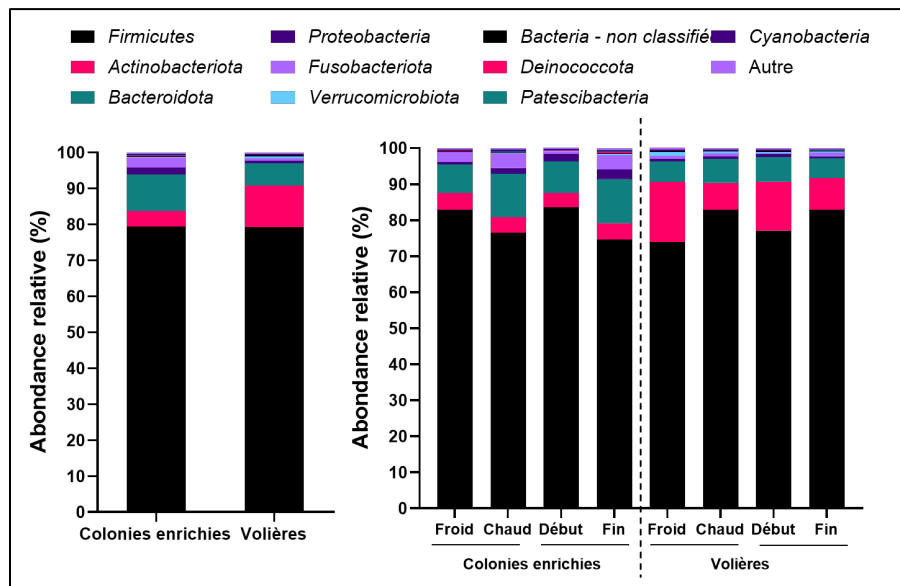
Figure 8. Richesse spécifique (A) et index de Shannon (B) des échantillons de colonies enrichies et des échantillons de volières (1), et pendant la saison froide/chaude et le début/fin du cycle de production (2) (Median, Tukey, GLMM * = $p < 0,05$)

Saison froide : mois d'octobre au mois d'avril, inclusivement ; Saison chaude : mois de mai au mois de septembre, inclusivement.



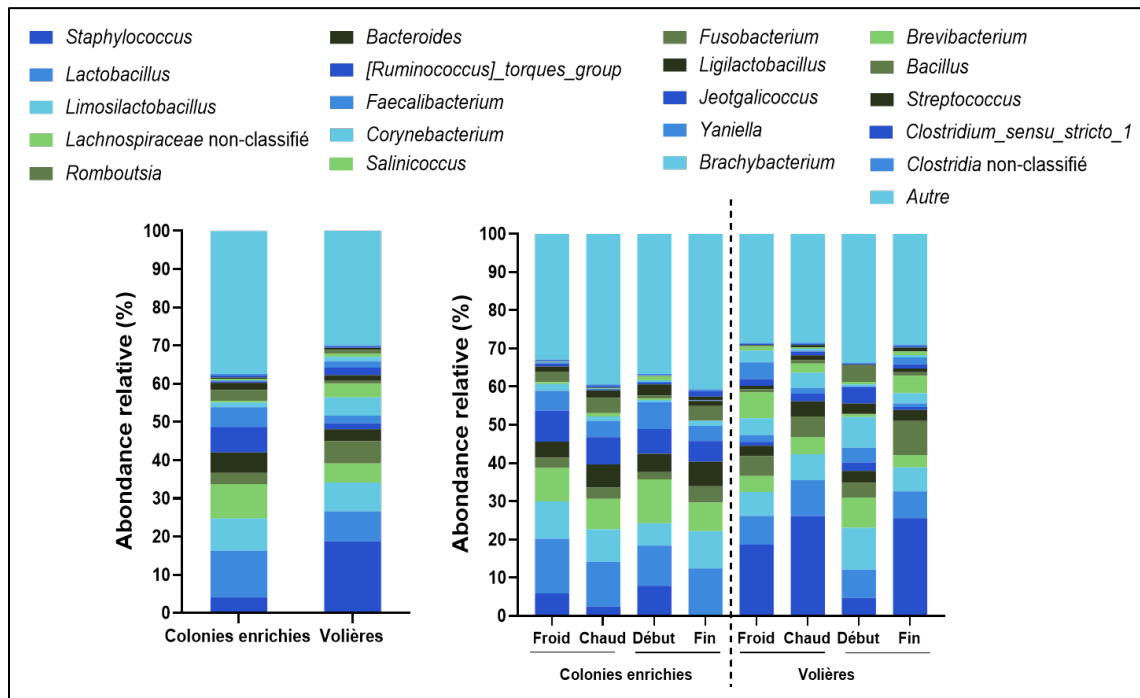
La figure 9 illustre les 10 phyla les plus abondants trouvés dans les groupes d'échantillons analysés au séquençage haut débit. Les *Firmicutes* étaient le phylum dominant dans tous les groupes d'échantillons, représentant une abondance relative entre 74,0 % et 83,4 %. Les *Actinobacteria* (3,94 - 16,6 %) et les *Bacteroidota* (5,56 - 12,2 %) ont été les seconds phyla les plus abondants.

Figure 9. Abondances relatives des 10 phyla bactériens les plus abondants dans l'air de colonies enrichies et de volières, pendant les différentes saisons et à différents moments du cycle d'élevage



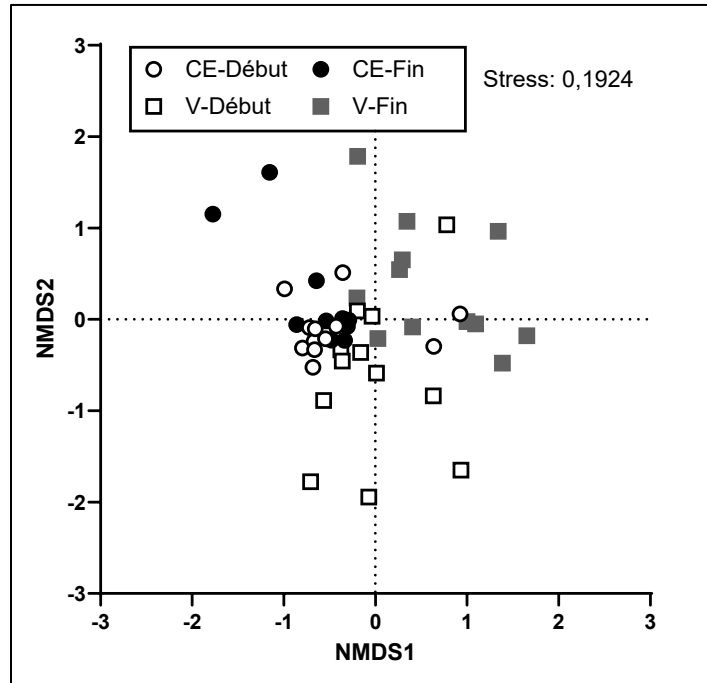
Les 20 genres bactériens les plus abondants sont quant à eux représentés dans la figure 10. Les genres les plus abondants étaient *Staphylococcus* (0,18 - 26,1 %), *Lactobacillus* (6,98 - 14,3 %) et *Limosilactobacillus* (5,84 - 11,0 %).

Figure 10. Abondances relatives des 20 genres bactériens les plus abondants dans l'air de colonies enrichies et de volièrès pendant les différentes saisons et à différents moments du cycle d'élevage



L'analyse de la variance (NPMANOVA) sur les indices de dissimilarité de Bray-Curtis a révélé des différences significatives entre les colonies enrichies (CE) et les volièrès (V) ($p = 0,001$), et entre le début et la fin du cycle de production pour les deux types de logements, respectivement ([CE] $p = 0,003$, [V] $p = 0,002$). Aucun effet significatif n'a été observé entre les échantillons de la saison froide et les échantillons de la saison chaude, et ce, pour les deux types de logements ([CE] $p = 0,989$, [V] $p = 0,619$). La figure 11 montre le positionnement multidimensionnel non métrique (NMDS) basé sur les indices de dissimilarité de Bray-Curtis sur les échantillons provenant du début et de la fin du cycle d'élevage, pour les deux types de poulaillers.

Figure 11. Positionnement multidimensionnel non métrique des échantillons d'air prélevés au début du cycle de production et ceux prélevés à la fin du cycle de production, dans des colonies enrichies (CE) et des volières (V), respectivement (Bray-Curtis)

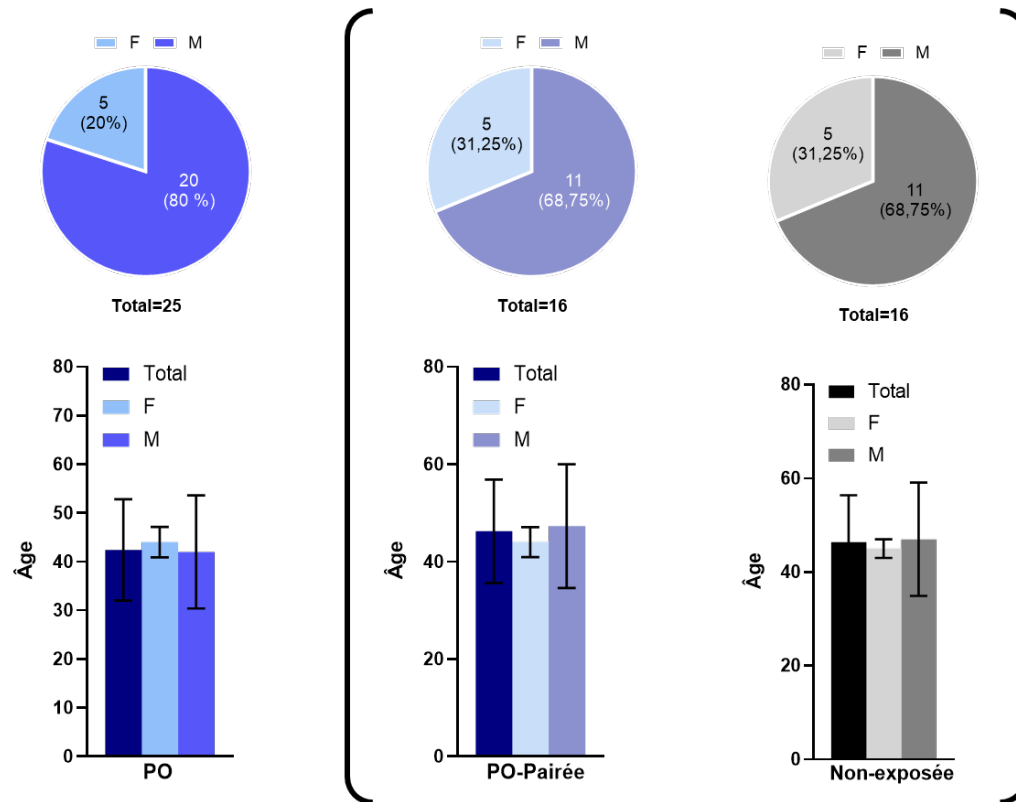


4.3 Objectif 2 : Évaluation de la santé respiratoire de personnes travaillant dans l'industrie ovicole

4.3.1 Description des cohortes

La figure 12 montre la proportion des personnes selon le sexe dans les cohortes à l'étude, ainsi que les âges moyens dans chacune d'elles. Seize personnes de la cohorte en production d'œufs ont été jumelées avec la cohorte n'ayant jamais été exposée aux bioaérosols d'activités agricoles (non exposée) en fonction du sexe, de l'âge et du statut tabagique (PO-Pairée). La cohorte PO-Pairée présente une plus importante proportion de personnes de sexe féminin que la cohorte PO. Pour tous les groupes, l'âge moyen des participants et des participantes se situe entre 45 et 50 ans, avec davantage de variation chez les individus de sexe masculin.

Figure 12. Proportion du sexe des participants et des participantes et répartitions des âges (moyenne \pm écart-type) dans la cohorte en production d'œuf et la cohorte des personnes non exposées



4.3.2 Travail actuel et antécédents de travail

Le tableau 8 présente les informations sur l'emploi occupé par les personnes participantes de chaque cohorte. Le taux d'emploi est près de 100 % dans les cohortes à l'étude, avec seulement une personne de la cohorte non exposée n'occupant pas un emploi lors de la rencontre avec l'infirmière de recherche. Les personnes travaillant en production d'œufs (cohortes totale et pairée) ont occupé leur emploi pendant une durée moyenne de 10,04 à 11,75 ans, avec une variation similaire entre les individus d'un même groupe. La cohorte des personnes non exposées travaille en moyenne 41,18 h par semaine, alors que les cohortes totale et pairée en production d'œufs travaillent respectivement 38,22 h et 32,28 h par semaine. La majorité des travailleurs et des travailleuses de toutes les cohortes pratiquent leurs emplois pendant toute l'année. Les deux personnes ne travaillant pas pendant le printemps ni l'été en production d'œufs ne sont pas incluses dans la cohorte pairée aux personnes non exposées. Une plus grande proportion de personnes a déclaré porter une protection respiratoire pendant le travail en production d'œufs, alors que deux personnes de la cohorte non exposée aux bioaérosols d'activités agricoles ont relevé le port du masque régulièrement pendant l'exercice de leur emploi. Toutes cohortes

confondues, plus de 80 % des personnes participantes avaient déjà occupé un emploi, et ce, pendant une durée moyenne de 7,30 à 11,74 ans.

Tableau 8. Informations sur le travail de la cohorte en production d'œufs et celle de personnes non exposées (% (n) ou moyennes ± écart-type)

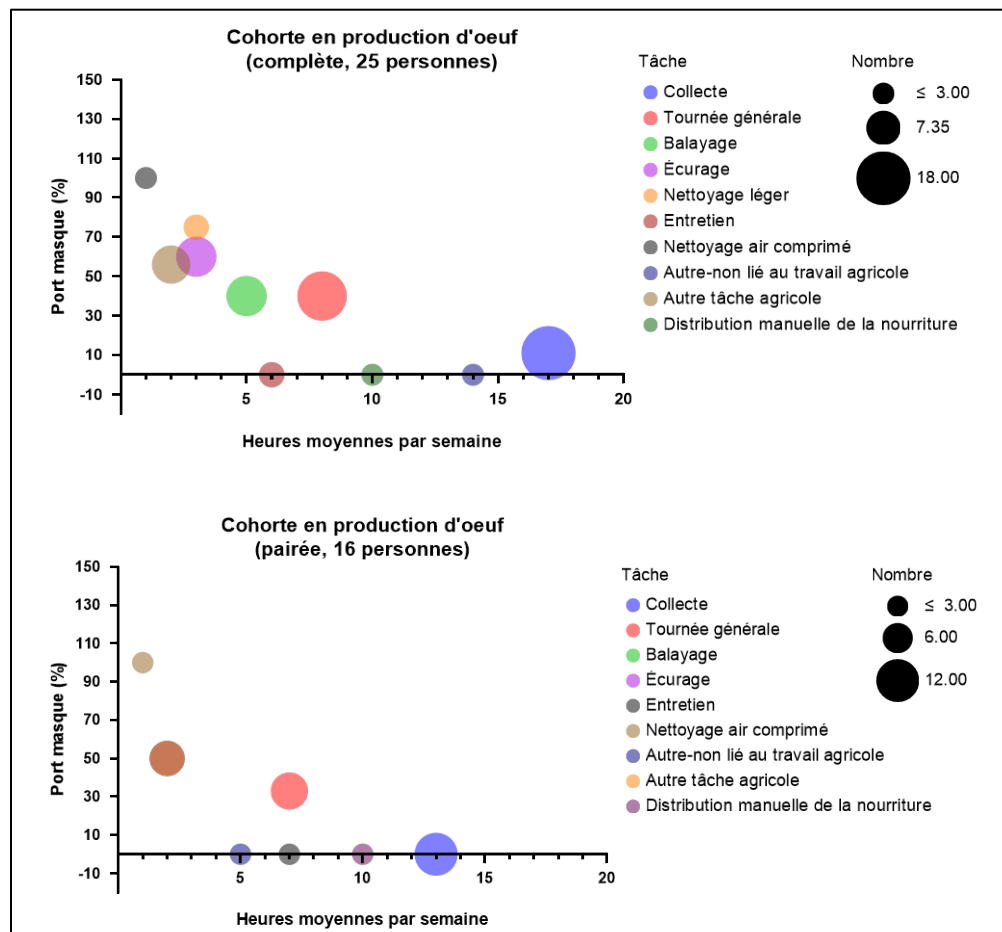
	Cohorte en production d'œuf (n=25)	Cohorte en production d'œuf pairée (n=16)	Cohorte des personnes non exposées (n=16)
Occupant un emploi	100 % (25)	100 % (16)	93,75 % (15)
Années travaillées en production d'œuf	10,04 ± 10,95	11,75 ± 12,90	N/A
Heures/semaine	38,22 ± 15,80	32,28 ± 16,08	41,18 ± 9,01
Semaines/année	40,92 ± 5,60	47,31 ± 6,49	47,93 ± 1,38
Saisons travaillées	Hiver : 96 % (24) Printemps: 92 % (23) Été: 92 % (23) Automne: 96 % (24)	Toutes (sauf 1 personne ne travaillant pas en hiver)	Toutes (1 inconnu)
Port du masque	68 % (17)	62,5 % (10)	12,5 % (2)
Ayant occupé un autre emploi	88 % (22)	87,5 % (14)	87,5 % (14)
Années	10,44 ± 8,72	11,74 ± 9,80	7,30 ± 9,61

