

**Exposition des travailleurs aux substances
chimiques et aux agents biologiques
dans les usines de biométhanisation
des matières organiques putrescibles**
Évaluation exploratoire

Bouchra Bakhiyi
Geneviève Marchand
Yves Cloutier
Yves Beaudet
Marc Veillette
Marie-Ève Dubuis
Hamza Mbareche
Joseph Zayed
Caroline Duchaine
Jacques Lavoie

RAPPORTS
SCIENTIFIQUES

R-1023

NOS RECHERCHES travaillent pour vous !

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

Mission

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

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

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

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

Pour en savoir plus

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

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

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

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec
2018
ISBN : 978-2-89797-017-8
ISSN : 0820-8395

IRSST - Direction des communications
et de la valorisation de la recherche
505, boul. De Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec)
H3A 3C2
Téléphone : 514 288-1551
publications@irsst.qc.ca
www.irsst.qc.ca
© Institut de recherche Robert-Sauvé
en santé et en sécurité du travail,
juin 2018

Exposition des travailleurs aux substances chimiques et aux agents biologiques dans les usines de biométhanisation des matières organiques putrescibles

Évaluation exploratoire

Bouchra Bakhiyi¹, Geneviève Marchand², Yves Cloutier², Yves Beaudet², Marc Veillette³, Marie-Ève Dubuis^{3,4}, Hamza Mbareche³, Joseph Zayed^{1,2}, Caroline Duchaine^{3,4}, Jacques Lavoie²

¹Université de Montréal

²IRSST

³Centre de recherche de l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec

⁴Université Laval

RAPPORTS
SCIENTIFIQUES

R-1023



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 site Web de l'IRSST.



ÉVALUATION PAR DES PAIRS

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

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent tout particulièrement à remercier les gestionnaires des deux usines de biométhanisation qui leur ont donné accès aux installations ainsi que les travailleurs qui étaient présents lors des périodes d'échantillonnage.

Les auteurs aimeraient également exprimer leur reconnaissance envers les techniciennes et techniciens des laboratoires de l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST).

SOMMAIRE

La biométhanisation est un procédé de transformation anaérobie des matières organiques putrescibles (MOP) en biogaz et en digestat destiné à l'épandage en milieu agricole. Ce procédé est en forte croissance en raison de la Politique québécoise de gestion des matières résiduelles qui prévoit le bannissement de l'enfouissement des MOP, et ce, dès 2020. L'exposition des travailleurs affectés aux activités de biométhanisation a fait l'objet de peu de publications scientifiques. L'objectif général de cette recherche est donc d'évaluer de manière exploratoire l'exposition de ces travailleurs. Plus spécifiquement, cette étude vise à 1) détecter et à mesurer la présence et les concentrations des agents biologiques (microorganismes pathogènes et totaux) et des substances chimiques dans l'air ambiant; 2) apprécier le risque potentiel pour la santé des travailleurs; 3) hiérarchiser les aires critiques en fonction des risques potentiels.

Deux usines de biométhanisation de MOP ont participé à cette recherche. L'une d'elles opérait en condition mésophile, soit à des températures entre 35 et 40 °C et utilisait comme substrats des MOP d'origines résidentielle, commerciale et agroalimentaire ainsi que des boues d'épuration d'eaux usées. L'autre usine opérait en condition thermophile, soit à des températures d'environ 55 °C, et procédait exclusivement avec des MOP d'origine résidentielle. Des échantillons de l'air ambiant ont été prélevés et analysés pour déterminer les concentrations atmosphériques de gaz, de métaux, de composés organiques volatils (COV), de poussières et de bioaérosols présents en milieu de travail. De plus, la flore microbienne présente dans les échantillons d'air a été analysée par culture et par méthode moléculaire. En raison de la présence de marqueurs de risques biologiques pour la santé humaine, les genres *Legionella* et *Mycobacterium* et l'espèce *Saccharopolyspora rectivirgula* ont été ciblés comme indicateurs spécifiques de risque.

Cette étude a permis de mettre en évidence un risque biologique alors qu'aucun risque chimique pour la santé des travailleurs n'a été rencontré. Le risque biologique est lié à une exposition des travailleurs à des concentrations de microorganismes dépassant les valeurs guides recommandées et ayant des dimensions respirables. De plus, les bioaérosols présents se sont révélés d'une grande biodiversité. Seules les mycobactéries non tuberculeuses et *Saccharopolyspora rectivirgula* ont été déterminées comme indicateurs de risque.

Les concentrations de bioaérosols ont permis de hiérarchiser les aires de travail les plus critiques selon les risques biologiques auxquels les travailleurs sont exposés. Il s'agit des zones où les MOP sont susceptibles d'être directement manipulées, soit, par ordre d'importance, les aires de réception et de prétraitement suivies des aires réservées au post-traitement par maturation. Les aires de prétraitement, lieux d'agitation des MOP par brassage manuel ou mécanique et par arrosage demeurent toutefois les plus critiques, toutes saisons confondues.

Les concentrations de bioaérosols dans l'air ambiant des deux usines de biométhanisation exigent le port d'équipements de protection respiratoire et cutanée par les travailleurs. Ces recommandations s'appliquent plus particulièrement aux travailleurs qui œuvrent à proximité ou en contact direct avec les MOP fraîches et digérées ainsi que pour ceux qui sont présents lors des opérations de nettoyage des équipements et des locaux.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	I
SOMMAIRE	III
TABLE DES MATIÈRES	V
LISTE DES TABLEAUX	VII
LISTE DES FIGURES	IX
LISTE DES ACRONYMES, SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XI
1. INTRODUCTION	1
1.1 Avantages de la biométhanisation des matières organiques putrescibles	1
1.2 Portrait technique	1
2. ÉTAT DES CONNAISSANCES	5
2.1 Exposition aux agents biologiques	5
2.2 Risques associés aux agents biologiques	6
2.3 Exposition aux substances chimiques	8
2.4 Risques associés aux substances chimiques	9
3. OBJECTIFS DE RECHERCHE	13
4. MÉTHODOLOGIE	15
4.1 Description des usines	15
4.1.1 Usine A1	15
4.1.2 Usine A2	16
4.1.3 Usine B	17
4.2 Plan d'échantillonnage	18
4.3 Prélèvements des bioaérosols	19
4.3.1 Analyse des bioaérosols cultivables	19
4.3.2 Analyse des bioaérosols totaux par biologie moléculaire	20
4.3.3 Mesure de la granulométrie et des bioaérosols totaux	21
4.4 Prélèvements des substances chimiques	21
4.5 Traitement statistique	22
5. RÉSULTATS ET DISCUSSION	25
5.1 Particules non fluorescentes et fluorescentes (bioaérosols totaux) UV-APS	25
5.1.1 Analyse statistique descriptive	25

5.1.2	Profils granulométriques	36
5.2	Flore microbienne cultivable	36
5.2.1	Bactéries et moisissures mésophiles cultivables.....	36
5.2.2	Actinomycètes et moisissures thermophiles cultivables.....	39
5.2.3	Quantification des endotoxines présentes dans l'air ambiant.....	42
5.2.4	Tests statistiques de Tukey-Kramer sur la flore microbienne cultivable	42
5.3	Analyses de biologie moléculaire	43
5.3.1	Quantification par PCR	43
5.3.2	Analyse de biodiversité.....	45
5.4	Substances chimiques	50
5.4.1	Matières particulaires totales	51
5.4.2	Métaux	52
5.4.3	Composés organiques volatils totaux et autres gaz	52
5.4.4	Composés organiques volatils spécifiques	56
5.5	Hierarchisation des aires critiques de travail	56
5.6	Facteurs pouvant influencer le niveau d'exposition potentiel des travailleurs	57
5.7	Recommandations en matière de protection respiratoire et personnelle	60
5.8	Limites et contraintes	61
6.	CONCLUSION.....	63
	BIBLIOGRAPHIE	65
	ANNEXE A :.....	73
	A.I Liste des amorces et des sondes utilisées lors des analyses qPCR	73
	ANNEXE B :.....	75
	B.I Corrélation linéaire entre les méthodes de culture et de qPCR	75
	B.II Analyse de la diversité bêta	75
	B.III Abondance relative des différents taxons.....	77
	B.IV Analyse de la diversité fongique : abondance relative des différents taxons	81

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 :	Risques associés aux agents biologiques présents dans les centres de biométhanisation.....	7
Tableau 2 :	Risques associés aux substances chimiques présentes dans les centres de biométhanisation.....	10
Tableau 3 :	Description des usines de biométhanisation	15
Tableau 4 :	Synopsis des paramètres microbiens analysés dans l'évaluation de l'exposition des travailleurs en fonction des sites de prélèvements, lors du procédé de biométhanisation des MOP	23
Tableau 5 :	Synopsis des paramètres chimiques analysés dans l'évaluation de l'exposition des travailleurs en fonction des sites de prélèvement, lors du procédé de biométhanisation des MOP	24
Tableau 6 :	Concentrations moyennes et diamètres aérodynamiques médians des particules de l'usine A1	25
Tableau 7 :	Concentrations moyennes et diamètres aérodynamiques médians des particules de l'usine A2	26
Tableau 8 :	Concentrations moyennes et diamètres aérodynamiques médians des particules de l'usine B	26
Tableau 9 :	Concentrations moyennes des bactéries mésophiles et des moisissures mésophiles cultivables dans les usines A1, A2 et B	37
Tableau 10 :	Concentrations moyennes d'actinomycètes thermophiles dans les usines A1, A2 et B.....	39
Tableau 11 :	Concentrations moyennes de moisissures thermophiles cultivables pour les usines A1, A2 et B	41
Tableau 12 :	Concentrations moyennes d'endotoxines dans les usines A1, A2 et B, en été et en hiver	42
Tableau 13 :	Détection par qPCR des bactéries totales et des microorganismes indicateurs de risques pour la santé humaine dans les usines A1, A2, et B, en été	43
Tableau 14 :	Détection par qPCR des bactéries totales et des microorganismes indicateurs de risques pour la santé humaine dans les usines A1, A2, et B, en hiver.....	44
Tableau 15 :	Moyennes et écarts-types géométriques des concentrations des matières particulaires totales dans l'usine A1 en été et en hiver	51
Tableau 16 :	Moyennes et écarts-types géométriques des concentrations des matières particulaires totales dans l'usine A2 en été et en hiver	51
Tableau 17 :	Moyennes et écarts-types géométriques des concentrations des matières particulaires totales dans l'usine B en été et en hiver	52
Tableau 18 :	Concentrations moyennes et écarts-types (\pm ET) des gaz dans l'usine A1, en été et en hiver	54

Tableau 19 : Concentrations moyennes et écarts-types (\pm ET) des gaz dans l'usine A2, en été et en hiver	55
Tableau 20 : Concentrations moyennes et écarts-types (\pm ET) des gaz dans l'usine B, en été et en hiver	55
Tableau 21 : Hiérarchisation des aires critiques de travail par ordre décroissant des concentrations moyennes de particules fluorescentes mesurées dans les usines A1, A2 et B, en été et en hiver	57

LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	Schéma simplifié de différentes étapes associées aux activités de biométhanisation de matières organiques putrescibles.	2
Figure 2 :	Schématisation du procédé de l'unité de biométhanisation composée des usines A1 et A2, avec identification des sites de prélèvements.....	17
Figure 3 :	Schématisation du procédé de l'usine B de biométhanisation avec identification des sites de prélèvements.....	18
Figure 4 :	Centiles des logarithmes des concentrations des particules non fluorescentes et fluorescentes dans les usines A1, A2 et B, sans égard à la saison.	28
Figure 5 :	Centiles des logarithmes des concentrations des particules non fluorescentes (PNF) et fluorescentes (PF) pour chaque atelier de l'usine A1, en été et en hiver.....	29
Figure 6 :	Centiles des logarithmes des concentrations moyennes des particules non fluorescentes (PNF) et fluorescentes (PF) pour chaque atelier de l'usine A2, en été et en hiver.	30
Figure 7 :	Centiles des logarithmes des concentrations moyennes des particules non fluorescentes (PNF) et fluorescentes (PF) pour chaque atelier de l'usine B, en été et en hiver.	31
Figure 8 :	Centiles des logarithmes des concentrations moyennes des particules non fluorescentes (PNF) et fluorescentes (PF) lors des activités dans l'usine A1, en été et en hiver.	33
Figure 9 :	Centiles des logarithmes des concentrations moyennes de particules non fluorescentes (PNF) et fluorescentes (PF) lors des activités dans l'usine A2, en été et en hiver.	34
Figure 10 :	Centiles des logarithmes des concentrations moyennes de particules non fluorescentes (PNF) et fluorescentes (PF) lors des activités dans l'usine B, en été et en hiver.	35
Figure 11 :	Exemple d'un profil granulométrique de particules fluorescentes.	36
Figure 12 :	Comparaison de la diversité- α pour les échantillons prélevés par le Coriolis μ et le SASS 3100.....	46
Figure 13 :	Diagramme de Venn comparant les unités taxonomiques opérationnelles (UTO) des échantillons prélevés par le Coriolis μ et le SASS 3100.....	47
Figure 14 :	Distribution taxonomique appartenant aux principaux genres bactériens trouvés dans l'air des usines A1, A2 et B, toutes saisons confondues, pour les prélèvements effectués avec le SASS 3100.	48
Figure 15 :	Distribution taxonomique appartenant aux principaux genres bactériens trouvés en été et en hiver dans les usines A1, A2 et B pour les prélèvements effectués avec le SASS 3100.....	48
Figure 16 :	Diagramme de Venn des 20 genres de moisissures les plus abondants en été et en hiver dans les usines A1 et A2.	49