Parmi les personnes non exposées aux bioaérosols d'activités agricoles (n = 16), 4 personnes (25 %) ont déclaré être exposées à des substances polluantes pendant l'exercice de leur métier, soit : 1) exposition à l'amiante, à la silice, à la fibre de verre et à la poussière; 2) exposition aux produits chimiques de laboratoire; 3) exposition à des émulsions; 4) exposition aux solvants, à l'alcool et à l'eau de Javel. Le port régulier de protection respiratoire par deux personnes n'était pas lié à l'exposition à des polluants, mais dû à un travail à proximité de patients et de patientes en milieu hospitalier. La personne ayant déclaré l'exposition n° 1 a mentionné le port occasionnel de protection respiratoire, selon les besoins. Le port occasionnel n'a pas été considéré comme un port régulier. Parmi les personnes non exposées aux bioaérosols d'activités agricoles ayant occupé d'autres emplois (14 personnes sur 16, 85,7 %), deux d'entre elles ont déclaré avoir été exposées à des polluants, soit : a) exposition à des produits chimiques de laboratoire; b) exposition à des acides, et ce, sans port de protection respiratoire.

Parmi les personnes travaillant en production d'œufs dans le sous-groupe pairé et ayant exercé au moins une autre profession (14/16 personnes), six d'entre elles rapportent avoir été exposées à des matières polluantes, soit : a) poussière, paille, foin, bergerie; b) engrais chimique, produit d'arrosage; c) volaille, acide, ammoniac (port de protection respiratoire); c) diverses substances chimiques; d) encre d'imprimante. Seule une personne a reporté avoir utilisé une protection respiratoire pendant l'exposition.

La figure 13 montre les tâches réalisées par les personnes travaillant en production d'œufs (n = 25) et celles composant le sous-échantillon pairé avec les personnes non exposées. La fréquence de déclaration des tâches par la cohorte est représentée par la taille des cercles, alors que le temps alloué par semaine pour une tâche donnée est représenté par les valeurs de l'axe des x. La fréquence de déclaration du port de protection respiratoire pour une tâche donnée est représentée par les valeurs de l'axe des y.

Figure 13. Heures allouées aux principales tâches de travail par la cohorte en production d'œufs et pourcentage de port de masque lors de la réalisation des tâches



La collecte des œufs a été la tâche la plus fréquemment déclarée par les participants et les participantes pour la cohorte en production d'œufs et celle pairée, et est aussi celle pour laquelle est allouée le plus de temps chaque semaine. Les autres tâches les plus communes sont la tournée générale à l'intérieur du poulailler (vérification de la santé du troupeau et de l'intégrité des installations dans le poulailler), le balayage des allées du poulailler, et l'écurage (activation des courroies d'évacuation des fientes dans tout le

poulailler). Les deux cohortes en production d'œufs (non pairée et pairée avec les personnes non exposées) présentent toutefois des différences quant aux différentes fréquences de déclaration de tâches, ainsi qu'au pourcentage de port de masque pour ces tâches. De plus, contrairement à la cohorte non pairée en production d'œufs, le temps accordé au balayage, à l'écurage et à d'autres tâches liées aux activités agricoles (ex. : pesage des poules, pesage de balles de foin, production de compost, activités dans un élevage de poulette, vaccination) est identique (10 h/ semaine) dans la cohorte pairée. Le port de protection respiratoire varie d'une tâche à l'autre et entre les cohortes. Cependant, le port du masque a été déclaré par au moins 30 % des travailleurs et des travailleuses lors de l'écurage, du balayage des allées, de la tournée générale du poulailler et des autres tâches liées aux activités agricoles.

4.3.3 Tabagisme et antécédents

Le tableau 9 montre les données de tabagisme pour chaque cohorte. Les personnes consommant du tabac par cigarette constituent moins de 20 % de la cohorte complète en production d'œufs (PO), alors qu'une plus grande proportion de cette même cohorte a déjà consommé du tabac. Comme le statut tabagique a été pris en compte pour la sélection des personnes non exposées aux bioaérosols d'activités agricoles, la proportion de personnes consommant du tabac ou ayant consommé du tabac est similaire entre les cohortes PO-pairée et non exposée, bien que la consommation (paquet année) varie entre les deux cohortes.

Tableau 9. Antécédents tabagiques de cohortes (% , n, moyennes et écart-type)

	PO (n=25)	PO-Pairée (n=16)	Non exposée (n=16)
% Tabagisme actif (% et n)	16 % (4)	6,25 % (1)	6,25 % (1)
Âge actif	15 ± 2	14	16
N^{bre} années	23,5 ± 8,06	32	32
N^{bre} paquet années	8,8 ± 7,01	16	3,20
% Tabagisme ancien	43,75 % (7)	12,5 % (2)	18,75 % (3)
Années	16,50 ± 11,57	28,00 ± 2,00	28,70 ± 15,50
Temps d'arrêt	7,90 ± 5,32	9,90 ± 4,40	25,30 ± 15,50
N^{bre} paquet année	11,95 ± 15,63	18,50 ± 9,20	27,10 ± 18,80

La figure 14 montre les pourcentages de déclaration d'antécédents de symptômes respiratoires, d'allergies, d'eczéma et d'urticaire. Les antécédents les plus rapportés sont les allergies, l'asthme, la pneumonie et la sinusite. Aucun antécédent de bronchite chronique et d'emphysème n'a été rapporté dans les cohortes. Sept personnes de la cohorte non exposée aux bioaérosols d'activités agricoles (43,75 %) ont déclaré des allergies connues (excluant les allergies médicamenteuses), alors que deux personnes du sous-échantillon de la cohorte en production d'œufs (PO-pairée, 12,5 %) ont déclaré de même. Cinq personnes (20 %) de la cohorte totale en production d'œufs ont déclaré des allergies non médicamenteuses. Le tableau 10 énumère les allergies connues déclarées

par les participants et les participantes des cohortes PO- (totale et non pairée) et non exposée (excluant les allergies médicamenteuses), chaque point énumérant les allergies déclarées par une personne de la cohorte. Des symptômes d'eczéma ont été davantage déclarés dans la cohorte non exposée (5 personnes sur 16, 31,25 %) que dans le sous-échantillon en production d'œuf (8 % PO totale, 6,25 % PO-pairée) 4 % de la cohorte PO totale (1 personne) et 6,45 % de la cohorte PO-pairée (1 personne) ont déclaré des antécédents de pneumonie pendant les années de travail en poulailler. Une personne (6,25 %) de la cohorte non exposée a déclaré de même pendant sa vie active. Une personne de la cohorte travaillant en production d'œuf (totale et pairée, 4 % et 6,25 % de la cohorte, respectivement) a déclaré des antécédents de sinusite pendant ses années de travail en poulailler, alors que cinq personnes de la cohorte non exposée (31,25 %) ont déclaré des antécédents de sinusite pendant leur vie active.

Figure 14. Antécédents respiratoires et associés des cohortes (%)

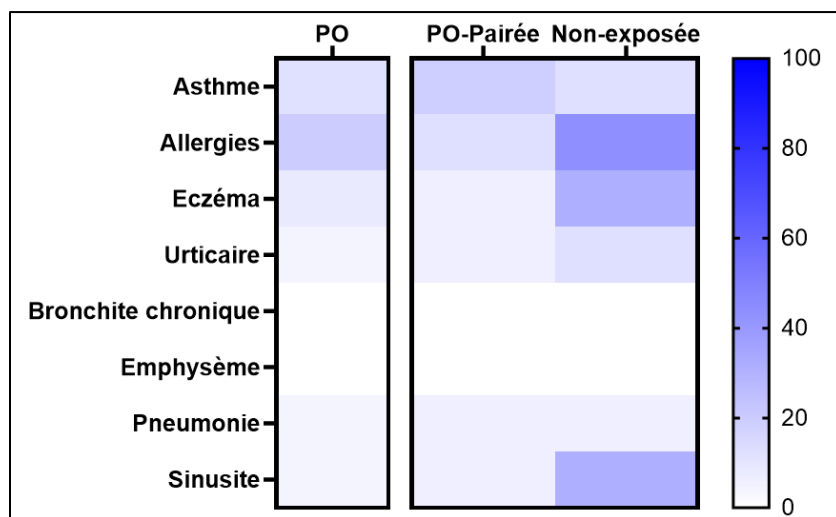


Tableau 10. Liste des allergies non médicamenteuses déclarées par les personnes de la cohorte en production d'œuf totale (n=25) pairée (n=16) et de la cohorte non exposée aux bioaérosols agricoles (n=6)

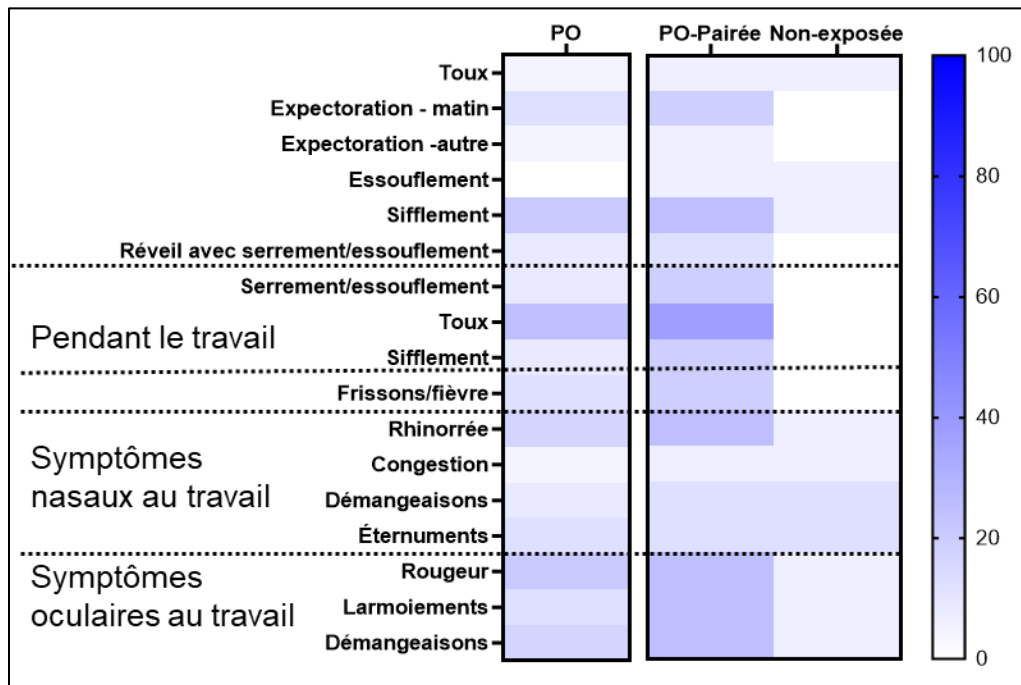
Cohorte travaillant en production d'œuf	Cohorte travaillant en production d'œuf - pairée	Cohorte non exposée aux bioaérosols d'activités agricoles
<ul style="list-style-type: none"> Allergie soupçonnée au foin ou à la paille Crustacés Allergies saisonnières Détergent à usage domestique Chats 	<ul style="list-style-type: none"> Crustacés Allergie soupçonnée au foin ou à la paille Allergie inconnue 	<ul style="list-style-type: none"> Chats, chiens, pollen, graminées, moisissures, plumes Pollen, chats, chiens Graminées Gazon Bouleau, pommes, poires et autres fruits à noyaux Chevaux, chats « Rhume des foin », certains végétaux

4.3.4 Symptômes respiratoires

La figure 15 montre les pourcentages de déclaration de symptômes respiratoires, généraux, nasaux et oculaires au quotidien, pendant ou après le travail. Une plus grande proportion de personnes travaillant en production d'œufs a déclaré des symptômes quotidiens ou liés au travail, alors qu'au plus deux personnes (12,5 %) dans la cohorte non exposée aux bioaérosols d'activités agricoles ont déclaré ces mêmes symptômes. Les symptômes de serrement à la poitrine et/ou d'essoufflement, de toux et de sifflement au travail ont été déclarés dans 18,75 à 37,5 % de la cohorte PO-pairée et 8 à 20 % de la cohorte PO totale, alors qu'aucun cas n'a été relevé dans la cohorte non exposée. Parmi les travailleurs et travailleuses en production d'œufs déclarant des symptômes de serrement, sifflement, de toux ou d'essoufflement au travail, 24 % et 31,25 % d'entre eux (PO-pairée et PO totale, respectivement) relevaient une amélioration de leurs symptômes pendant une période sans travail (ex. : congé de fin de semaine, vacances).

12 à 16 % de la cohorte PO totale et 18,75 % de la cohorte PO-pairée ont déclaré avoir des symptômes de frisson et de fièvre, des symptômes respiratoires et des douleurs musculaires, alors qu'aucune personne de la cohorte non exposée n'a déclaré ces symptômes. Les symptômes nasaux liés au travail avaient débuté depuis deux et jusqu'à plus de cinq ans pour la majorité des participants et des participantes les ayant déclarés. Deux personnes de chaque cohorte (PO-pairée et non exposée, 12,5 %) relevaient une amélioration des symptômes après une période sans travail. Les personnes ayant déclaré des symptômes oculaires liés au travail (PO : 4 à 6 personnes, 16-24 %; PO-pairée : 4 personnes, 25 %; personnes non exposées : 1 personne, 6,25 %) ont également indiqué une amélioration des symptômes après une période sans travail.

Figure 15. Pourcentages de symptômes respiratoires, généraux et oculaires s'étant manifestés dans les 3 mois précédant l'étude

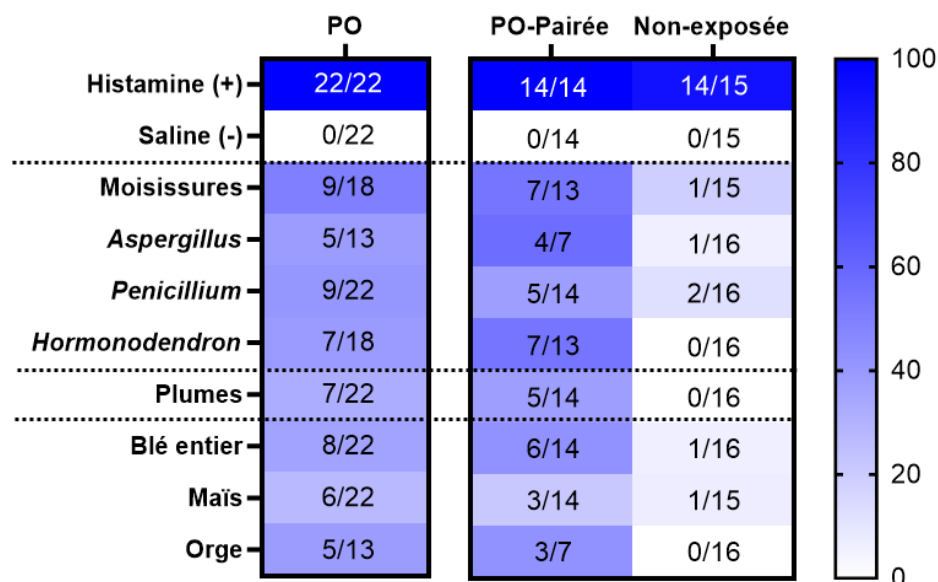


4.3.5 Allergies

La figure 16 montre les pourcentages et les ratios de positivité des tests d'allergies cutanés entre les cohortes, sans tenir compte de la sévérité de la réaction allergique. Les ratios bruts ont été indiqués puisque certains allergènes n'ont pu être testés pour tous les participants et les participantes, pour des raisons de logistiques pour l'arrivée des allergènes. Parmi la cohorte complète travaillant en production d'œufs (n = 25), trois personnes n'ont pu recevoir le test d'allergies cutané.