Figure 17 :	Diagramme de Venn des 20 genres de moisissures les plus abondants en été et en hiver dans l'usine B.	50
Figure 18 :	Bouche d'extraction d'air de la benne de réception de l'usine B.	59
Figure 19 :	Corrélation des bactéries totales en qPCR et en culture pour les usines A1, A2 et B, en été et en hiver.	75
Figure 20 :	Distances UniFrac entre les communautés bactériennes en fonction des saisons.	76
Figure 21 :	Distances UniFrac entre les communautés bactériennes en fonction des échantillonneurs.	77
Figure 22 :	Distribution taxonomique appartenant aux principaux genres bactériens trouvés dans l'air des usines A1, A2 et B, en été et en hiver.	78
Figure 23 :	Distribution taxonomique appartenant aux principaux genres bactériens trouvés dans l'air des usines A1, A2 et B pour les prélèvements effectués avec le SASS 3100 et avec le Coriolis μ	79
Figure 24 :	Distribution taxonomique appartenant aux principaux genres bactériens trouvés dans l'air des usines A1, A2 et B pour les prélèvements effectués avec le Coriolis μ	79
Figure 25 :	Abondance relative des classes de moisissures retrouvées dans l'air des usines A1, A2 et B et leur distribution en été et en hiver.	82

LISTE DES ACRONYMES, SIGLES ET ABRÉVIATIONS

CO :	Monoxyde de carbone
CO ₂ :	Dioxyde de carbone
COV :	Composés organiques volatils
DAM :	Diamètre aérodynamique médian
ET :	Écart-type
H ₂ S :	Sulfure d'hydrogène
LAL :	<i>Limulus Amebocyte Lysate</i>
MAS :	<i>Microbial Air Sampler</i>
MOP :	Matières organiques putrescibles
MPT :	Matières particulaires totales
NH ₃ :	Ammoniac
NO, NO ₂ :	Oxyde d'azote
PF :	Particules fluorescentes
PNF :	Particules non fluorescentes
qPCR :	Réaction en chaîne par polymérase quantitative
SAS :	<i>Super Air Sampler</i>
SASS :	<i>Smart Air Sampler System</i>
RSST :	Règlement sur la santé et la sécurité du travail
UE :	Unités d'endotoxines
UFC :	Unités formatrices de colonies
UTO :	Unités taxonomiques opérationnelles
UV APS :	Ultraviolet Aerodynamic Particle Sizer
VEMP :	Valeur d'exposition moyenne pondérée
VMR :	Valeur minimale rapportée

1. INTRODUCTION

1.1 Avantages de la biométhanisation des matières organiques putrescibles

La décomposition des matières organiques putrescibles (MOP) dans les sites d'enfouissement traditionnels produit d'importantes émissions de gaz à effet de serre (GES), principalement du méthane dont le potentiel de réchauffement climatique est 25 fois supérieur à celui du dioxyde de carbone (CO₂) (GIEC, 2007). Fondée sur un objectif commun de réduction des gaz à effet de serre et de lutte contre les changements climatiques, la gestion responsable des MOP est devenue une priorité tant sur les plans politique qu'environnemental pour une grande majorité de pays (UNEP, 2010). Dans ce contexte, la biométhanisation constitue potentiellement une des solutions aux problèmes liés aux traitements des MOP.

La biométhanisation offre quatre grands avantages par rapport aux autres solutions de traitement des MOP :

- 1) réduction des GES, en limitant l'enfouissement des MOP générées;
- 2) production de richesse par la valorisation du biogaz et du digestat obtenus. Ainsi le biogaz, après raffinage, est source d'énergie renouvelable (*green gas*) pouvant être utilisée pour le chauffage, la production de vapeurs, d'électricité et de biocarburant ou encore pour l'alimentation du réseau public de gaz naturel (Al Seadi, 2001; Al Seadi *et al.*, 2008; CRAAQ, 2008). Le digestat, lui, est une source de matières fertilisantes (biofertilisant) pouvant être utilisée dans l'épandage agricole après une étape de postcompostage (Al Seadi, 2001; ATEE, 2011);
- 3) flexibilité des sources de MOP à traiter pouvant différer tant par leurs origines (municipales, industrielles, commerciales, institutionnelles, agricoles) que par leurs types. La biométhanisation peut servir au traitement de résidus alimentaires (par ex. : restes de tables, résidus d'abattoir et de laiterie, résidus de culture), de résidus verts (tontes de gazon), de papier et carton, de boues (provenant d'usines d'épuration ou de papetières), de résidus de fabrication de pâtes et papiers, de déchets de bois, de lisier de porc, de fumier de volaille ou encore de la biomasse (Al Seadi *et al.*, 2008; ADEME, 2015);
- 4) création d'emplois nécessaires tant à la collecte, la réception, la transformation et la valorisation des MOP qu'à la construction et à la maintenance des usines de biométhanisation (Al Seadi *et al.*, 2008). Le nombre d'emplois directs et indirects dans le secteur du biogaz à l'échelle mondiale connaît une constante progression passant de 230 000 en 2009-2010 (ILO, 2012) à 382 000 en 2015 (IRENA, 2016).

1.2 Portrait technique

Bien que différentes étapes caractérisent les activités de biométhanisation, il est possible de les regrouper en trois grands événements (figure 1).

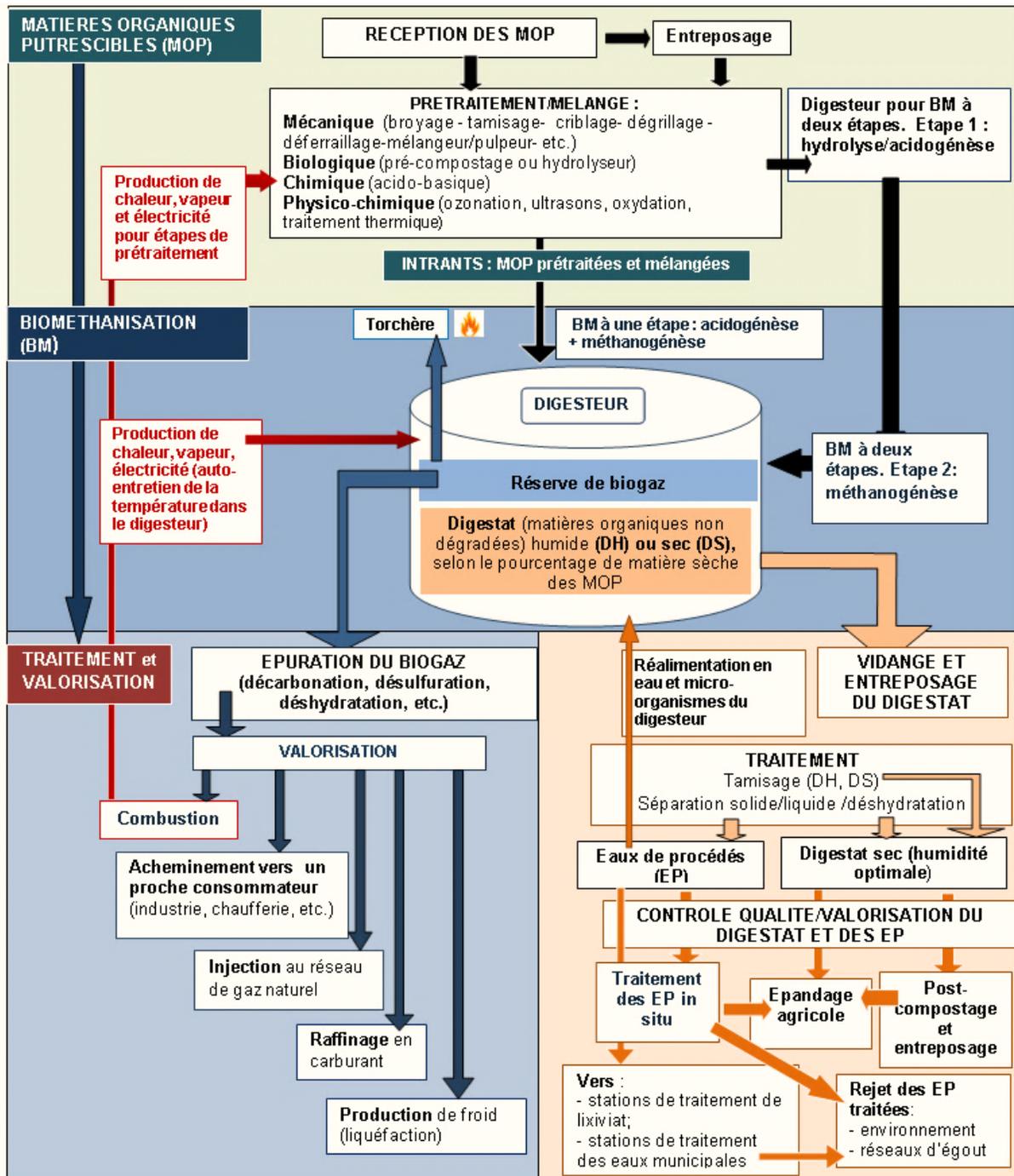


Figure 1 : Schéma simplifié de différentes étapes associées aux activités de biométhanisation de matières organiques putrescibles.

Informations tirées de : Molleta, 2002; Buffière *et al.*, 2007; INERIS, 2010; MDDEP, 2011a.

Évènement 1 : Réception des matières organiques putrescibles (MOP)

Étapes de procédé : Réception, entreposage et prétraitement

Quel que soit le type de prétraitement appliqué aux MOP (mécanique, biologique, physico-chimique), le but est de faciliter la biométhanisation en uniformisant les intrants destinés à alimenter le digesteur. Lorsqu'une étape hydrolyse est retenue, la biométhanisation est réalisée dans deux digesteurs distincts et l'on parle alors de biométhanisation à deux étapes.

Les intrants possèdent des caractéristiques propres en fonction du type, de l'origine et des fractions de MOP mélangées qui elles-mêmes varient en fonction des saisons. La composition de la flore microbienne responsable du processus va également différer selon les intrants; cette flore forme un écosystème qualifié « d'unités biologiques intégrées » (Couturier et Galtier, 1998).

Évènement 2 : Biométhanisation

Étapes de procédé : Chargement des digesteurs, digestion anaérobie proprement dite avec formation de biogaz et de digestat

Le processus de biométhanisation se déroule en quatre étapes distinctes que sont l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse, chacune ayant recours à une population bactérienne spécifique contenue dans les intrants (Molleta, 2002). Différents paramètres peuvent influencer sur le déroulement de ce processus ainsi que sur sa performance dont en premier lieu la température. Celle-ci est dite psychrophile en conditions de température ambiante, mésophile lorsque la température se situe entre 30 et 40 degrés Celsius (°C) et thermophile lorsque la température grimpe entre 50 et 65 °C (MDDEP, 2011a). Les autres paramètres d'influence sont notamment le temps de séjour (lié au choix de la température), le taux de matières sèches, le pH, la concentration d'acide gras volatil, l'humidité ou encore la maîtrise de l'homogénéité du mélange de MOP (ADEME, 2009).

Évènement 3 : Traitement et valorisation

Étapes de procédé : Vidange et entreposage du digestat, épuration du biogaz, séchage du digestat, traitement du digestat (postcompostage et mise en granulation éventuelle) et des eaux de procédés, entreposage du compost

Le biogaz produit est essentiellement composé de méthane (50 à 80 %), de dioxyde de carbone (CO₂, 20 à 50 %) et de sulfure d'hydrogène (H₂S, de 50 à 5000 ppm). Toutefois, 250 autres composés chimiques ont été répertoriés. La teneur en composants essentiels du biogaz va différer selon le type d'intrants utilisés et selon les paramètres de biométhanisation (MDDEP, 2011a). La composition du biogaz varie quant à elle d'une usine de biométhanisation à l'autre (INERIS, 2010).

Une fois stabilisé, le digestat est destiné à l'épandage agricole. De leur côté, les eaux de procédés sont potentiellement exploitables en tant que matières fertilisantes ou, à défaut, peuvent être convenablement traitées pour être ensuite rejetées dans les réseaux d'égouts municipaux (Buffière *et al.*, 2007; MDDEP, 2011a).

2. ÉTAT DES CONNAISSANCES

Le secteur de la biométhanisation connaît une croissance rapide à l'échelle mondiale tant au regard du nombre de sites implantés que du marché global du biogaz. Ce dernier a en effet généré un revenu global estimé à 17,3 milliards de dollars US en 2011 et qui devrait atteindre quelque 33,1 milliards de dollars US en 2022 (Pike Research, 2012). Les sites de biométhanisation sont essentiellement localisés en Europe, qui en comptait plus de 17 000 à la fin de 2014 comparativement à quelques 2000 qui étaient situés aux États-Unis à la fin de 2015. L'avenir de la biométhanisation s'annonce plutôt lucratif, car quelque 325 000 autres sites, qui généreront plus de 2 millions d'emplois directs et produiront 991 TWh, sont projetés pour 2020 aux États-Unis (American Biogas Council, 2012). Pour sa part, l'Union européenne prévoit rehausser les investissements dans le secteur du biogaz pour atteindre 25 milliards d'euros (plus de 33 milliards de \$CAN) à l'horizon 2020.

Malgré l'essor de cette industrie, l'exposition des travailleurs affectés aux différentes étapes du processus de biométhanisation n'a pas fait l'objet de nombreuses publications scientifiques comme d'ailleurs le soulignent des rapports publiés par l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (INERIS, 2010) et par l'autorité administrative britannique de santé et de sécurité du travail, Health Safety Executive (HSE, 2011a).