La cohorte complète PO et le sous-échantillon de personnes travaillant en production d'œufs (PO-pairée) ont montré des taux de positivité d'environ 30 à 50 % pour tous les allergènes testés, alors que la cohorte non exposée a montré des taux de positivité d'au plus 12,5 %.

Figure 16. Résultats des tests d'allergies parmi les cohortes en pourcentages et en ratios bruts



4.3.6 Résultats de spirométrie

En raison d'une problématique d'appareillage (spiromètre) et, dans certain cas, de compréhension de l'examen de la part des participants et participantes, uniquement 8 producteurs et productrices d'œufs et 9 personnes non exposées ont réalisé une épreuve de spirométrie jugée valable. Les épreuves de spirométrie des autres personnes ne remplissaient pas les critères de validité de l'examen et, par conséquent, n'ont pu être retenues pour analyse. Pour cet examen, vu le nombre limité de données, aucune comparaison n'a pu être effectuée avec le groupe pairé. Le tableau 11 rapporte les valeurs de VEMS et d'indice de Tiffeneau (ratio du volume expiratoire maximal en une seconde sur la capacité vitale forcée, VEMS/CVF) entre les producteurs et productrices d'œufs et le groupe non exposé. Aucune différence significative du VEMS et de l'indice de Tiffeneau n'a été retrouvée entre les 2 groupes. Un participant dans chaque groupe avait un syndrome obstructif à la spirométrie. Deux participants dans le groupe des travailleurs et travailleuses ovocoles avaient un abaissement proportionnel du VEMS et de la CVF comparativement à un participant dans le groupe non exposé.

Tableau 11. VEMS moyen (%), L) écart type et Tiffeneau moyen % de sujets de la cohorte PO et du groupe non exposé

	Groupe PO	Groupe non exposé	Valeur p
VEMS moyen L (%)	3,43 (89)	3,21 (93)	0,51
Écart-type	13,39	10,31	
Tiffeneau moyen %	75,74	78,14	0,39

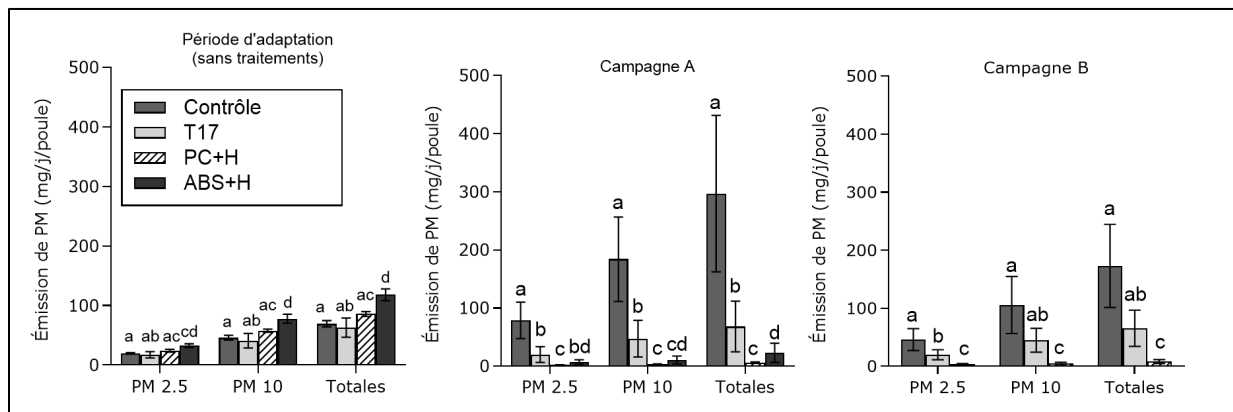
4.4 Objectif 3 : Effet des stratégies de mitigation des poussières et de l'ammoniac sur les bioaérosols

4.4.1 Effet des stratégies de mitigation sur les émissions de poussières, d'ammoniac et de bioaérosols en volières expérimentales

Les émissions d'ammoniac ont été calculées et présentées selon la méthodologie de Gonzalez-Mora *et al.* (2022). Aucune différence significative dans les émissions d'ammoniac n'a été observée entre les différentes chambres (volières) expérimentales dans lesquelles différentes stratégies de mitigation (traitements) et les conditions étaient en application ($p > 0,05$), et ce, pendant pour les campagnes d'échantillonnage A et B lors de l'application des méthodes de mitigation. Les émissions moyennes d'ammoniac étaient entre 7,99 et 10,46 g/an/poule pendant la période campagne A (25 février au 23 avril 2019), et entre 21,03 et 34,56 g/an/poule pendant la période campagne B (23 avril au 18 juin 2019). Les émissions d'ammoniac plus élevées pendant la période campagne B ont été attribuées à l'humidité relative ambiante plus élevée pendant cette période, fournissant des conditions plus propices à la production d'ammoniac dans les volières expérimentales. L'humidité relative n'était pas contrôlée dans les volières au même titre que la température et était davantage influencée par les conditions extérieures.

La figure 17 montre les émissions de PM_{2,5}, de PM₁₀ et de poussières totales pour tous les types de chambres des volières expérimentales selon les stratégies de mitigation (traitements) en place. Les différences significatives entre les stratégies de mitigation pour les émissions en particules de poussières sont indiquées par les lettres au-dessus des barres du diagramme ($p < 0,05$, procédure MIXED). En absence d'application de stratégies de mitigation, lors de la période d'adaptation, les émissions de poussières mesurées lors de la période d'adaptation montrent que les différences entre les chambres expérimentales en absence d'application des méthodes de mitigation ont été plus importantes dans les chambres PC+H (plancher chauffant et aspersion d'huile) et ABS+H (absorbant dans la litière et aspersion d'huile). Lors de l'application des stratégies de mitigation (campagne A et campagne B), les stratégies incluant l'aspersion d'une émulsion d'huile sur la surface de litière ont résulté en des émissions de poussières significativement inférieures à la condition contrôle. La réduction de l'espace de litière à 17 % de l'espace utilisable, comparé à 33 % en condition contrôle, a contribué à des émissions plus basses des différentes fractions de poussières dans la campagne A, mais seulement pour les PM_{2,5} pendant la campagne B. La méthode stratégie ABS+H n'a pas pu être testée lors de la campagne B.

Figure 17. Émissions de poussières (PM2, 5, PM10 et poussières totales) pour chaque type de traitement pendant les trois campagnes d'échantillonnage : la période d'adaptation et les 2 campagnes d'échantillonnage A et B (n = 3, moyenne ± écart-type) (p < 0,05)

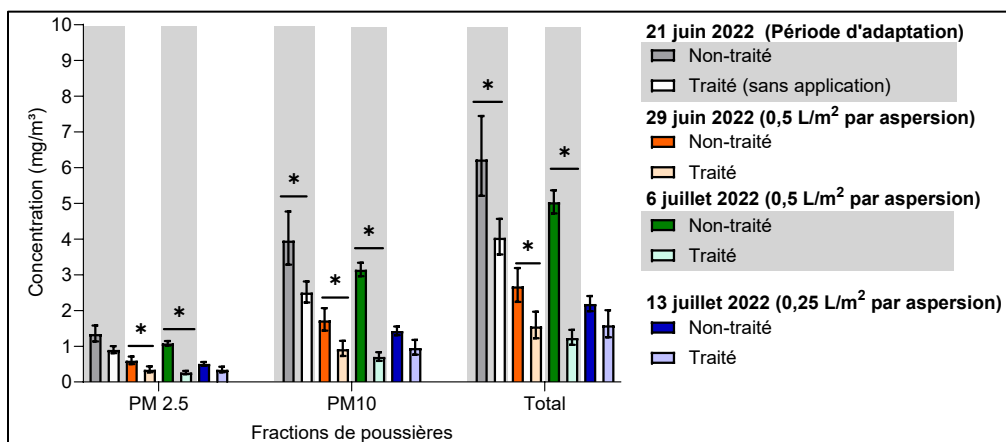


Les effets des différentes stratégies de mitigation étaient plus variables sur les différents bioaérosols à l'étude que sur les poussières. Aucun effet significatif n'a été observé sur les endotoxines pendant les campagnes d'échantillonnage A et B ($p = 0,42$). L'effet des stratégies de mitigation sur les bactéries cultivables n'a pu être déterminé avec précision puisque plusieurs échantillons d'air présentaient moins de 30 UFC par boîte de pétri, soit un nombre inférieur à la limite de quantification de la méthode d'énumération par culture (Breed et Dotterer, 1916; Tomaszewicz *et al.*, 1980). Les limites de quantification des bactéries cultivables de la méthode d'analyse par culture étaient ainsi de $4,60 \times 10^5$ UFC/jour/poule pour la période d'adaptation, de $5,40 \times 10^5$ UFC/jour/poule pour la campagne A, et de $2,70 \times 10^5$ UFC/jour/poule pour la campagne B. Toutefois, la présence d'un plancher chauffant sous la litière et l'aspersion d'une émulsion d'huile (PC+H) ont contribué à une réduction de 1 log₁₀ des émissions de moisissures cultivables ($p < 0,05$). Les moisissures observées sur les échantillons quantifiés étaient principalement du genre *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., et *Cladosporium* sp. ainsi que des levures. Une réduction d'un facteur 10 des émissions des bactéries totales (qPCR EUB) a été observée pendant la campagne B, avec les stratégies de réduction de l'espace de litière (T17) et de plancher chauffant et d'aspersion d'une émulsion d'huile (PC+H) ($p < 0,05$). Les chambres PC+H ont montré une réduction similaire des émissions de *Clostridium perfringens* pendant la campagne B ($p < 0,05$). Les stratégies de mitigation n'ont pas eu d'effet significatif sur les émissions d'*Enterococcus* sp. et ce pour toutes les campagnes d'échantillonnage A et B. Les moisissures *Penicillium* sp. et *Aspergillus* sp. (qPCR *PenAsp*) et les bactéries *E. coli* n'ont pas été détectées dans tous les échantillons d'air et par conséquent, l'effet des stratégies de mitigation sur ces microorganismes n'a pu être évalué.

4.4.2 Effet de l'aspersion d'une émulsion d'huile sur la litière sur les concentrations de poussières et de bioaérosols en volière commerciale

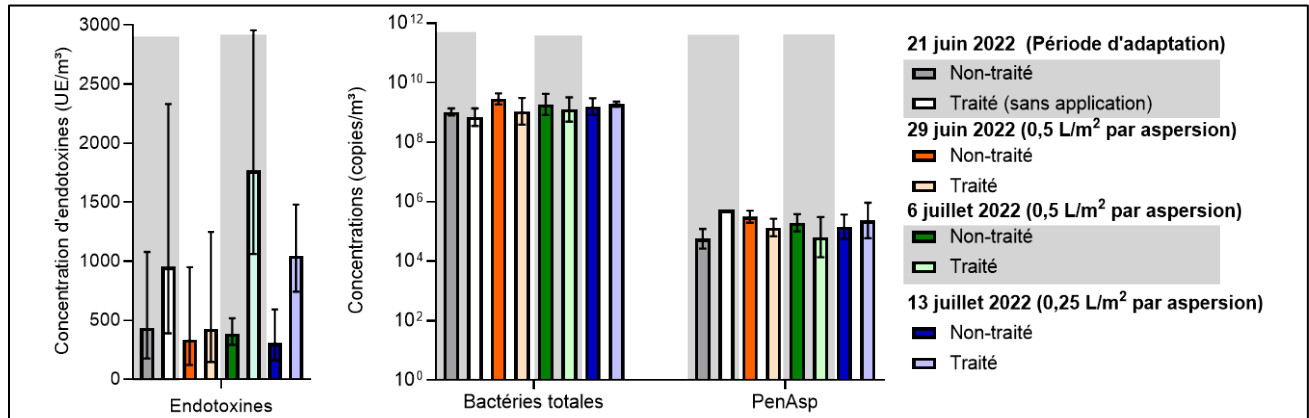
La figure 18 montre les concentrations de PM_{2,5}, de PM₁₀ et de poussières totales, en absence et en présence de traitement (stratégie de mitigation) pendant les campagnes d'échantillonnage en volière commerciale. Des différences significatives entre l'étage non traité et l'étage « traité » ont été observées pendant la période d'adaptation pour les PM₁₀ et les poussières totales ($p < 0,05$). L'aspersion d'une émulsion d'huile sur la litière entre les campagnes du 29 juin et du 6 juillet 2022 a contribué en une réduction des fractions de poussières étudiées ($p < 0,05$) d'environ 50 %. Toutefois, aucune différence significative n'a été observée lors de la campagne d'échantillonnage du 13 juillet 2022, à la suite de l'application de 0,25 L/m² d'émulsion d'huile (demi-dose).

Figure 18. Concentrations de PM_{2,5}, de PM₁₀ et de poussières totales en absence et en présence d'un traitement pour la mitigation des poussières et de l'ammoniac en volière commerciale (MG moyenne géométrique ± écart-type géométrique, ANOVA à deux facteurs, Tukey, * = $p < 0,05$)



La figure 19 montre les concentrations d'endotoxines, de bactéries totales (qPCR EUB) et des moisissures ciblées par l'essai *Penicillium* sp. et *Aspergillus* sp. (qPCR PenAsp), en absence et en présence de traitement dans la volière commerciale. Les concentrations d'endotoxines totales dans l'air variaient entre 140 et 2 400 UE/m³, avec aucun effet significatif attribuable à l'application de la stratégie de mitigation. De façon similaire, aucun effet significatif du traitement n'a été observé sur les bactéries totales et les moisissures *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. et *Paecilomyces variotii*, dont les concentrations variaient entre 10⁸ et 10⁹ copies/m³, et entre 10⁴ et 10⁵ copies/m³, respectivement.

Figure 19. Concentrations d'endotoxines, de bactéries totales (qPCR EUB) et de moisissures *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. et *Paecilomyces variotii* (qPCR *PenAsp*) en absence et en présence de traitement pour la mitigation des poussières et de l'ammoniac en volière commerciale (MG moyenne géométrique \pm écart-type géométrique, ANOVA à deux facteurs, Bonferroni, * = $p < 0,05$)



5. DISCUSSION

5.1 Objectif 1a : Évaluation de la qualité de l'air et des bioaérosols en poulaillers conventionnels et alternatifs

Afin de répondre à l'objectif 1a, six logements conventionnels, six colonies enrichies et six volières pour poules pondeuses ont été visités. Des échantillons d'air et des échantillons de fientes (ou de litière, en volière) ont été prélevés dans chaque poulailler. Les résultats obtenus montrent l'effet du type de logement sur les concentrations de poussières ainsi que de certains bioaérosols, et sur la diversité bactérienne dans l'air de ces environnements de travail.

5.1.1 Évaluer la qualité de l'air (poussières totales, PM10, PM2,5, endotoxines totales, bactéries totales, bactéries et moisissures cultivables) et vérifier la présence dans l'air de bactéries d'origines fécales

De plus hautes concentrations de poussières et d'endotoxines ont été rapportées dans des volières, comparativement aux logements conventionnels pour poules pondeuses (Arteaga *et al.*, 2015; Le Bouquin *et al.*, 2013; Nimmermark *et al.*, 2009). Les résultats obtenus lors du présent projet confirment les résultats de ces études, puisque les concentrations de poussières (PM2,5, PM10 et poussières totales) étaient supérieures dans les volières, comparativement aux concentrations dans les logements conventionnels et dans les colonies enrichies. Toutefois, bien que les colonies enrichies fournissent davantage d'espace pour chaque animal ainsi que des perchoirs, elles ne présentaient pas des concentrations de poussières significativement différentes des logements conventionnels. Ainsi, la présence de litière au sol et la plus grande liberté de mouvement des animaux en volière semblent contribuer largement aux concentrations de poussières dans l'air. En contraste, la liberté de mouvement dans les colonies enrichies demeure plus limitée que dans les volières, puisque les poules sont logées en petits groupes dans des logements grillagés (Les Producteurs d'œufs du Canada et Conseil national pour le soin des animaux d'élevage, 2017) et ne peuvent exprimer des comportements tels que le vol, la prise de bain de poussière, le picorage ou la course. Les logements grillagés des colonies enrichies séparent également les animaux des fientes, alors que les poules logées en volières peuvent interagir librement avec la litière.

Le type de logement a eu un effet plus marqué sur les concentrations d'endotoxines totales, lesquelles étaient plus élevées dans les volières comparativement à celles des logements conventionnels et des colonies enrichies, ces dernières comportant des concentrations d'endotoxines totales plus élevées que celles dans les logements conventionnels. Les concentrations trouvées en logements conventionnels étaient légèrement plus basses que précédemment observées dans de précédentes études (694,1 à 2 395,2 UE/m³) (Arteaga *et al.*, 2015; Senthilselvan *et al.*, 2011). À ce jour, il

n'existe pas de limite d'exposition recommandée pour les endotoxines. Le Dutch Committee of Occupational Safety recommande toutefois une valeur de 90 UE/m³ en milieu de travail. Dans le présent projet, les endotoxines de l'air ont été échantillonnées et analysées selon les méthodes optimisées et recommandées pour leur surveillance en milieu de travail (Health Council of the Netherlands, 2010; Spaan *et al.*, 2007). Les concentrations d'endotoxines totales des poulaillers à l'étude excédaient 90 UE/m³.

Les effets des types de logements sur les bioaérosols variaient davantage que les poussières ou les endotoxines. Les concentrations de bactéries cultivables étaient plus élevées dans les volières que dans les logements conventionnels et les colonies enrichies, mais, étonnamment, aucune différence significative n'a été observée pour les moisissures cultivables entre les types de logements. En effet, les volières ne présentaient pas de plus hautes concentrations en moisissures cultivables que dans les autres types de logements, alors que leur litière généralement composée de sciure de bois ou de paille (Les Producteurs d'œufs du Canada et Conseil national pour le soin des animaux d'élevage, 2017) est un substrat favorable pour la croissance des moisissures. De plus hautes concentrations de moisissures cultivables ont été trouvées dans une volière en particulier ($p < 0,05$), laquelle ajoutait de la paille fraîche chaque semaine en guise d'enrichissement pour les animaux. La paille a pu être une source de bioaérosols fongiques, puisque des moisissures aptes à dégrader la cellulose y ont été trouvées (Just *et al.*, 2009). Toutefois, comme les volières visitées lors du projet approchaient leur fin de production, les litières au sol étaient largement composées de fientes et de plumes, loin du substrat végétal d'origine pouvant soutenir la croissance de moisissures cellulolytiques.

La présence de litière au sol et la plus grande liberté de mouvement des animaux en volières n'a pas contribué à des concentrations significativement différentes de bactéries totales (qPCR EUB) et de moisissures *Penicillium* sp et *Aspergillus* sp. (qPCR *Pen-Asp*), comparativement aux logements conventionnels et aux colonies enrichies. Toutefois des concentrations plus élevées de *Clostridium perfringens* ont été observées dans les volières et les colonies enrichies, par rapport aux logements conventionnels. Les volières ont aussi présenté des concentrations plus élevées d'*Enterococcus* sp. comparativement aux logements conventionnels. Les concentrations de *Clostridium perfringens* en logements conventionnels étaient inférieures à celles précédemment rapportées dans ces logements, alors que les concentrations d'*Enterococcus* sp. en logements conventionnels étaient en accord avec une précédente étude (Just *et al.*, 2012).

Les bactéries *Campylobacter coli* et *Campylobacter jejuni* ont seulement été détectées dans quelques échantillons d'air, ce qui concorde avec de précédentes observations (Just *et al.*, 2009), où la détection de *Campylobacter* sp. par qPCR était peu fréquente dans les bioaérosols d'élevages ovocoles. Au cours du présent projet, *Salmonella* sp. a seulement été détectée dans une volière sur les six volières visitées, et ce en absence de cas connu d'infections dans le troupeau avant ou pendant le cycle d'élevage.

Ces résultats montrent ainsi un portrait des concentrations ambiantes, de certaines fractions de poussières (PM_{2,5}, PM₁₀ et poussières totales) mesurées en temps réel, des endotoxines et de certains bioaérosols dans les trois principaux types de poulaillers en utilisation au Canada. Les résultats du présent projet ajoutent des connaissances nouvelles à celles déjà publiées (Arteaga *et al.*, 2015; Donham *et al.*, 2000; Kirychuk *et al.*, 2006; Senthilselvan *et al.*, 2011) et précisent le contenu en bioaérosols de poulaillers de l'est du Canada. L'utilisation de méthodes d'analyse basées sur la culture et d'autres sur l'analyse de l'ADN (biologie moléculaire, indépendante de la culture) a permis d'évaluer l'effet des types de logements sur les bactéries et les moisissures cultivables, sur les bactéries totales (qPCR EUB), sur les moisissures *Penicillium* sp. et *Aspergillus* sp. (qPCR *PenAsp*) et sur certaines bactéries d'origine fécale.

Toutefois, comme les visites d'échantillonnage des poulaillers ont eu lieu en fin de production, une caractérisation de la qualité de l'air et des bioaérosols pendant différents moments du cycle de production semble nécessaire afin de valider les différences des concentrations de bioaérosols lors du cycle de ponte (objectif 1b du présent projet). L'échantillonnage d'un grand nombre de poulaillers conventionnels ou alternatifs au Québec semble également nécessaire pour confirmer les différences observées lors de ce projet entre les types de logement. Finalement, un protocole d'échantillonnage personnel des bioaérosols est à implémenter afin de révéler l'exposition de chaque travailleur et travailleuse en fonction des tâches à réaliser dans le poulailler (ex. : effectuer des tournées dans le poulailler pour surveiller la santé et le bien-être des animaux versus nettoyer les allées à l'aide d'un souffleur).

5.1.2 Caractériser et comparer la diversité des bactéries de l'air, des fientes et de litière des poulaillers à l'aide du séquençage haut débit

La diversité bactérienne a été analysée dans des échantillons d'air (SASS®3100 Dry Air Sampler) et de fientes (ou de litière, dans les volières) provenant des 18 poulaillers visités au cours du projet. L'échantillonnage des bioaérosols sur filtre électrostatique à l'aide d'un échantillonneur à haut débit s'est montré efficace pour recueillir des bioaérosols en élevage animal en vue d'analyses en biologie moléculaire (Bergeron *et al.*, 2024; Mbareche *et al.*, 2018; Mbareche, Veillette, Pilote, *et al.*, 2019; Mbareche, Veillette, Teertstra, *et al.*, 2019b; Pilote *et al.*, 2019). Le séquençage haut débit d'amplicons du gène de l'ARNr 16S (régions V6 à V8) a permis de caractériser les phyla et les genres bactériens les plus abondants dans les échantillons. La diversité bactérienne a ensuite été comparée entre les types de logements, puis entre les types d'échantillons (air, fientes/litière). Le séquençage haut débit d'amplicons de gènes de l'ARNr16S est de plus en plus utilisé pour l'analyse de la diversité bactérienne d'échantillons de bioaérosols, d'eau ou de sols, par exemple. L'amplification de régions variables de gènes de l'ARNr 16S permet de cibler la population de bactéries, mais un biais dans la « sélection » des taxons obtenus, est possible par l'amplification de gènes des bactéries déjà en plus grande abondance. Bien que la qualité des assignations taxonomiques dépende de

l'exhaustivité et de la qualité des banques de données, les banques de données utilisées sont adaptées pour l'étude de la diversité bactérienne (Hugerth et Andersson, 2017). Le retrait de la totalité des séquences retrouvées dans les « blancs de terrain » a permis d'éliminer toutes séquences pouvant résulter de l'apport d'ADN bactérien autre que celui issu de l'échantillonnage (ex. : ADN contaminant provenant de la manipulation des filtres). Le retrait des séquences des blancs de terrain a toutefois pu résulter en l'élimination de séquences provenant de l'environnement d'intérêt. L'élimination des contaminants dans le jeu de données a toutefois eu un effet minime sur le nombre de séquences dans les échantillons.

Les analyses de diversité alpha révèlent une plus importante richesse (indice S_{obs}) dans les échantillons d'air de logements alternatifs et de colonies enrichies, comparé à celle de leurs échantillons de fientes respectifs. Ces résultats supportent l'hypothèse que de multiples sources contribuent à la diversité en bactéries des bioaérosols dans ces environnements (ex. : fientes, peau, plumes, nourriture). Par contre, aucune différence significative n'a été observée entre la richesse des échantillons d'air et celle des échantillons de litière en volière, indiquant possiblement une plus importante contribution de la litière à la diversité bactérienne des bioaérosols. En effet, la mise en suspension dans l'air de la litière est favorisée par le contact direct des animaux avec la litière. Les comportements de picorage, la prise de bains de poussières et d'autres mouvements des animaux contribuent, entre autres, à l'aérosolisation des bactéries de la litière. Les indices invSimpson, CHAO1 et Shannon montrent une tendance similaire, avec une plus importante diversité dans les échantillons d'air, comparé à celle de leurs échantillons de fientes/litière respectifs. Toutefois, les résultats ne sont pas toujours significatifs d'un indice à l'autre, dus possiblement aux méthodes de calcul et aux assumptions de ces indices. L'indice de Simpson, utilisé pour calculer l'indice inverse de Simpson, est moins influencé par les UTO moins abondants (Simpson, 1949), alors que l'indice de Shannon assume que tous les taxons sont représentés dans un échantillon et que les individus sont échantillonnés aléatoirement (Hugerth et Andersson, 2017; Shannon, 1948). L'indice CHAO1, assumant quant à lui une distribution de Poisson, est affecté par les phylotypes dominants ainsi que par les phylotypes plus rares (Chao, 1984; Chao et Bunge, 2002; Hughes *et al.*, 2001).

La prédominance des *Firmicutes* (*Bacillota*) et la présence des phyla *Actinobacteria*, *Fusobacteria* et *Bacteroidetes* ont déjà été rapportées dans les bioaérosols de poulaillers de poules pondeuses (Cui *et al.*, 2023) et le microbiote du ceca des poules (Bari *et al.*, 2022; Khan *et al.*, 2020; Rychlik, 2020; Wang *et al.*, 2023). Le genre *Lactobacillus*, *Staphylococcus* et *Faecalibacterium* ainsi que les familles *Lachnospiraceae*, *Clostridiales* et *Ruminococcaceae*, et les ordres *Lactobacillales* et *Bacilli* ont été rapportés dans les microbiotes du poulet ou le microbiote intestinal des poules pondeuses (Bari *et al.*, 2022; Khan *et al.*, 2020; Rychlik, 2020; Wang *et al.*, 2023). Le genre *Jeotgalicoccus* a quant à lui été rapporté dans les bioaérosols des poulaillers de poules pondeuses (Cui *et al.*, 2023).

Bien que certains genres soient retrouvés en plus grande abondance dans certains types de logements, la plupart des UTO étaient partagés par tous les échantillons d'air, et associés au microbiote intestinal ou cutané des poules (ex. : *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Fusobacterium*, *Lachnospiraceae*, *Blautia*, *Aescardiovia*, *Rothia* et *Gallicola*) (Bindari *et al.*, 2021; Eeckhaut *et al.*, 2008; Ezaki *et al.*, 2001; Farooq *et al.*, 2023; Garrity *et al.*, 2006; Goodfellow *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2020; Krieg *et al.*, 2011; Vos *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2022). La même observation s'applique pour les 20 genres les plus abondants dans les échantillons d'air et dans les échantillons de fientes/litière. Les différences observées semblent ainsi être attribuées à la proportion des UTO entre les types d'échantillons plutôt qu'à la présence ou l'absence d'UTO particuliers.

Ainsi, des échantillons d'air et des échantillons de fientes/litière ont été prélevés dans 18 poulaillers conventionnels et alternatifs, afin de caractériser et comparer la diversité bactérienne en fonction du type de logement et de la nature des échantillons. Bien que les échantillons d'air aient été réalisés à des moments ponctuels (une visite pendant la saison froide), le nombre d'échantillons a été suffisant pour réaliser les analyses statistiques sur les données de diversité bactérienne. De plus, la représentativité des échantillons a été considérée et favorisée en combinant de façon équimolaire pour le séquençage haut débit les triplicatas d'échantillons d'air, et les duplicatas des échantillons de fientes/litière. Les échantillons d'air ont été également prélevés à l'écart des entrées et des sorties d'air, dans l'allée centrale des bâtiments à l'étude. La stratégie d'échantillonnage du présent projet ne permet toutefois pas d'évaluer la variation spatiale ou temporelle de la diversité en bactéries. La récolte de façon aléatoire d'un plus grand nombre d'échantillons de fientes ou de litière à plusieurs endroits dans l'élevage est aussi à considérer pour un prochain projet afin d'améliorer la représentativité des échantillons.

5.2 Objectif 1b : Suivi longitudinal des concentrations de bactéries totales et d'archées totales, et analyse de la diversité bactérienne en logements alternatifs pour poules pondeuses

La réalisation de l'objectif 1b a permis d'évaluer et de comparer les concentrations de bactéries totales et d'archées totales dans l'air de douze colonies enrichies (utilisant des cages enrichies) et de douze volières pour poules pondeuses à plusieurs moments pendant le cycle d'élevage (19, 23, 31, 35, 45, 55 et 65 semaines de vie du troupeau). La diversité bactérienne des bioaérosols (air) a également été révélée dans les deux types de logements, dans des échantillons prélevés au début ou à la fin du cycle d'élevage et dans des échantillons prélevés pendant la saison froide ou pendant la saison chaude.

5.2.1 Concentrations de bactéries totales et d'archées totales

Les concentrations de bactéries totales dans l'air des colonies enrichies étaient similaires aux concentrations précédemment obtenues dans ces types de poulaillers par méthodes d'analyse indépendantes à la culture ($1,6 \pm 0,55 \times 10^7$ cellules/m³, moyenne \pm écart-type)

(Nimmermark *et al.*, 2009), et dans les poulaillers utilisant des cages conventionnelles ($1,1 \times 10^7$ équivalents *E.coli*/m³) (Just *et al.*, 2011). Toutefois, les concentrations de bactéries totales (qPCR EUB) dans les volières à l'étude étaient plus élevées que celles précédemment rapportées en poulaillers sans cage et ayant plusieurs étages de perchoirs ($2,8 \pm 0,6 \times 10^7$ cellules/m³) (Nimmermark *et al.*, 2009), mais concordent avec les concentrations rapportées dans d'autres élevages de volailles (poulets de chair, poules pondeuses et dindons) ($2,7 \times 10^7$ à $4,2 \times 10^{10}$ cellules/m³) (Radon *et al.*, 2001). Les concentrations d'archées totales dans l'air des deux types de poulaillers étaient quant à elles plus élevées que la concentration moyenne précédemment relevée dans des poulaillers conventionnels ($1,2 \times 10^6$ équivalents de *Methanosarcina mazei*/m³) (Just *et al.*, 2013).