Néanmoins, deux constats préoccupants s'imposent :

- 1) des publications font état d'une exposition potentielle des travailleurs associés aux diverses étapes de biométhanisation à des contaminants à la fois biologiques et chimiques (Couturier et Galtier, 1998; Bio-Tox, 2009; Nadal *et al.*, 2009, IFC, 2007; Searl et Crawford, 2012, HSE, 2011a; US EPA, 2011; INERIS 2012; Salvi *et al.*, 2012). Les voies d'exposition sont essentiellement orales (contact main-bouche en mangeant, buvant ou en fumant), respiratoire, cutanée et/ou à travers la membrane muqueuse de l'œil (HSE, 2014);
- 2) aucune étude scientifique de terrain évaluant le niveau d'exposition des travailleurs des usines de biométhanisation aux substances chimiques et aux agents biologiques présentant des risques potentiels à la santé n'a encore été réalisée.

2.1 Exposition aux agents biologiques

L'exposition aux agents biologiques peut survenir lors de toutes les activités de biométhanisation (Couturier et Galtier, 1998; IFC, 2007; Nadal *et al.*, 2009; Searl et Crawford, 2012).

Les MOP peuvent générer des bioaérosols composés de poussières organiques inhalables, tout particulièrement durant leurs manipulations (HSE, 2014). Ces bioaérosols peuvent transporter des bactéries (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Legionella spp*, *Actinomyces israelii*, *Clostridium spp*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*), des actinomycètes (*Saccharopolyspora spp*), des actinobactéries (*Mycobacterium spp*), des champignons microscopiques (levures et moisissures), des virus (entérovirus, parvovirus porcins) ou des composantes biologiques telles que les endotoxines, les mycotoxines et le β -1-

3-D-glucanes (Couturier et Galtier, 1998; ADEME, 2011; Searl et Crawford, 2012). Certains microorganismes pathogènes tels que *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Clostridium spp*, *Mycobacterium avium* peuvent survivre au traitement anaérobie, quelle que soit la température utilisée et ainsi se retrouver dans le digestat après la biométhanisation (Couturier et Galtier, 1998; Sahlström, 2003; Sahlström *et al.*, 2008; Slana *et al.*, 2011; Canon-Franco *et al.*, 2012). Les travaux de Li *et al.* (2014) ont démontré que le processus anaérobie favorisait la présence de certaines bactéries fermentaires, entre autres celles du genre *Clostridium*, alors qu'elles étaient beaucoup moins présentes dans les intrants. La composition de la flore microbienne persistante dans le digestat diffère selon les MOP traitées, la méthode de prétraitement, ainsi que les paramètres de biométhanisation (ADEME 1998; Al Seadi et Lukehurst, 2012).

2.2 Risques associés aux agents biologiques

Les risques associés aux microorganismes et aux composants biologiques auxquels sont potentiellement exposés les travailleurs des usines de biométhanisation sont synthétisés au tableau 1. Les risques peuvent être de nature irritative, inflammatoire, immunologique, toxique et/ou infectieuse. Les effets sur la santé des travailleurs potentiellement exposés aux agents biologiques peuvent donc inclure les allergies cutanéomuqueuses, les symptômes respiratoires et les gastro-entérites infectieuses. Les travailleurs ayant des antécédents de pathologies respiratoires seraient plus vulnérables à une exposition aux agents biologiques (Searl et Crawford, 2012).

Tableau 1 : Risques associés aux agents biologiques présents dans les centres de biométhanisation

Risque	Microorganisme et/ou composant biologique en cause	Exemple de pathologie et/ou signe clinique associé
Irritation et/ou inflammation aiguës de la peau et des muqueuses, y compris respiratoires	- Moisissures et levures - Endotoxines - Mycotoxines - B-1-3-D-glucanes	Dermatite, rhinite, sinusite, conjonctivite, pharyngite, asthme, désordres gastro-intestinaux
Allergies		
Pneumopathies d'hypersensibilité ou immunologiques ou alvéolites allergiques extrinsèques	- <i>Saccharopolyspora spp</i> - <i>Mycobacterium spp</i> à l'exception de <i>M. tuberculosis</i> - Moisissures et levures - Endotoxines - Mycotoxines - B-1-3-D-glucanes	Maladie du poumon du fermier, poumon de compost (du syndrome grippal associant notamment toux sèche, dyspnée, fièvre, et céphalées à l'insuffisance respiratoire chronique avec signes bronchiques)
Pneumopathies toxiques	- Moisissures et levures ⁽¹⁾ - Endotoxines - Mycotoxines - B-1-3-D-glucanes	Syndrome toxique des poussières organiques
Pneumopathies infectieuses	<i>Legionella pneumophila</i>	Maladie du légionnaire (fièvre, toux sèche, confusion, céphalées, diarrhées, douleurs abdominales, frissons, etc.)
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculose (toux, perte de poids, sueurs nocturnes, fièvre, dyspnée, etc.)
Autres maladies infectieuses	<i>Actinomyces israelii</i>	Actinomycose (abcès douloureux dans la bouche, le thorax, et le tractus digestif ainsi que dans le système nerveux central)
	<i>Ascaris spp</i> (parasites)	Ascariodose (symptômes abdominaux et pulmonaires)
	<i>Clostridium spp</i>	De la bactériémie au choc septique, myonécrose (infection des tissus musculaires)
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Infection des voies urinaires et des tissus mous, endocardites
	Entérovirus	Conjonctivite aiguë hémorragique
	<i>Legionella pneumophila</i>	Fièvre de Pontiac (syndrome grippal)

Risque	Microorganisme et/ou composant biologique en cause	Exemple de pathologie et/ou signe clinique associé
	<i>Mycobacterium spp</i> à l'exception de <i>M. tuberculosis</i>	Lymphadénite (infection des glandes lymphatiques), infections de la peau et des tissus mous, otite, infection disséminée
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Conjonctivite chronique et autres infections oculaires Syndrome de choc toxique
	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Salmonella spp</i> - <i>Clostridium spp</i> - <i>Staphylococcus aureus</i>	Gastro-entérite de sévérité variable (accompagnée ou non de diarrhées sanglantes, douleurs abdominales, nausées, céphalées, etc.)
Cancérogénicité	Mycotoxines	Aflatoxine B1 : Cancer du foie ⁽²⁾ Fumonisine : possible facteur de risque pour le cancer du foie et de l'œsophage ⁽³⁾
Troubles neurologiques	- Moisissures et levures - Mycotoxines	Étourdissements nausées, céphalées, effets cognitifs et neuropsychologiques, syndrome de fatigue chronique

⁽¹⁾ Selon certains auteurs, le syndrome toxique des poussières organiques ne serait pas uniquement causé par les endotoxines, mais également par les moisissures et les levures (INRS, 2013)

⁽²⁾ L'aflatoxine B1 est classée cancérigène groupe 1 (agent cancérigène pour l'Homme) selon le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) (Lee et Ryu, 2015)

⁽³⁾ Cas rapportés en Afrique du Sud et en Chine dans des régions agricoles fortement contaminées par la fumonisine (Lee et Ryu, 2015).