De plus hautes concentrations de bactéries et d'archées totales ont été observées dans les volières puisque ce type de poulailler est associé à de plus hautes concentrations de bioaérosols que dans les poulaillers utilisant des cages. La matière particulaire (Le Bouquin *et al.*, 2013; Nimmermark *et al.*, 2009) et les endotoxines (Arteaga *et al.*, 2015) y sont plus concentrées. La présence d'une surface de litière et/ou de fientes sur le sol, la liberté de mouvement de animaux et leurs activités pouvant générer des bioaérosols (picorage, grattage du sol, bains de poussières) contribuent à la dispersion dans l'air de matière organique et à la production de bioaérosols dans les volières.

L'âge des troupeaux n'a toutefois pas eu d'effet significatif sur les concentrations de bactéries totales et les concentrations d'archées totales dans les deux types de logements, bien que des corrélations positives aient précédemment été établies entre l'âge des oiseaux en couvoirs et en élevage de poulets de chair et les concentrations de bactéries dans l'air (Bródka *et al.*, 2012; Lawniczek-Walczyk *et al.*, 2013). Gustafsson et Wachenflet (2006) n'ont, par contre, pas trouvé d'association entre les concentrations de matière particulaire et l'âge des poules pondeuses. L'absence d'effet dans les élevages de poules pondeuses est peut-être dû au stade de croissance (poids) des poules, relativement stable pendant le cycle d'élevage comparativement à celui des poulets de chair.

De plus hautes concentrations de matières particulaires et d'autres bioaérosols ont également été rapportées dans les poulaillers pendant les saisons plus froides (Basinas *et al.*, 2015; Takai *et al.*, 1998), et attribuées aux taux de ventilation plus bas nécessaires pour préserver la chaleur dans les élevages. Des résultats similaires ont été observés dans le présent projet, avec des concentrations plus élevées de bactéries et d'archées totales dans les échantillons de la saison froide. La contribution de la ventilation dans le présent projet ne peut toutefois qu'être inférée, puisque les taux de ventilation n'ont pas été mesurés dans le cadre de l'objectif 1b.

5.2.2 Analyse de la diversité bactérienne

La diversité bactérienne des échantillons d'air provenant de colonies enrichies et de volières reflète les communautés de bactéries associées aux principales sources de bioaérosols dans les poulaillers (ex. : poules, nourriture, fientes, litière). La présence de litière et l'accumulation des fientes au cours du cycle de production dans les volières ont ainsi eu un effet sur la diversité bactérienne retrouvée dans l'air et ont contribué à la différence observée entre les populations de bactéries des colonies enrichies et des volières.

Un plus grand nombre d'UTO par échantillon (richesse spécifique) a été trouvé dans les volières, comparativement aux colonies enrichies. Toutefois, aucune différence significative n'a été observée entre les indices de Shannon des échantillons d'air de colonies enrichies, par rapport à ceux provenant de volières, suggérant que la richesse et l'uniformité des espèces sont similaires dans l'air des deux types de logements, bien que la richesse spécifique soit plus élevée dans les échantillons d'air de volières. Aucune différence significative n'a été observée entre les indices de diversité alpha des autres groupes d'échantillons (saison froide vs saison chaude, début vs fin du cycle de production) dans les deux types de poulaillers.

Les phylums les plus abondants retrouvés dans les poulaillers sont en accord avec ceux précédemment rapportés dans l'air de poulaillers pour poules pondeuses (Cui *et al.*, 2023). La dominance des *Firmicutes* (*Bacillota*) dans l'air des poulaillers est possiblement due à leur grande abondance dans les fientes des poules pondeuses (Dai *et al.*, 2022). Les phylums *Bacteroidota*, *Proteobacteria* et *Fusobacteria* sont d'autres phylums abondants dans le microbiote intestinal des poules pondeuses (Dai *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2023) pendant leur période de ponte maximale (30 à 50 semaines de vie) (Dai *et al.*, 2022).

Parmi les genres bactériens les plus abondants dans l'air des poulaillers de l'étude, les genres *Lactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Lachnospiraceae* non classifiés, *Romboutsia*, *Bacteroides*, [*Rumonococcus*] torques group, *Faecalibacterium*, *Salinicoccus*, *Fusobacterium*, *Ligilactobacillus* et *Jeotgalicoccus* ont déjà été associés au microbiote intestinal, caecal ou fécal des poules pondeuses (Cui *et al.*, 2023; Goodfellow *et al.*, 2012; Holdeman et Moore, 1974; Khan *et al.*, 2020; Rychlik, 2020; Vos *et al.*, 2009; Zheng *et al.*, 2020). Le genre *Corynebacterium* est retrouvé dans les microbiotes intestinal et cutané des poules (Cui *et al.*, 2023; Goodfellow *et al.*, 2012), alors que les bactéries des genres *Staphylococcus* et *Streptococcus* sont liés à la flore cutanée et à celle des muqueuses des animaux à sang chaud (Vos *et al.*, 2009). *Brevibacterium*, *Bacillus* et la classe *Clostridia* composent le microbiote cutané et intestinal des oiseaux, ainsi que les communautés bactériennes du sol (Goodfellow *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2020; Vos *et al.*, 2009). Parmi les 20 genres les plus abondants, trois d'entre eux étaient seulement associés au sol et à la litière des volières, soit *Yaniella*, *Clostridium sensus stricto 1* et

Brachybacterium (Goodfellow *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2023). La flore des fientes, de la peau et des muqueuses des oiseaux, ainsi que du sol ont ainsi été les principaux contributeurs à la diversité bactérienne de l'air des poulaillers du présent projet. Comme attendu, une différence significative a été observée entre les diversités bactériennes des bioaérosols de colonies enrichies et celles des volières. Les bactéries généralement associées au microbiote intestinal et fécal ont été retrouvées tant en colonies enrichies qu'en volières, alors que les bactéries liées au microbiote cutané étaient plus abondantes en volières. La plus grande abondance de bactéries associées à la peau des oiseaux est peut-être due à la plus grande liberté de mouvement des oiseaux en volières, grâce à laquelle les oiseaux peuvent exprimer des comportements favorisant l'aérosolisation de bactéries retrouvées sur leur peau (ex. : envol, toilettage, bain de poussières). Des différences entre la diversité bactérienne au début du cycle de production et à la fin du cycle de production ont été observées dans les deux types de poulaillers. Les bactéries du genre *Staphylococcus* et des bactéries d'origine fécale ont été trouvées en plus grande abondance au début du cycle d'élevage, puis les bactéries d'origine fécale sont devenues plus abondantes à la fin du cycle d'élevage. En volières, l'abondance des bactéries associées à la flore cutanée est restée similaire entre le début et la fin du cycle d'élevage. Le changement observé en colonies enrichies peut possiblement être expliqué par l'accumulation de matières fécales au cours du cycle de production sur les différents équipements des poulaillers. La présence de *Staphylococcus lentus* et de *Staphylococcus equorum* en grande abondance dans les bioaérosols peut quant à elle être attribuée à la desquamation des poules. Bien que les fientes soient une source de bactéries dans les bioaérosols de poulaillers, les changements observés dans la diversité en bactéries de l'air ne reflétaient pas en totalité les changements de la microflore intestinale des poules pondeuses (Dai *et al.*, 2022), puisque les *Firmicutes* sont demeurés le phylum principal et n'ont pas été supplantés par les *Bacteroidota*.

5.2.3 Forces et limites de l'objectif 1b

L'échantillonnage de douze colonies enrichies et de douze volières commerciales à de multiples moments pendant le cycle d'élevage a permis l'obtention d'un important jeu de données permettant d'établir un portrait plus précis de certains bioaérosols dans deux types de poulaillers. Toutefois, comme les saisons et les mois de l'année n'étaient pas des facteurs contrôlés dans cette étude, davantage d'études seraient nécessaires pour déterminer l'effet et les possibles interactions entre ces facteurs et l'âge des troupeaux sur les bioaérosols des élevages. La mesure des taux de ventilations pendant les échantillonnages serait pertinente pour déterminer son effet sur les concentrations de bioaérosols à l'intérieur des poulaillers.

Comme les poulaillers visités pour ce projet étaient situés dans la province de Québec, sauf une colonie enrichie située en Ontario, les données présentées dans la présente étude ne pourraient pas nécessairement être extrapolées à tous les élevages de même type au Canada, par la différence de pratiques et de climats. L'utilisation de méthodes

moléculaires pour quantifier les bactéries totales et les archées totales a permis de passer outre les limitations des méthodes dépendant de la culture, lesquelles représenteraient un défi pour répondre aux objectifs du projet. En effet, l'échantillonnage de l'air peut poser un stress pour les microorganismes, alors que la plupart des bactéries ne sont pas cultivables et que la culture des archées est fastidieuse (Delort et Amato, 2018). Toutefois, la quantification par qPCR ne donne pas de renseignement sur la viabilité des microorganismes et s'ils peuvent infecter des hôtes. Enfin, le séquençage haut débit d'amplicon gène de l'ARNr 16S pour caractériser la diversité bactérienne induit un biais vers les taxons les plus abondants, au détriment des taxons les moins abondants.

5.3 Objectif 2 : Évaluation de la santé respiratoire de personnes travaillant dans l'industrie ovocole

5.3.1 Description des cohortes à l'étude

L'objectif 2 a permis d'évaluer la santé respiratoire de personnes travaillant dans l'industrie ovocole. Vingt-cinq personnes travaillant en production d'œufs ont été recrutées et 16 personnes n'ayant jamais été exposées aux bioaérosols d'activités agricoles ont été recrutées et jumelées selon le sexe, l'âge et le statut tabagique aux producteurs et productrices d'œufs. Bien que le nombre de personnes non exposées soit inférieur au nombre de producteurs et productrices d'œufs, les données des deux cohortes ont été comparées.

La cohorte en production d'œufs (complète et le sous-échantillon des personnes productrices jumelées aux personnes non exposées) présente un ratio de personnes de sexe féminin et de personnes de sexe masculin similaire au ratio recensé au Québec, toutes activités agricoles confondues (F : 27,65 %; M : 72,35 %) (Aclan et Chen, 2022; Statistics Canada, 2022b), autant dans la cohorte pairée (31,25 %, 5 personnes sur 16 de sexe féminin) que pour la cohorte complète en production d'œufs (20 %, 5 personnes sur 25 de sexe féminin). L'âge moyen de la cohorte complète ($42 \pm 10,40$ ans, moyenne \pm écart-type) et du sous-échantillon pairé ($46,25 \pm 10,62$ ans, moyenne \pm écart-type), tous sexes confondus, est inférieur à l'âge moyen recensé au Québec (54 ans), toutes activités agricoles confondues. Le nombre d'heures travaillées hebdomadairement moyen dans la cohorte en production d'œufs ($38,22 \pm 10,95$ heures par semaine) et du sous-échantillon pairé ($32,28 \pm 16,08$ heures par semaine) reflète partiellement le nombre d'heures travaillées le plus recensé (40 h et plus : 40 % des répondants et répondantes), tous secteurs agricoles confondus (Statistics Canada, 2022a).

La cohorte en production d'œufs se démarque également par une plus grande proportion de personnes ayant été exposées à des matières polluantes pendant l'exercice d'un précédent métier (6 personnes sur 16), comparée à la cohorte non exposée aux bioaérosols d'activités agricoles, seules deux personnes non exposées ayant été en contact avec des matières polluantes.

Parmi les tâches réalisées en production d'œufs, la collecte des œufs est la tâche la plus communément rapportée par les membres de la cohorte, et celle pour laquelle le plus de temps est alloué chaque semaine. La collecte des œufs à l'intérieur du poulailler est généralement automatisée, en logement conventionnel et en colonies enrichies (Les Producteurs d'œufs du Canada et Conseil national pour le soin des animaux d'élevage, 2017), puis le classement et la mise sur plateau des œufs sont ensuite réalisés par les travailleurs et les travailleuses dans une salle adjacente soit sans exposition directe aux bioaérosols à l'intérieur du poulailler. Le lieu du tri des œufs est ainsi important à préciser dans la détermination de l'exposition des personnes travaillant en production d'œufs. Les activités en contact avec le troupeau (tournée générale, dépeuplement) et génératrices d'aérosols (ex. : balayage, nettoyage à l'air comprimé, distribution manuelle de la nourriture) sont plus brèves que la collecte des œufs, soit entre moins de 15 heures par semaine et moins de 10 heures par semaine. Le dépeuplement du poulailler est quant à lui une tâche se déroulant ponctuellement, à la fin d'un cycle d'élevage (moins de deux ans). Le port de masque rapporté par les producteurs et productrices d'œufs est associé à des tâches générant explicitement des poussières visibles, telles que le nettoyage à l'air comprimé et l'écurage, le balayage, la manutention du foin (et autres tâches agricoles) et la tournée générale. L'exposition aux bioaérosols a ainsi lieu principalement pendant des activités génératrices de bioaérosols et pendant les activités normales du poulailler (lors des tournées), avec une fréquence de port de protection respiratoire variant entre les tâches et les personnes recensées.

5.3.2 Résumé des résultats, limites de l'étude et perspectives

Des personnes n'ayant pas été en contact avec des bioaérosols agricoles ont été recrutées en fonction de leur pairage avec des membres de la cohorte travaillant en production d'œufs, en fonction du sexe et du statut tabagique (tabagisme actuel et tabagisme ancien). Le nombre de paquet année n'étant pas un facteur de sélection des sujets non exposés, une certaine différence est observée entre la consommation présente ou passée entre les cohortes.

Une plus grande proportion de personnes non exposées aux bioaérosols agricoles ont déclaré des allergies non médicamenteuses connues et de l'eczéma. Cependant, une plus grande proportion de producteurs d'œufs a déclaré des symptômes respiratoires quotidiens, ceux-ci s'améliorant lors de périodes sans travail (ex. : congé) chez 83 % d'entre eux. Une plus grande proportion de symptômes de rhinite, de symptômes oculaires et de taux de positivité aux allergènes à la suite des tests cutanés a également été rapportée chez les travailleurs et travailleuses ovocoles.

La réalisation d'essais ELISA ciblant des antigènes d'*Aspergillus* sp., de *Penicillium* sp. et de *Saccharopolyspora rectivirgula* susceptibles d'être retrouvés dans les poulaillers (au niveau de la matière organique composant la litière) ont été envisagés et inclus dans la proposition de projet initiale afin de révéler la présence dans le sang d'immunoglobulines

G spécifiques aux antigènes, indiquant alors l'exposition des travailleurs et travailleuses à ces moisissures et à l'actinomycète. Les moisissures *Aspergillus* sp. et *Penicillium* sp n'ont toutefois pas été retrouvées dans l'air en concentrations importantes (moins 100 par mètre cube d'air) tant par culture que par qPCR. De plus, la bactérie *Saccharopolysporas rectivirgula* n'a pas été trouvée par séquençage haut débit dans le cadre de l'objectif 1a et en minorité dans le jeu de données de l'objectif 1b (393^e UTO le plus abondant). Ainsi, *Saccharopolyspora rectivirgula* ne semble pas être un microorganisme majeur dans l'air des poudrins classiques et des poudrins alternatifs. La litière des volières, bien qu'elle contienne de la matière organique fraîche, ne semble pas subir une transformation similaire au compostage, comme le foin des élevages laitiers (Blais-Lecours *et al.*, 2012; Duchaine *et al.*, 1999), et ainsi s'enrichir en moisissures et en *Saccharopolysporas rectivirgula*. En effet, le compostage n'a pas lieu puisque la litière utilisée en volière n'est peu ou pas renouvelée en matière organique, et est ainsi remplacée par des fientes et des plumes, dans les élevages au cours du cycle de ponte. Dans le cadre de la réalisation de l'objectif 2 du projet, l'évaluation de la présence d'immunoglobulines G spécifiques aux antigènes d'*Aspergillus*, de *Penicillium* et de *Saccharopolysporas rectivirgula* dans le sérum des travailleurs et travailleuses par essais ELISA n'a donc pas été jugée pertinente. Les cytokines inflammatoires contenues dans le sérum des producteurs et productrices d'œufs seront plutôt mesurées dans le cadre de la réalisation d'un autre projet afin de révéler si les producteurs et productrices d'œufs souffrent d'inflammation chronique. La compilation et l'interprétation des analyses des diversités bactériennes de la flore du nasopharynx sont en cours. Les résultats (cytokines inflammatoires dans les sérums, flores de bactéries du nasopharynx) seront publiés dans une revue scientifique et déposées sur la plateforme de l'IRSST, PhareSST (<https://pharesst.irsst.qc.ca/>). Concernant la spirométrie, aucune différence significative n'a été retrouvée entre les deux groupes.