Sources : Goyer *et al.*, 2001; Thaon *et al.*, 2006; Rylander *et al.*, 2008; Deacon *et al.*, 2009; Viau *et al.*, 2010; Searl et Crawford, 2012; Brewer *et al.*, 2013; INRS, 2013; Rohr *et al.*, 2015; Agence de la santé du Canada, 2016.

2.3 Exposition aux substances chimiques

Les sources de substances chimiques proviennent aussi bien des MOP, du biogaz, du digestat que du dérivé composté.

En 2005, des émissions de H₂S dans une usine de biogaz en Allemagne ont provoqué le décès de 4 travailleurs (INERIS, 2012). Des composés organiques volatils (COV) ainsi que des métaux lourds comme l'arsenic et le mercure sont également présents dans le biogaz en quantités variables, mais relativement peu documentées (HSE, 2011b; Searl et Crawford 2012). Bien que le biogaz produit soit emmagasiné et acheminé en circuit fermé, des cas d'émissions dans l'air ambiant ont été rapportés aussi bien durant les opérations normales de biométhanisation (combustion de biogaz dans la torchère de secours, combustion dans les moteurs ou encore en phase de maturation du digestat) (Bio-Tox, 2009) que lors de fuites

accidentelles (INERIS, 2012; Salvi *et al.*, 2012). Des composants corrosifs comme le H₂S, le NH₃ et des composés organométalliques (siloxanes) (HSE, 2011b; ATEE, 2011; US EPA, 2011) peuvent aussi être présents dans le biogaz. D'autres sources d'exposition potentielles sont les points d'injection de biogaz dans le réseau public (HSE, 2011b).

Des poussières chargées de substances chimiques peuvent également être émises lors des diverses manipulations des MOP, du digestat et de son dérivé composté (Searl et Crawford, 2012). Les composants chimiques ainsi répertoriés sont aussi bien des métaux lourds (plomb, nickel, cadmium, arsenic et mercure notamment), des COV (dont les terpènes à type d'alpha-pinène, de bêta-pinène et de D-limonène notamment) que des micropolluants organiques (dont les composés halogénés et la dioxine) (ADEME, 2011; ATEE, 2011; Al Seadi et Lukehurst, 2012; Searl et Crawford, 2012).

En résumé, les expositions des travailleurs affectés aux différentes activités de biométhanisation sont variables d'un site à l'autre selon les caractéristiques des MOP reçues (saison de collecte, origine, type, prétraitements adoptés) et des paramètres de la biométhanisation, tout particulièrement la température et le temps de séjour dans le digesteur. Pour un même site, les expositions des travailleurs vont également différer d'une étape du procédé de biométhanisation à l'autre et d'une saison à l'autre. Pour une même étape du procédé, le niveau d'exposition des travailleurs pourrait aussi varier selon les conditions de travail et selon les mesures de prévention en fonction lors des activités potentiellement génératrices de bioaérosols et de poussières organiques comme la manipulation et le prétraitement des MOP (Nadal *et al.*, 2009).

2.4 Risques associés aux substances chimiques

Les risques associés aux substances chimiques auxquelles sont potentiellement exposés les travailleurs des usines de biométhanisation sont présentés dans le tableau 2. Les risques associés aux métaux lourds varient de la simple irritation cutanéomuqueuse, y compris respiratoire, à la neurotoxicité voire la cancérogénicité. Ceux associés aux gaz incluent essentiellement des irritations, des symptômes respiratoires, des effets neurotoxiques et un risque d'asphyxie pouvant éventuellement induire la mort par anoxie en cas d'exposition à de fortes concentrations. Les risques associés à l'exposition potentielle à un mélange de substances chimiques demeurent toutefois très peu documentés (Searl et Crawford, 2012).

**Tableau 2 : Risques associés aux substances chimiques présentes
dans les centres de biométhanisation**

Risque	Substance chimique en cause	Exemple de pathologie et/ou de signes cliniques associés
Allergies	Métaux lourds	<i>Nickel</i> : dermatite allergique, urticaire <i>Mercur</i> : rash cutané
Asphyxie	CH ₄ , CO, CO ₂ (à très fortes concentrations), NH ₃	Maux de tête, nausées, incoordination et vertiges jusqu'au coma profond et la mort par anoxie (au-delà de 5000 ppm pour le NH ₃)
Atteintes oculaires	Gaz, métaux lourds	<i>H₂S</i> : kératoconjonctivite <i>Mercur</i> <i>inorganique</i> : coloration du cristallin (mercurialentis)
Cancérogénicité	Métaux lourds	<i>Arsenic</i> : cancer des poumons, des reins, de la peau <i>Cadmium</i> : cancer du rein et des poumons <i>Nickel</i> : cancer des poumons
Cardiotoxicité	Gaz, métaux lourds	<i>Arsenic</i> : hypertension artérielle, cyanose des doigts <i>H₂S</i> : arythmie, insuffisance cardiaque <i>Plomb</i> : incidence élevée de l'hypertension artérielle
Hématotoxicité	Métaux lourds	<i>Arsenic</i> , <i>plomb</i> : anémie
Hépatotoxicité	Dioxines, métaux lourds	<i>Arsenic</i> : cirrhose, atteinte hépatique aiguë Dioxines : perturbations des enzymes hépatiques
Irritations cutanéomuqueuses y compris respiratoires de sévérité variable	Gaz, métaux lourds	<i>Arsenic</i> : dermatite irritative <i>Cadmium</i> : laryngite, irritation pulmonaire sévère (fortes concentrations), emphysème, dyspnée COV : Toux, conjonctivite, dermatite, rhinite, irritation de la gorge <i>H₂S</i> : Irritation de la gorge et de la peau, dyspnée, syndrome d'irritation bronchique <i>Nickel</i> : rhinite, sinusite, dermatite irritative <i>NH₃</i> : Assèchement du nez, larmoiement, dommages à la cornée, irritation sévère des voies respiratoires, œdème pulmonaire <i>NO</i> , <i>NO₂</i> : Larmoiement, toux, dyspnée, nausées, œdème pulmonaire, bronchospasme
Néphrotoxicité	Métaux lourds	Insuffisance rénale aiguë, néphropathie tubulaire
Neurotoxicité	Gaz, dioxines, métaux lourds	CO ₂ : Leger effet narcotique COV : céphalées, nausées, étourdissement Dioxines : troubles du sommeil, polynévrite,

Risque	Substance chimique en cause	Exemple de pathologie et/ou de signes cliniques associés
		neuropathie périphérique <i>H₂S</i> : céphalées, paralysie du nerf olfactif, paralysie des centres respiratoires (décès en quelques minutes, à la suite d'une intoxication de plus de 1000 ppm) <i>Mercure</i> : polyneuropathie, déficits cognitifs, instabilité émotionnelle <i>Plomb</i> : troubles de l'humeur et de la mémoire, performance réduite aux tests cognitifs, atteinte des nerfs moteurs périphériques
Ototoxicité	Métaux lourds	<i>Arsenic</i> ¹ , <i>plomb</i> : perte de l'acuité auditive
Reprotoxicité	Métaux lourds	<i>Arsenic</i> , <i>plomb</i> : altération de la spermatogénèse, malformation fœtale, avortement spontané
Troubles dermatologiques	Dioxines	Chloracné, hyperpigmentation
Troubles gastro-intestinaux	Métaux lourds	<i>Arsenic</i> : nausées, vomissement, diarrhées (exposition à des doses faibles à partir de 0,005 mg/kg/j) <i>Cadmium</i> : nausées, salivation, crampes, diarrhées (ingestion) <i>Mercure</i> : gastro-entérite aiguë avec vomissement de sang par ingestion de grandes quantités <i>Plomb</i> : coliques, nausées, vomissement (intoxication importante)
Troubles métaboliques	Dioxines, gaz	<i>Dioxines</i> : hypercholestérolémie, diabète <i>H₂S</i> : accumulation d'acide lactique dans le sang.

CH₄ : méthane; CO : monoxyde de carbone; CO₂ : dioxyde de carbone; COV : composés organiques volatils; H₂S : sulfure d'hydrogène; NH₃ : ammoniac; NO, NO₂ : oxydes d'azote.

¹Bien que suspectée, l'ototoxicité de l'arsenic nécessite des investigations plus poussées, notamment l'électrocochléographie, les tests d'émissions otoacoustiques (Kesici, 2016)

Sources : US EPA, 2011; Searl et Crawford, 2012; ATSDR, 2014; INRS, 2015; Kim et Kim, 2015; CNESST, 2016;

3. OBJECTIFS DE RECHERCHE

L'objectif général de cette recherche est d'évaluer de manière exploratoire l'exposition aux substances chimiques et aux agents biologiques des travailleurs œuvrant dans des usines de biométhanisation des MOP au Québec.

D'une manière plus spécifique, cette étude vise à :

- 1) évaluer dans l'air ambiant les concentrations de microorganismes cultivables et totaux et de confirmer la présence d'indicateurs microbiens tels que *Saccharopolyspora rectivirgula*, *Mycobacterium* non tuberculeuses et les *Legionella*;
- 2) détecter et mesurer les concentrations de gaz, de poussières et de composés organiques volatils totaux;
- 3) apprécier le risque potentiel pour la santé des travailleurs en fonction des niveaux d'exposition réglementés et recommandés;
- 4) hiérarchiser les aires critiques de travail en fonction de ces risques.

4. MÉTHODOLOGIE

4.1 Description des usines

Cette étude s'est déroulée dans deux usines de biométhanisation des MOP de la province de Québec qui se différencient tant par l'origine des MOP reçues et prétraitées, que par la température de digestion anaérobie. La première usine est formée de deux complexes, désignés par « usine A1 » et « usine A2 », tandis que la seconde est désignée par « usine B ». Le tableau 3 décrit les deux usines.

Tableau 3 : Description des usines de biométhanisation

Usine	# de travailleurs	Q ^{té} MOP traitées ¹ (tonne)		Q ^{té} MOP traitées (tonne/an)	# et volume des trémies (m ³)	# et volume des citernes (m ³)	# jours dans biométhanaiseur	# et volume des biométhanaiseurs (m ³)	Q ^{té} biogaz/an (m ³)
		Été	Hiver						
A	A1 : 3	30,6	25	40 000	2 x 25	2 x 30	26	3 x 1600	13 000 000
	A2 : 4								
B	6	10	~20	27 200	1 x 125	3 x 90	30 à 50	1 x 1000 et 3 x 2000	3 000 000

¹Le jour de l'échantillonnage

4.1.1 Usine A1

Cette usine effectue le prétraitement mécanique des MOP issues des bacs bruns résidentiels, ainsi que des rejets d'épicerie et d'entreprises agroalimentaires. Les différents ateliers de cette usine figurent aux tableaux 4 et 5.

Les portes d'accès à cette usine sont ouvertes en été et closes en hiver. Les aires de réception et de prétraitement ne sont pas cloisonnées; elles sont seulement séparées par des rideaux métalliques qui demeurent toujours ouverts durant les périodes d'activité de l'usine. L'aire de réception des MOP est configurée de manière à permettre à deux camions-bennes d'y pénétrer et d'y décharger les MOP. D'autres engins lourds, de types chargeuses ou chariots élévateurs, peuvent également y circuler. L'aire de réception est dotée d'un système de contrôle des odeurs par boues activées. L'aire de prétraitement est dotée d'un système de ventilation générale ayant été complètement fonctionnel durant les deux sessions d'échantillonnage. De plus, des systèmes de réduction à la source sont disposés au-dessus des bennes basculantes de l'aire de prétraitement.

Après déchargement dans les bennes basculantes, les MOP font l'objet d'une surveillance et peuvent être au besoin débarrassées de matières non pertinentes ou déchetées à l'aide d'une perche à embout métallique manipulée par un opérateur, qui est juché sur un poste de surveillance attendant à chacune des bennes basculantes. La suite des opérations dans l'aire de prétraitement est entièrement mécanisée. Les MOP glissent par gravité vers la vis sans fin dont est dotée chacune des bennes, ce qui permet leur transfert vers l'un des deux broyeurs à marteaux. Chacun des broyeurs est raccordé à un aqueduc de service afin de permettre

l'arrosage des MOP, au besoin, assurant ainsi un broyage en milieu humide. Ces broyeurs jouent le rôle de séparateurs puisqu'ils permettent l'extraction des matières inertes, notamment le plastique et le métal. Ces dernières en ressortent sèches et sont acheminées vers une cuve de récupération jouxtant le broyeur/séparateur. Propre et finement broyée, la matière organique prend la consistance d'une bouillie, ce qui lui vaut la dénomination de « consommé » ou « substrat ». Elle est ensuite évacuée du broyeur/séparateur à l'aide d'un système de pompage qui la dirige vers deux citernes de stockage, d'une capacité de 30 m³ chacune. Après remplissage, les citernes et leur contenu sont transportés vers l'usine A2.

Le plateau de maturation ou plate-forme de compostage, dernière étape de post-traitement des MOP digérées, occupe une superficie de plus de 2 000 m² et sert de lieu d'entreposage du digestat déshydraté, provenant de la digestion d'un mélange de MOP prétraités (usine A1) et de boues d'épuration des eaux usées (usine A2) pour cette usine. Cette surface extérieure couverte est complètement séparée des autres aires de travail de l'usine A1. Le digestat déshydraté y subit des opérations de retournement programmées du 1^{er} avril au 30 novembre. Par conséquent, ce plateau n'était pas en activité durant la période d'échantillonnage hivernal, ne servant que de site d'entreposage. Par ailleurs, il ne fonctionnait pas à plein potentiel lors des échantillonnages d'été. Lors des interventions de l'équipe scientifique, ce plateau bénéficiait d'une ventilation naturelle, les accès étant ouverts en été et clos, à l'aide de rideaux, en hiver.