La portée des résultats de l'objectif 2 est toutefois limitée par le nombre de participants et de participantes à l'étude soit 25 producteurs et productrices d'œufs et 16 personnes non exposées aux bioaérosols d'activités agricoles. Initialement, 10 personnes travaillant en poulailler conventionnel, 10 personnes travaillant en colonies enrichies, 10 personnes travaillant en volière et 30 personnes non exposées devaient être recrutées pour la réalisation de l'objectif 2, soit un jeu de données permettant une représentativité de chaque type de milieu de travail en poulailler et l'obtention des données exploratoires sur l'effet des bioaérosols sur la santé respiratoire des travailleurs et travailleuses de l'industrie ovicole.

Les résultats de ce volet sont partiellement en accord avec de précédentes recherches effectuées sur des personnes travaillant dans l'industrie ovicole et avicole. Celles-ci déclarent fréquemment des symptômes respiratoires aigus et chroniques liés au travail (toux, sifflement, sécrétions, etc.) (Kiryuchuk *et al.*, 2006; Kiryuchuk *et al.*, 2003; Stahuljak-Beritić *et al.*, 1977; Viegas *et al.*, 2013; Zuskin *et al.*, 1995), ainsi que des symptômes nasaux, oculaires ou cutanés (Rimac *et al.*, 2010). Cependant, aucune différence

significative au niveau des fonctions respiratoires n'a été observée entre les personnes travaillant en production ovicole et la cohorte contrôle, alors qu'une diminution des fonctions respiratoires a autrefois été observée chez les personnes travaillant dans l'industrie avicole et en agriculture, par rapport à la population générale, particulièrement suivant une journée de travail (Donham, 1986; Donham *et al.*, 1990; Kirychuk *et al.*, 2006; Kirychuk *et al.*, 2003; Senthilselvan *et al.*, 2011; Zuskin *et al.*, 1995). Nos conclusions sont cependant limitées par le faible nombre de participants et participantes ayant réalisé une spirométrie valable. De plus, dans le cadre de la présente étude, les tests de spirométrie ont été réalisés le matin, plutôt qu'en fin de journée. Il serait pertinent, dans le cadre d'une future étude, d'analyser les fonctions respiratoires d'une plus grande proportion de travailleurs et travailleuses, en début et en fin de journée.

De multiples efforts de recrutement ont été déployés au cours du présent projet. Notamment, avec la collaboration de Madame Nathalie Gaulin de la Fédération des producteurs d'œufs du Québec (FPOQ), deux appels à recrutement ont été publiés pendant l'année 2022 et l'année 2023 par courriel. Le projet a également été présenté à la Fédération lors de la réunion du comité de recherche de la FPOQ le 9 décembre 2022, sous la forme d'une affiche. Il y a eu aussi des efforts de recrutement pendant l'assemblée générale annuelle de la Fédération le 5 avril 2023 et pendant la présentation de vulgarisation « Qualité de l'air dans les pondoires classiques et alternatifs : Investigation et recherche de solutions » au Rendez-vous Avicole de l'Association québécoise des industries de nutrition animale et céréalière (AQINAC) le 15 novembre 2023. Le recrutement de plus grandes cohortes est nécessaire afin de valider les observations préliminaires obtenues, et d'évaluer l'effet du travail en production d'œufs sur la santé respiratoire.

5.4 Objectif 3 : Effet des stratégies de mitigation des poussières et de l'ammoniac sur les bioaérosols

5.4.1 Effet des stratégies de mitigation sur les émissions de poussières en volières expérimentales

Les méthodes de mitigation incluant l'aspersion d'émulsion d'huile sur la litière (1,17 L/m²/semaine ou 0,585 L/m² par aspersion) ont contribué à une réduction significative des émissions de poussières, par rapport aux conditions contrôles. Le plancher chauffant (27 °C) sous la litière et l'aspersion d'émulsion d'huile sur la litière (PC+H) ont résulté en la plus importante réduction d'émissions de poussières. L'émulsion d'huile a possiblement contribué à l'agglomération de la litière, diminuant ainsi l'aérosolisation de particules de litière, et le chauffage de la litière a pu faciliter l'adhésion de l'huile sur la litière. L'addition de biocharbon dans la litière a pu contribuer à une plus importante émission de particules de poussières. Toutefois, comme les stratégies étaient des combinaisons de traitements, la contribution de chaque traitement individuellement

(ex. : contribution de l'aspersion d'émulsion d'huile seulement) ou toute interaction entre ces derniers est impossible à déterminer.

L'efficacité de réduction des poussières par les stratégies utilisant l'aspersion d'une émulsion d'huile (PC+H et ABS+H) est similaire à celle précédemment reportée à l'échelle expérimentale (Chai *et al.*, 2017). Chai *et al.* (2017) ont aspergé de l'eau acide électrolysée à un dosage de 75 mL/kg de litière sèche par jour, pour obtenir une réduction de 89 % \pm 1 % des poussières de toutes les fractions, 30 minutes après l'aspersion, et une réduction de 83 % \pm 1 % des émissions de poussières de toutes les fractions 25 h à la suite de l'aspersion. Dans une autre étude, l'aspersion de 25 mL d'eau neutre électrolysée contenant du sulfate (93,2 % de sulfate d'hydrogène et 6,5 % de sulfate de sodium, par kg de litière sèche par jour) a résulté en une réduction de 70 % des différentes fractions de poussières après la première aspersion (Chai, Xin, *et al.*, 2018). De façon similaire, l'aspersion de 600 mL d'eau par m² de litière a contribué à 64 % de réduction des PM₁₀ et PM_{2,5} (Ogink *et al.*, 2012). Cependant, l'aspersion d'eau seule a résulté en une augmentation des émissions d'ammoniac, et ainsi a eu un effet sur la qualité de l'air (Ogink *et al.*, 2012).

Cependant, l'effet des stratégies de mitigation sur les bioaérosols en volières expérimentales n'a pas pu être déterminé avec certitude, compte tenu des faibles concentrations initiales de bactéries et de moisissures cultivables. Les faibles niveaux d'humidité relative (10 à 37 %) et les hauts taux de ventilation (2 m³/min) dans les chambres expérimentales ont possiblement contribué aux faibles concentrations de bactéries et de moisissures cultivables. En effet, de faibles niveaux d'humidité relative réduisent la survie des microorganismes dans l'air (Delort et Amato, 2018), alors que la ventilation dilue les contaminants dans l'air (Takai et Pedersen, 2000; Takai *et al.*, 1998).

Les effets des stratégies de mitigation sur les émissions de bioaérosols étaient variables selon les agents biologiques à l'étude. La réduction des émissions de poussières ne s'est donc pas traduite en une réduction de tous les constituants des bioaérosols. Les poussières n'étant pas un proxy des bioaérosols, un suivi de différents constituants des bioaérosols est ainsi nécessaire pour évaluer l'effet réel des stratégies de mitigation des poussières et de l'ammoniac sur les microorganismes ou leurs fragments.

5.4.2 Effet de l'aspersion d'une émulsion d'huile sur la litière sur les concentrations de poussières et de bioaérosols en volière commerciale

L'aspersion d'une émulsion d'huile sur la litière (0,5 L/m² par aspersion) en volière commerciale a résulté en une réduction des concentrations de fractions de poussières d'environ 50 %, mais il n'y a eu aucun effet significatif sur les endotoxines, les bactéries totales (qPCR EUB) ou sur les moisissures (qPCR *PenAsp*) présentes dans l'air. Des réductions similaires des poussières à la suite de l'aspersion d'eau ont été obtenues en élevage animal (poules pondeuses ou porcs, de 18 à 75 %) (Chai *et al.*, 2019; Ogink *et*

al., 2012; Takai et Pedersen, 2000). Contrairement aux résultats du présent projet, l'aspersion d'eau acide électrolysée ou d'eau neutre électrolysée a pu significativement réduire jusqu'à 57 % les concentrations de bactéries cultivables dans l'air (Chai, Zhao, *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2013; Zheng *et al.*, 2014).

Les résultats obtenus à ce jour à l'échelle expérimentale et commerciale semblent suggérer la nécessité d'asperger régulièrement la litière dans l'élevage afin d'observer un effet significatif sur les poussières dans l'air. La faisabilité d'une application en continu des stratégies de mitigation en élevage commercial demeure toutefois à déterminer. Par exemple, la plupart des stratégies ont été utilisées pendant quelques heures à quelques mois (Chai *et al.*, 2019; Chai *et al.*, 2017; Chai, Zhao, *et al.*, 2018) (Ogink *et al.*, 2012; Takai et Pedersen, 2000; Zheng *et al.*, 2014), soit pendant une période plus brève qu'un cycle de production complet en poulailler commercial. Ainsi, la persistance de l'effet des stratégies de mitigation pendant plus de 60 semaines reste à déterminer. L'usage de différentes unités telles que les mL/kg de litière sèche/jour (Chai *et al.*, 2017), mL/m²/cm épaisseur de litière (Chai *et al.*, 2019), mL/m² de litière (Ogink *et al.*, 2012; Zheng *et al.*, 2014), ainsi que les différentes fréquences d'application des traitements compliquent la comparaison de l'efficacité des stratégies de mitigation et l'applicabilité de celles-ci par les producteurs et productrices d'œufs.

Les résultats du présent projet montrent que l'aspersion d'une émulsion d'huile sur la litière est une stratégie prometteuse pour réduire les concentrations de poussières dans les volières pour poules pondeuses, mais qu'une optimisation du dosage et de la fréquence d'application est nécessaire pour obtenir des résultats significatifs et persistants. L'effet de la stratégie sur les bioaérosols semble toutefois plus variable et peut s'expliquer par la présence des bioaérosols des fractions de poussières (tailles de particules) moins affectées par l'aspersion.

CONCLUSION

La réalisation des objectifs du présent projet a permis d'évaluer l'effet des logements alternatifs (colonies enrichies et volières) pour poules pondeuses sur la qualité de l'air et les bioaérosols (objectifs 1a et 1b), d'évaluer la santé respiratoire de personnes travaillant dans l'industrie ovicole (objectif 2), et de tester des stratégies de mitigation des poussières et de l'ammoniac en volières, tant à l'échelle expérimentale que commerciale (objectif 3).

Les travaux de l'objectif 1 ont mis en évidence :

- La présence de concentrations plus élevées de poussières et d'endotoxines dans les volières (logements alternatifs sans cages) comparées aux logements conventionnels et aux colonies enrichies (objectif 1a);
- Des concentrations d'endotoxines dans l'air des 18 poulaillers à l'étude, supérieures à la valeur d'exposition en milieu de travail recommandée par le Dutch Committee of Occupational Safety, soit 90 UE/m³ (objectif 1a);
- Une influence du type d'élevage sur la nature des bactéries retrouvées dans l'air, avec l'air des volières montrant des différences significatives avec l'air des logements conventionnels et des colonies enrichies, les différences relevées étant toutefois attribuables aux différentes proportions des genres bactériens plutôt qu'à la présence ou l'absence d'un microorganisme (objectif 1a);
- La présence de hautes concentrations de bactéries totales et d'archées totales dans les bioaérosols de 12 colonies enrichies et de 12 volières, le type de poulailler et la saison ayant eu un effet significatif sur les concentrations, avec des concentrations plus élevées présentes dans les volières et pendant la saison froide (mois d'octobre au mois de mai, inclusivement) pour les 2 types de logement (objectif 1b);
- L'influence de l'âge des troupeaux sur la diversité bactérienne retrouvée dans l'air des colonies enrichies et des volières indiquant un changement dans la composition bactérienne des sources de bioaérosols, une différence dans l'activité des oiseaux et l'accumulation de fientes au cours du cycle de production. Bien que similaire entre les colonies enrichies et les volières, des différences significatives dans la composition bactérienne des bioaérosols ont de plus été observées entre les deux types de poulaillers (objectif 1b).

Une suite aux travaux de l'objectif 1 est nécessaire puisque le présent projet n'a pas évalué l'exposition occupationnelle réelle en poulaillers conventionnels et alternatifs via le port d'échantillonneurs d'air par les producteurs ou productrices d'œufs (échantillonnage personnel). Le risque pour leur santé respiratoire dépend entre autres de leurs tâches quotidiennes et de leur durée d'exposition aux poussières et bioaérosols de l'élevage. La présence dans l'air d'agents pathogènes, pertinents tant pour la santé humaine que celle

des troupeaux d'oiseaux (ex. : agent étiologique de l'entérite nécrotique), est de plus à explorer. Le contenu de l'air (bioaérosols) est possiblement un bon proxy du statut sanitaire d'un élevage.

Dans le cadre de la réalisation de l'objectif 2, les données obtenues de 25 personnes travaillant en production d'œufs et de 16 personnes n'ayant jamais été exposées à des bioaérosols d'activités agricoles, et leur jumelage en fonction du sexe, de l'âge et du statut tabagique, ont permis d'obtenir des résultats exploratoires sur la présence de symptômes respiratoires, généraux, nasaux et oculaires ainsi que d'allergies chez les deux cohortes :

- Les producteurs et productrices d'œufs ont déclaré davantage de symptômes respiratoires liés au travail que la cohorte non exposée;
- Et ont montré un plus grand taux de positivité aux allergènes du test d'allergie cutané.

Le faible nombre de volontaires recrutés pour l'objectif 2 n'a pas permis la comparaison des statuts de santé entre les types d'élevage. Cependant, en tant que groupe de travailleurs et travailleuses, des observations très pertinentes ouvrent la voie à une étude plus élargie chez cette population. Le recrutement d'un plus grand nombre de participants et de participantes pourrait permettre de confirmer ou d'infirmer les observations et d'investiguer l'effet du type de logement sur la santé respiratoire des personnes travaillant dans l'industrie ovicole.

Les volières présentant de plus hautes concentrations de poussières et d'ammoniac, la réalisation de l'objectif 3 a permis d'évaluer des stratégies de mitigation des poussières et de l'ammoniac pour améliorer la qualité de l'air.

En volières expérimentales :

- Les combinaisons d'un plancher chauffant sous la litière et de l'aspersion d'une émulsion d'huile sur la litière (PC+H), l'ajout de biocharbon absorbant dans la litière et l'aspersion d'une émulsion d'huile sur la litière (ABS+H) ont permis de réduire de façon significative les émissions de poussières (PM_{2,5}, PM₁₀ et de poussières totales);
- L'effet des stratégies sur les émissions de bioaérosols a toutefois été variable.

En volières commerciales :

- L'aspersion d'une émulsion d'huile a permis d'obtenir des résultats prometteurs concernant la réduction des concentrations de poussières (PM_{2,5}, PM₁₀ et poussières totales);
- Aucun effet significatif n'a toutefois été observé sur les endotoxines, les bactéries totales (qPCR EUB) et les moisissures (qPCR PenAsp). Celles-ci étaient possiblement associées aux particules moins affectées par l'aspersion d'émulsion d'huile.

Les résultats de l'objectif 3 démontrent l'importance d'optimiser le dosage et la fréquence d'application de l'émulsion d'huile afin de transposer la stratégie de mitigation, de l'échelle expérimentale à l'échelle commerciale. De plus, la stratégie de mitigation des poussières et de l'ammoniac doit être sécuritaire pour les troupeaux, pour les personnes sur le milieu de travail et non dommageable pour les équipements de l'élevage (ex. : effet corrosif de l'émulsion).

Le présent projet a ainsi évalué l'effet des poulaillers alternatifs sur les poussières et les bioaérosols, et présente de possibles stratégies pour améliorer la qualité de l'air dans les poulaillers ayant des concentrations importantes de poussières. Elle met également en lumière l'importance du choix des proxys (marqueurs) pour l'évaluation de la qualité microbiologique de l'air, l'influence du type de poulailler ayant eu un effet différent sur les multiples agents biologiques à l'étude. Une caractérisation plus approfondie de l'exposition réelle aux bioaérosols des travailleurs et des travailleuses lors de leurs tâches quotidiennes, de diverses saisons (différents taux de ventilation) et à différents moments au cours du cycle d'élevage (effet des poussières sédimentées sur les équipements) est nécessaire afin de préciser le risque sur leur santé. La présence d'agents pathogènes humains dans l'air des poulaillers alternatifs est aussi à considérer.

BIBLIOGRAPHIE

- Abrahamsson, P., Fossum, O. et Tauson, R. (1998). Health of laying hens in an aviary system over five batches of birds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 39(3), 367-379. <https://doi.org/10.1186/BF03547785>
- Aclan, S. et Chen, Z. J. (2022). *Female farm operator numbers increase for the first time in 30 years*. Statistics Canada.
- Agunos, A., Gow, S. P., Léger, D. F., Flockhart, L., Daignault, D., Desruisseau, A., . . . Reid-Smith, R. J. (2021). Antimicrobial resistance and recovery of *Salmonella*, *Campylobacter*, and *Escherichia coli* from chicken egg layer flocks in Canadian sentinel surveillance sites using 2 types of sample matrices. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 85(1), 27-35.
- Al-Homidan, I., Fathi, M. M. et Al-Shumaymiri, A. (2018). Chopped palm leaves as an acceptable bedding material for broiler production. *The Journal of Applied Poultry Research*, 27(1), 59-64. <https://doi.org/10.3382/japr/pfx040>
- Appleby, M. C. et Hughes, B. O. (1991). Welfare of laying hens in cages and alternative systems: Environmental, physical and behavioural aspects. *World's Poultry Science Journal*, 47(2), 109-128. <https://doi.org/10.1079/WPS19910013>
- Arndt, M. H. (1931). *Battery brooding: A complete exposition of the important facts concerning the successful operation and handling of the various types of battery brooders*. Orange Judd Publishing Company.
- Arteaga, V., Mitchell, D., Armitage, T., Tancredi, D., Schenker, M. et Mitloehner, F. (2015). Cage versus noncage laying-hen housings: Respiratory exposures. *Journal of Agromedicine*, 20(3), 245-255. <https://doi.org/10.1080/1059924X.2015.1044681>
- Bach, H. J., Tomanova, J., Schloter, 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 Microbiological Methods*, 49(3), 235-245. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(01\)00370-0](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(01)00370-0)
- Baker, G. C., Smith, J. J. et Cowan, D. A. (2003). Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *Journal of Microbiological Methods*, 55(3), 541-555. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2003.08.009>
- Bari, M. S., Kheravii, S. K., Bajagai, Y. S., Wu, S.-B., Keerqin, C. et Campbell, D. L. M. (2022). Cecal microbiota of free-range hens varied with different rearing enrichments and ranging patterns. *Frontiers in Microbiology*, 12, article 797396. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.797396>
- Basinas, I., Sigsgaard, T., Kromhout, H., Heederik, D., Wouters, I. M. et Schlünssen, V. (2015). A comprehensive review of levels and determinants of personal exposure to dust and

- endotoxin in livestock farming. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, 25(2), 123-137. <https://doi.org/10.1038/jes.2013.83>
- Basomba, A., Sastre, A., Peláez, A., Romar, A., Campos, A. et Gwarcía-Villalmanzo, A. (1985). Standardization of the prick test. *Allergy*, 40(6), 395-399. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1985.tb02677.x>
- Bergeron, K., Rossi, F., Létourneau, V., Larios, A. D., Godbout, S., Fournel, S. et Duchaine, C. (2024). Bioaerosols in Eastern Canadian dairy barns using tie- and free-stall housing. *Applied Engineering in Agriculture*, 40(1), 111-122. <https://doi.org/10.13031/aea.15720>
- Bindari, Y. R., Moore, R. J., Van, T. T. H., Walkden-Brown, S. W. et Gerber, P. F. (2021). Microbial taxa in dust and excreta associated with the productive performance of commercial meat chicken flocks. *Animal Microbiome*, 3(1), article 66. <https://doi.org/10.1186/s42523-021-00127-y>
- Blais-Lecours, P., Duchaine, C., Taillefer, M., Tremblay, C., Veillette, M., Cormier, Y. et Marsolais, D. (2011). Immunogenic properties of archaeal species found in bioaerosols. *PLOS ONE*, 6(8), article e23326. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023326>
- Blais-Lecours, P., Veillette, M., Marsolais, D. et Duchaine, C. (2012). Characterization of bioaerosols from dairy barns: Reconstructing the puzzle of occupational respiratory diseases by using molecular approaches. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(9), 3242-3248. <https://doi.org/10.1128/AEM.07661-11>
- Bottcher, R. W., Keener, K. M., Munilla, R. D., Williams, C. M. et Schiffman, S. S. (2004). Dust and odor emissions from tunnel ventilated swine buildings in North Carolina and comparison of different odor evaluation methods. *Applied Engineering in Agriculture*, 20(3), 343-347. <https://doi.org/10.13031/2013.16064>
- Breed, R. S. et Dotterrer, W. D. (1916). The number of colonies allowable on satisfactory agar plates. *Journal of Bacteriology*, 1(3), 321-331. <https://doi.org/10.1128/jb.1.3.321-331.1916>
- Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. T., et Garrity, G. M. (édit.). (2005). *Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 2, part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria* (2^e éd.). Springer.
- Bródka, K., Kozajda, A., Buczyńska, A. et Szadkowska-Stańczyk, I. (2012). The variability of bacterial aerosol in poultry houses depending on selected factors. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 25(3), 281-293. <https://doi.org/10.2478/s13382-012-0032-8>
- Cambra-López, M., Aarnink, A. J. A., Zhao, Y., Calvet, S. et Torres, A. G. (2010). Airborne particulate matter from livestock production systems: A review of an air pollution problem. *Environmental Pollution*, 158(1), 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.07.011>

- Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., . . . Knight, R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7(5), 335-336. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>
- Chai, L., Xin, H., Wang, Y., Oliveira, J., Wang, K. et Zhao, Y. (2019). Mitigating particulate matter generation in a commercial cage-free hen house. *Transactions of the ASABE*, 62(4), 877-886. <https://doi.org/10.13031/trans.12982>
- Chai, L., Xin, H., Zhao, Y., Wang, T., Soupir, M. et Liu, K. (2018). Mitigating ammonia and PM generation of cage-free henhouse litter with solid additive and liquid spray. *Transactions of the ASABE*, 61(1), 287-294. <https://doi.org/10.13031/trans.12481>
- Chai, L., Zhao, Y., Xin, H., Wang, T., Atilgan, A., Soupir, M. et Liu, K. (2017). Reduction of particulate matter and ammonia by spraying acidic electrolyzed water onto litter of aviary hen houses: A lab-scale study. *Transactions of the ASABE*, 60(2), 497-506. <https://doi.org/10.13031/trans.12081>
- Chai, L., Zhao, Y., Xin, H., Wang, T. et Soupir, M. L. (2018). Mitigating airborne bacteria generations from cage-free layer litter by spraying acidic electrolysed water. *Biosystems Engineering*, 170, 61-71. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2018.03.013>
- Chao, A. (1984). Nonparametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics*, 11(4), 265-270.
- Chao, A. et Bunge, J. (2002). Estimating the number of species in a stochastic abundance model. *Biometrics*, 58(3), 531-539. <https://doi.org/10.1111/j.0006-341X.2002.00531.x>
- Clarke, K. R. (1993). Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*, 18(1), 117-143. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x>
- Comeau, A. M., Li, W. K. W., Tremblay, J.-É., Carmack, E. C. et Lovejoy, C. (2011). Arctic ocean microbial community structure before and after the 2007 record sea ice minimum. *PLOS ONE*, 6(11), article e27492. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027492>
- Council Directive 1999/74/EC of 19 July 1999 laying down minimum standards for the protection of laying hens*, 1999 O. J. E. C. (L 203), 53-57.
- Cui, H., Zhang, C., Zhao, K., Liu, J., Pu, J., Kong, Y., . . . Guo, Z. (2023). Effects of different laying periods on airborne bacterial diversity and antibiotic resistance genes in layer hen houses. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 251, article 114173. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2023.114173>
- Dai, D., Qi, G.-H., Wang, J., Zhang, H.-J., Qiu, K. et Wu, S.-G. (2022). Intestinal microbiota of layer hens and its association with egg quality and safety. *Poultry Science*, 101(9), article 102008. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102008>

- David, B., Mejdell, C., Michel, V., Lund, V. et Moe, R. O. (2015). Air quality in alternative housing systems may have an impact on laying hen welfare. Part II: Ammonia. *Animals*, 5(3), 886-896. <https://doi.org/10.3390/ani5030389>
- Delort, A.-M. et Amato, P. (2018). *Microbiology of aerosols*. John Wiley & Sons.
- Donham, K. J. (1986). Hazardous agents in agricultural dusts and methods of evaluation. *American Journal of Industrial Medicine*, 10(3), 205-220. <https://doi.org/10.1002/ajim.4700100305>
- Donham, K. J., Cumro, D., Reynolds, S. J. et Merchant, J. A. (2000). Dose-response relationships between occupational aerosol exposures and cross-shift declines of lung function in poultry workers: Recommendations for exposure limits. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 42(3), 260-269. <https://doi.org/10.1097/00043764-200003000-00006>
- Donham, K. J., Leistikow, B., Merchant, J. et Leonard, S. (1990). Assessment of U.S. poultry worker respiratory risks. *American Journal of Industrial Medicine*, 17(1), 73-74. <https://doi.org/10.1002/ajim.4700170118>
- Duchaine, C., Mériaux, A., Brochu, G. et Cormier, Y. (1999). Airborne microflora in Quebec dairy farms: Lack of effect of bacterial hay preservatives. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 60(1), 89-95. <https://doi.org/10.1080/00028899908984426>
- Duncan, E. T., Appleby, M. C. et Hughes, B. O. (1992). Effect of perches in laying cages on welfare and production of hens. *British Poultry Science*, 33(1), 25-35. <https://doi.org/10.1080/00071669208417441>
- Duncan, I. J. H. (2001). The pros and cons of cages. *World's Poultry Science Journal*, 57(4), 381-390. <https://doi.org/10.1079/WPS20010027>
- Eeckhaut, V., Van Immerseel, F., Teirlynck, E., Pasmans, F., Fievez, V., Snauwaert, C., . . . Vandamme, P. (2008). *Butyricoccus pullicaecorum* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, butyrate-producing bacterium isolated from the caecal content of a broiler chicken. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(12), 2799-2802. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65730-0>
- Ellen, H. H., Bottcher, R. W., von Wachenfelt, E. et Takai, H. (2000). Dust levels and control methods in poultry houses. *Journal of Agricultural Safety and Health*, 6(4), 275-282. <https://doi.org/10.13031/2013.1910>
- Ezaki, T., Kawamura, Y., Li, N., Li, Z. Y., Zhao, L. et Shu, S. (2001). Proposal of the genera *Anaerococcus* gen. nov., *Peptoniphilus* gen. nov. and *Gallicola* gen. nov. for members of the genus *Peptostreptococcus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(4), 1521-1528. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-4-1521>
- Farooq, M. Z., Wang, X. et Yan, X. (2023). Effects of *Aeriscardovia aeriphila* on growth performance, antioxidant functions, immune responses, and gut microbiota in broiler

- chickens. *Journal of Zhejiang University Science B*, 24(11), 1014-1026.
<https://doi.org/10.1631/jzus.B2200621>
- Fossum, O., Jansson, D. S., Etterlin, P. E. et Vågsholm, I. (2009). Causes of mortality in laying hens in different housing systems in 2001 to 2004. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51(1), article 3. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-51-3>
- Gonzalez-Mora, A. F., Rousseau, A. N., Larios, A. D., Godbout, S. et Fournel, S. (2022). Assessing environmental control strategies in cage-free aviary housing systems: Egg production analysis and Random Forest modeling. *Computers and Electronics in Agriculture*, 196, article 106854. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2022.106854>
- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M. E., Suzuki, K.-i., Ludwig, W. et Whitman, W. B. (édit.). (2012). *Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 5: The actinobacteria* (2^e éd.). Springer.
- Graham, B. L., Steenbruggen, I., Miller, M. R., Barjaktarevic, I. Z., Cooper, B. G., Hall, G. L., . . . Thompson, B. R. (2019). Standardization of spirometry 2019 update. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 200(8), e70-e88.
<https://doi.org/10.1164/rccm.201908-1590ST>
- Groot Koerkamp, P. W. G. (1994). Review on emissions of ammonia from housing systems for laying hens in relation to sources, processes, building design and manure handling. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 59(2), 73-87.
<https://doi.org/10.1006/jaer.1994.1065>
- Gustafsson, G. et von Wachenfelt, E. (2006). Airborne dust control measures for floor housing system for laying hens. *Agricultural Engineering International: The CIGR Journal*, 8, 1-11. <https://cigrjournal.org/index.php/Ejournal/article/view/668/662>
- Harry, E. G. (1978). Air pollution in farm buildings and methods of control: A review. *Avian Pathology*, 7(4), 441-454. <https://doi.org/10.1080/03079457808418301>
- Hartcher, K. M. et Jones, B. (2017). The welfare of layer hens in cage and cage-free housing systems. *World's Poultry Science Journal*, 73(4), 767-782.
<https://doi.org/10.1017/S0043933917000812>
- Hassouna, M. et Eglin, T. (édit.). (2016). *Measuring emissions from livestock farming: Greenhouse gases, ammonia and nitrogen oxides*. INRA-ADEME.
- Haugland, R. A., Varma, M., Wymer, L. J. et Vesper, S. J. (2004). Quantitative PCR analysis of selected *Aspergillus*, *Penicillium* and *Paecilomyces* species. *Systematic and Applied Microbiology*, 27(2), 198-210. <https://doi.org/10.1078/072320204322881826>
- Health Council of the Netherlands. (2010). *Endotoxins: Health-based recommended occupational exposure limit* (Document n° 2010/04OSH). Health Council of the

Netherlands. <https://www.healthcouncil.nl/documents/advisory-reports/2010/07/15/endotoxins-health-based-recommended-occupational-exposure-limit>

Hester, P. Y. (2005). Impact of science and management on the welfare of egg laying strains of hens. *Poultry Science*, 84(5), 687-696. <https://doi.org/10.1093/ps/84.5.687>

Holdeman, L. V. et Moore, W. E. C. (1974). New genus, *Coprococcus*, twelve new species, and emended descriptions of four previously described species of bacteria from human feces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 24(2), 260-277. <https://doi.org/10.1099/00207713-24-2-260>

Hugerth, L. W. et Andersson, A. F. (2017). Analysing microbial community composition through amplicon sequencing: From sampling to hypothesis testing. *Frontiers in Microbiology*, 8, article 1561. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01561>

Hughes, J. B., Hellmann, J. J., Ricketts, T. H. et Bohannan, B. J. M. (2001). Counting the uncountable: Statistical approaches to estimating microbial diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(10), 4399-4406. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4399-4406.2001>

Janczak, D., Malińska, K., Czekala, W., Cáceres, R., Lewicki, A. et Dach, J. (2017). Biochar to reduce ammonia emissions in gaseous and liquid phase during composting of poultry manure with wheat straw. *Waste Management*, 66, 36-45. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.04.033>

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. <https://doi.org/10.1139/cjm-2012-0305>

Just, N., Duchaine, C. et Singh, B. (2009). An aerobiological perspective of dust in cage-housed and floor-housed poultry operations. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 4(1), article 13. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-4-13>

Just, N., Kirychuk, S., Gilbert, Y., Létourneau, V., Veillette, M., Singh, B. et Duchaine, C. (2011). Bacterial diversity characterization of bioaerosols from cage-housed and floor-housed poultry operations. *Environmental Research*, 111(4), 492-498. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.01.009>

Just, N., Létourneau, V., Kirychuk, S., Singh, B. et Duchaine, C. (2012). Potentially pathogenic bacteria and antimicrobial resistance in bioaerosols from cage-housed and floor-housed poultry operations. *The Annals of Occupational Hygiene*, 56(4), 440-449. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mer105>

Khan, S., Moore, R. J., Stanley, D. et Chousalkar, K. K. (2020). The gut microbiota of laying hens and its manipulation with prebiotics and probiotics to enhance gut health and food safety. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(13), e00600-00620. <https://doi.org/10.1128/AEM.00600-20>

- Kiryuchuk, S. P., Dosman, J. A., Reynolds, S. J., Willson, P., Senthilselvan, A., Feddes, J. J. R., . . . Guenter, W. (2006). Total dust and endotoxin in poultry operations: Comparison between cage and floor housing and respiratory effects in workers. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 48(7), 741-748. <https://doi.org/10.1097/01.jom.0000216215.39521.3c>
- Kiryuchuk, S. P., Senthilselvan, A., Dosman, J. A., Juorio, V., Feddes, J. J. R., Willson, P., . . . Hurst, T. S. (2003). Respiratory symptoms and lung function in poultry confinement workers in Western Canada. *Canadian Respiratory Journal*, 10(7), 375-380. <https://doi.org/10.1155/2003/109679>
- Krieg, N. R., Ludwig, W., Whitman, W., Hedlund, B. P., Paster, B. J., Staley, J. T., . . . Brown, D. (édit). (2011). *Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 4: The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes*. Springer.
- LaGier, M. J., Joseph, L. A., Passaretti, T. V., Musser, K. A. et Cirino, N. M. (2004). A real-time multiplexed PCR assay for rapid detection and differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Molecular and Cellular Probes*, 18(4), 275-282. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2004.04.002>
- Lawniczek-Walczyk, A., Gorny, R. L., Golofit-Szymczak, M., Niesler, A. et Wlazlo, A. (2013). Occupational exposure to airborne microorganisms, endotoxins and β -glucans in poultry houses at different stages of the production cycle. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 20(2), 259-268. <https://www.aaem.pl/Occupational-exposure-to-airborne-microorganisms-endotoxins-and-glucans-in-poultry,71922,0,2.html>
- Le Bouquin, S., Huneau-Salaün, A., Huonnic, D., Balaine, L., Martin, S. et Michel, V. (2013). Aerial dust concentration in cage-housed, floor-housed, and aviary facilities for laying hens. *Poultry Science*, 92(11), 2827-2833. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03032>
- Les Producteurs d'œufs du Canada. (2018). *Rapport annuel 2018*. Les Producteurs d'œufs du Canada. https://www.producteursdoeufs.ca/wp-content/uploads/2019/03/2018_Les-Producteurs-doeufs-du-Canada-Rapport-annuel.pdf
- Les Producteurs d'œufs du Canada. (2022). *Rapport annuel 2022*. Les Producteurs d'œufs du Canada. https://www.producteursdoeufs.ca/wp-content/uploads/2023/04/2022_Les-Producteurs-doeufs-du-Canada_Rapport-annuel.pdf
- Les Producteurs d'œufs du Canada. (2023). *Rapport annuel 2023*. Les Producteurs d'œufs du Canada. https://www.producteursdoeufs.ca/wp-content/uploads/2024/03/2023_Les-Producteurs-doeufs-du-Canada_Rapport-annuel.pdf
- Les Producteurs d'œufs du Canada et Conseil national pour le soin des animaux d'élevage. (2017). *Code de pratiques pour le soin et la manipulation des poulettes et pondeuses*. Gouvernement du Canada

- Létourneau, V., Nehmé, B., Mériaux, A., Massé, D. et Duchaine, C. (2009). Impact of production systems on swine confinement buildings bioaerosols. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 7(2), 94-102. <https://doi.org/10.1080/15459620903425642>
- Li, C.-J., Zhang, Z., Zhan, P.-C., Lv, A.-P., Li, P.-P., Liu, L., . . . Zhi, X.-Y. (2023). Comparative genomic analysis and proposal of *Clostridium yunnanense* sp. nov., *Clostridium rhizosphaerae* sp. nov., and *Clostridium paridis* sp. nov., three novel *Clostridium sensu stricto* endophytes with diverse capabilities of acetic acid and ethanol production. *Anaerobe*, 79, article 102686. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2022.102686>
- Malorny, B., Paccassoni, E., Fach, P., Bunge, C., Martin, A. et Helmuth, R. (2004). Diagnostic real-time PCR for detection of *Salmonella* in food. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(12), 7046-7052. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.7046-7052.2004>
- 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), article e01589-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.01589-18>
- Mbareche, H., Veillette, M., Pilote, J., Létourneau, V. et Duchaine, C. (2019). Bioaerosols play a major role in the nasopharyngeal microbiota content in agricultural environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(8), article 1375. <https://doi.org/10.3390/ijerph16081375>
- Mbareche, H., Veillette, M., Teertstra, W., Kegel, W., Bilodeau, G. J., Wösten, H. A. B. et Duchaine, C. (2019). Recovery of fungal cells from air samples: A tale of loss and gain. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(9), e02941-02918. <https://doi.org/10.1128/AEM.02941-18>
- Mériaux, A., Pageau, P., Cormier, Y., Goyer, N. et Duchaine, C. (2006). Bioaerosols in peat moss processing plants. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 3(8), 408-417. <https://doi.org/10.1080/15459620600778814>
- Nehmé, B., Gilbert, Y., Létourneau, 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. <https://doi.org/10.1128/AEM.00726-09>
- Nimmermark, S., Lund, V., Gustafsson, G. et Eduard, W. (2009). Ammonia, dust and bacteria in welfare-oriented systems for laying hens. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 16(1), 103-113. <https://www.aaem.pl/Ammonia-dust-and-bacteria-in-welfare-oriented-systems-for-laying-hens-,71597,0.2.html>
- Ogink, N., van Harn, J., van Emous, R. et Hilko, E. (2012). *Top layer humidification of bedding material of laying hen houses to mitigate dust emissions: Effects of water spraying on dust, ammonia and odor emissions* [Communication]. IX International Livestock Environment Symposium (ILES IX), St. Joseph, MI. <https://doi.org/10.13031/2013.41632>

- Oksanen, J.A.I., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., O'Hara, R., Simpson, G., Minchin, P.E.H., et O'Hara, R. (2007). vegan : Community Ecology Package. R package version 1.8-5.
- Oren, A. et Garrity, G. M. (2021). Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(10), article 005056. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005056>
- Pellegrino, R., Viegi, G. et Brusasco, V. (2005). Interpretative strategies for lung function tests. *European Respiratory Journal*, 26(5), 948-968. <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00035205>
- Pilote, J., Létourneau, V., Girard, M. et Duchaine, C. (2019). Quantification of airborne dust, endotoxins, human pathogens and antibiotic and metal resistance genes in Eastern Canadian swine confinement buildings. *Aerobiologia*, 35(2), 283-296. <https://doi.org/10.1007/s10453-019-09562-6>
- Prasai, T. P., Walsh, K. B., Midmore, D. J., Jones, B. E. H. et Bhattarai, S. P. (2018). Manure from biochar, bentonite and zeolite feed supplemented poultry: Moisture retention and granulation properties. *Journal of Environmental Management*, 216, 82-88. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.08.040>
- Radon, K., Weber, C., Iversen, M., Danuser, B., Pedersen, S. et Nowak, D. (2001). Exposure assessment and lung function in pig and poultry farmers. *Occupational & Environmental Medicine*, 58(6), 405-410. <https://doi.org/10.1136/oem.58.6.405>
- Rimac, D., Macan, J., Varnai, V. M., Vučemilo, M., Matković, K., Prester, L., . . . Pavičić, I. (2010). Exposure to poultry dust and health effects in poultry workers: Impact of mould and mite allergens. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 83(1), 9-19. <https://doi.org/10.1007/s00420-009-0487-5>
- Rinttilä, T., Kassinen, A., Malinen, E., Krogus, L. et Palva, A. (2004). Development of an extensive set of 16S rDNA-targeted primers for quantification of pathogenic and indigenous bacteria in faecal samples by real-time PCR. *Journal of Applied Microbiology*, 97(6), 1166-1177. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02409.x>
- Rosa, E., Arriaga, H., Calvet, S. et Merino, P. (2019). Assessing ventilation rate measurements in a mechanically ventilated laying hen facility. *Poultry Science*, 98(3), 1211-1221. <https://doi.org/10.3382/ps/pey524>
- Rychlik, I. (2020). Composition and function of chicken gut microbiota. *Animals*, 10(1), article 103. <https://doi.org/10.3390/ani10010103>
- Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., . . . Weber, C. F. (2009). Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7537-7541. <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>

- Senthilselvan, A., Beach, J., Feddes, J., Cherry, N. et Wenger, I. (2011). A prospective evaluation of air quality and workers' health in broiler and layer operations. *Occupational & Environmental Medicine*, 68(2), 102-107. <https://doi.org/10.1136/oem.2008.045021>
- Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal*, 27(3), 379-423. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
- Shannon, K. E., Lee, D. Y., Trevors, J. T. et Beaudette, L. A. (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. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.02.039>
- Shepherd, E. M., Fairchild, B. D. et Ritz, C. W. (2017). Alternative bedding materials and litter depth impact litter moisture and footpad dermatitis. *Journal of Applied Poultry Research*, 26(4), 518-528. <https://doi.org/10.3382/japr/pfx024>
- Shields, S., Shapiro, P. et Rowan, A. (2017). A decade of progress toward ending the intensive confinement of farm animals in the United States. *Animals*, 7(5), article 40. <https://doi.org/10.3390/ani7050040>
- Simpson, E. H. (1949). Measurement of diversity. *Nature*, 163(4148), article 688. <https://doi.org/10.1038/163688a0>
- Singh, J. et Schwartz, D. A. (2005). Endotoxin and the lung: Insight into the host-environment interaction. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 115(2), 330-333. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.11.021>
- Spaan, S., Heederik, D. J. J., Thorne, P. S. et Wouters, I. M. (2007). Optimization of airborne endotoxin exposure assessment: Effects of filter type, transport conditions, extraction solutions, and storage of samples and extracts. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(19), 6134-6143. <https://doi.org/10.1128/AEM.00851-07>
- St-Germain, G. et Summerbell, R. (1996). *Champignons filamenteux d'intérêt médical : caractéristiques et identification*. Star Publishing Company.
- Stahuljak-Beritić, D., Dimov, D., Buthović, D. et Štilinović, L. (1977). Lung function and immunological changes in poultry breeders. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 40(2), 131-139. <https://doi.org/10.1007/BF00575157>
- Statistics Canada. (2022a). *Characteristics of farm operators: Farm work and other paid work* (Tableau n° 32-10-0382-08). Statistics Canada. <https://www150.statcan.gc.ca/t1/tbl1/en/tv.action?pid=3210038201>
- Statistics Canada. (2022b). *Characteristics of farm operators* (Tableau n° 32-100230-01). Statistics Canada. <https://www150.statcan.gc.ca/t1/tbl1/en/tv.action?pid=3210023001>
- Takai, H. et Pedersen, S. (2000). A comparison study of different dust control methods in pig buildings. *Applied Engineering in Agriculture*, 16(3), 269-277. <https://doi.org/10.13031/2013.5143>

- Takai, H., Pedersen, S., Johnsen, J. O., Metz, J. H. M., Groot Koerkamp, P. W. G., Uenk, G. H., . . . Wathes, C. M. (1998). Concentrations and emissions of airborne dust in livestock buildings in Northern Europe. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 70(1), 59-77. <https://doi.org/10.1006/jaer.1997.0280>
- Tan, Z. et Zhang, Y. (2004). A review of effects and control methods of particulate matter in animal indoor environments. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 54(7), 845-854. <https://doi.org/10.1080/10473289.2004.10470950>
- Tanaka, T. et Hurnik, J. F. (1992). Comparison of behavior and performance of laying hens housed in battery cages and an aviary. *Poultry Science*, 71(2), 235-243. <https://doi.org/10.3382/ps.0710235>
- Tauson, R. (2005). Management and housing systems for layers: Effects on welfare and production. *World's Poultry Science Journal*, 61(3), 477-490. <https://doi.org/10.1079/WPS200569>
- Tomasiewicz, D. M., Hotchkiss, D. K., Reinbold, G. W., Read, R. B. et Hartman, P. A. (1980). The most suitable number of colonies on plates for counting. *Journal of Food Protection*, 43(4), 282-286. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-43.4.282>
- Valentine, H. (1964). A study of the effect of different ventilation rates on the ammonia concentrations in the atmosphere of broiler houses. *British Poultry Science*, 5(2), 149-159. <https://doi.org/10.1080/00071666408415526>
- Viegas, S., Faisca, V. M., Dias, H., Clérigo, A., Carolino, E. et Viegas, C. (2013). Occupational exposure to poultry dust and effects on the respiratory system in workers. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 76(4-5), 230-239. <https://doi.org/10.1080/15287394.2013.757199>
- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., . . . Whitman, W. (édit). (2009). *Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 3: The firmicutes* (2^e éd.). Springer.
- Wang, X.-Y., Meng, J.-X., Ren, W.-X., Ma, H., Liu, G., Liu, R., . . . Ni, H.-B. (2023). Amplicon-based metagenomic association analysis of gut microbiota in relation to egg-laying period and breeds of hens. *BMC Microbiology*, 23(1), article 138. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02857-2>
- Wathes, C. M., Jones, J. B., Kristensen, H. H., Jones, E. K. M. et Webster, A. J. F. (2002). Aversion of pigs and domestic fowl to atmospheric ammonia. *Transactions of the ASAE*, 45(5). <https://doi.org/10.13031/2013.11067>
- Widowski, T. M., Hemsworth, P. H., Barnett, J. L. et Rault, J. L. (2016). Laying hen welfare I. Social environment and space. *World's Poultry Science Journal*, 72(2), 333-342. <https://doi.org/10.1017/S0043933916000027>

- Wise, M. G. et Siragusa, G. R. (2005). Quantitative detection of *Clostridium perfringens* in the broiler fowl gastrointestinal tract by real-time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(7), 3911-3916. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.7.3911-3916.2005>
- Wood, D. J. et Van Heyst, B. J. (2016). A review of ammonia and particulate matter control strategies for poultry housing. *Transactions of the ASABE*, 59(1), 329-344. <https://doi.org/10.13031/trans.59.10836>
- Zhang, C., Weiss, A., Lin, C., Li, H., Joerger, R. et Chiu, P. (2016). Effects of multiple litter amendment applications in commercial broiler houses on ammonia emissions and litter microflora. *Transactions of the ASABE*, 59(5), 1393-1401. <https://doi.org/10.13031/trans.59.11725>
- Zhang, J., Mo, S., Li, H., Yang, R., Liu, X., Xing, X., . . . Li, L. (2022). *Rothia nasimurium* as a cause of disease: First isolation from farmed chickens. *Veterinary Sciences*, 9(12), 653. <https://doi.org/10.3390/vetsci9120653>
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., . . . Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>
- Zheng, W., Kang, R., Wang, H., Li, B., Xu, C. et Wang, S. (2013). Airborne bacterial reduction by spraying slightly acidic electrolyzed water in a laying-hen house. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 63(10), 1205-1211. <https://doi.org/10.1080/10962247.2013.812815>
- Zheng, W., Zhao, Y., Xin, H., Gates, R. S., Li, B., Zhang, Y. et Soupir, M. L. (2014). Airborne particulate matter and culturable bacteria reduction from spraying slightly acidic electrolyzed water in an experimental aviary laying-hen housing chamber. *Transactions of the ASABE*, 57(1), 229-236. <https://doi.org/10.13031/trans.57.10306>
- Zuskin, E., Mustajbegovic, J., Schachter, E. N., Kern, J., Rienzi, N., Goswami, S., . . . Maayani, S. (1995). Respiratory function in poultry workers and pharmacologic characterization of poultry dust extract. *Environmental Research*, 70(1), 11-19. <https://doi.org/10.1006/enrs.1995.1040>