4.1.2 Usine A2

Cette usine combine une station d'épuration des eaux usées et un site de digestion anaérobie en condition mésophile. Elle est entièrement automatisée. Le processus de digestion anaérobie s'applique à un mélange constitué du « consommé », issu du prétraitement mécanique des MOP dans l'usine A1, et de boues provenant de la station d'épuration des eaux usées (usine A2).

Les opérations de purification du biogaz n'avaient pas encore démarré à l'époque des échantillonnages. Après purification, le biogaz produit, qui pourra être utilisé comme source d'énergie, est acheminé vers le réseau de Gaz Métro. Quant au digestat, il est évacué vers les salles des filtres-presses pour y subir une déshydratation par centrifugation afin d'extraire la fraction solide, désignée sous le vocable de « gâteau ». La salle est dotée de quatre filtres-presses ainsi que d'un système de ventilation général. Le débit de ventilation n'a toutefois pas été mesuré. La pâte solide extraite des filtres-presses transite ensuite en circuit fermé vers un séchoir pour être transformée en granules ou vers une aire de vidange pour être chargée dans des camions et transportée vers le plateau de maturation de l'usine A1 afin d'y subir un post-traitement final.

Les schématisations des procédés des deux usines, avec indication des sites de prélèvements sélectionnés, sont présentées aux figures 2 (usines A1 et A2) et 3 (usine B).

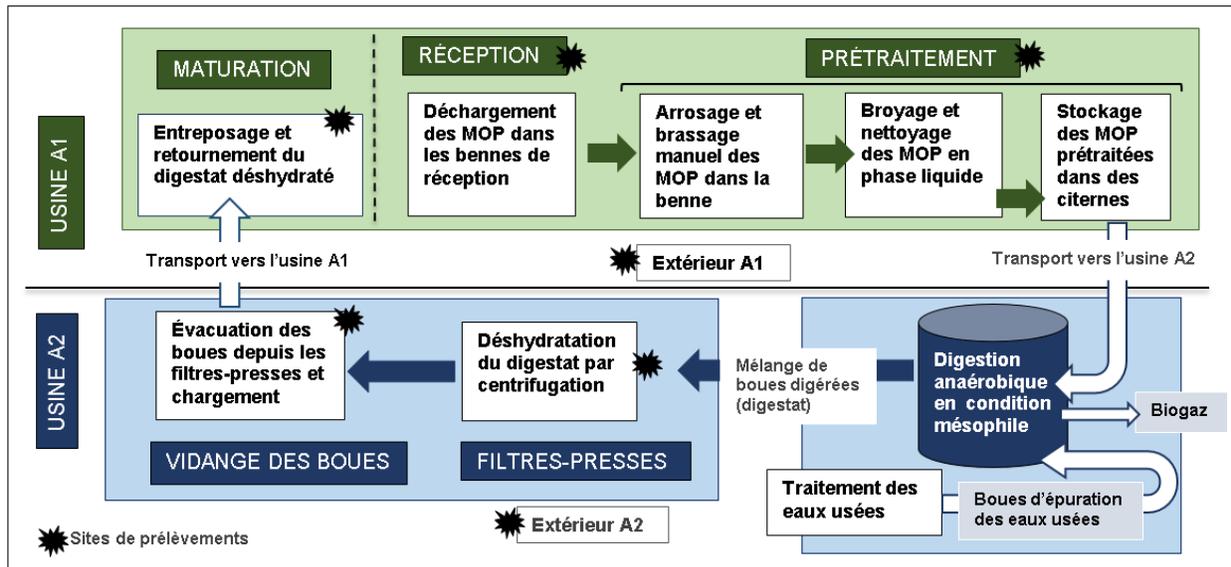


Figure 2 : Schématisation du procédé de l'unité de biométhanisation composée des usines A1 et A2, avec identification des sites de prélèvements.

4.1.3 Usine B

L'usine de biométhanisation B opère en condition thermophile, c.-à-d. à une température de 55 °C. L'usine est composée de trois zones : la réception des MOP, issues des bacs bruns résidentiels y compris les papiers et cartons souillés par les aliments, la mise en réservoir tampon des MOP prétraitées et un espace extérieur réservé à la digestion anaérobie.

La zone de réception des MOP est un espace où se déroulent deux événements concomitants: la réception des MOP dans une benne géante d'une capacité de 100 m³ et leur broyage primaire à l'aide d'un broyeur/séparateur à marteaux. L'ouverture de la benne se situe au ras du sol, dans la zone de réception, tandis que son volume occupe une partie importante du sous-sol, dans la zone du réservoir tampon. Au sous-sol, un conduit relie la base de la benne à un convoyeur à vis oblique qui remonte les MOP brassées vers le broyeur/séparateur au niveau du sol. La zone de réception est dotée d'un système de ventilation de type général, mais qui n'a pas été fonctionnel durant la session d'échantillonnage d'été, information confirmée par le gestionnaire de l'usine. L'aération des locaux était assurée de façon naturelle par l'ouverture de toutes les portes d'accès durant l'ensemble des activités. Il existe un système de réduction à la source localisé sur les côtés verticaux de la benne de réception. Cette dernière demeure ouverte durant les activités de l'usine, été comme hiver, mais elle est couverte d'une bâche de protection à l'arrêt des travaux. Les camions-bennes déchargent directement leur contenu dans la benne de réception, tout en demeurant quasi totalement à l'extérieur de l'usine. Les MOP sont ensuite dirigées vers le convoyeur du broyeur à l'aide de 5 vis sans fin situées dans le fond de la benne et dont le but est d'optimiser le mélange des MOP. Des arrosages intermittents à l'aide de jets d'eau de service assurent également le mouillage des MOP. Celles-ci sont ainsi broyées en milieu humide tandis qu'en sont extraits les contaminants ou matières inertes, tels que plastiques et métaux. Ces rebuts secs sont récupérés dans une cuve attenante au broyeur. Exceptionnellement, lors de la session d'échantillonnage d'été, le brassage et le mélange des MOP dans la benne ont été assistés par une pelle mécanique.

Une fois fluidisées, broyées et débarrassées d'un maximum d'impuretés, les MOP sont transférées par un ou des conduits vers la zone de mise en réservoir tampon, au niveau sous-sol, afin d'y être stockées. Cette zone de réservoir tampon est aussi dotée d'un système de ventilation qui n'était pas fonctionnel durant l'échantillonnage d'été. Les MOP stockées dans ce réservoir vont transiter vers un second broyeur/séparateur par voie liquide afin d'y subir un ultime mixage, broyage et décontamination. Elles sont par la suite acheminées vers le ou les digesteurs, selon le volume à traiter.

Bien que du biogaz ait été produit lors des échantillonnages à l'usine B, celui-ci n'était pas encore équilibré et des ajustements, pour en optimiser la valorisation, était en cours. Le post-traitement du digestat n'était pas non plus opérationnel au moment des échantillonnages. Il est ainsi prévu que le biogaz produit soit valorisé par des procédés de raffinage et de liquéfaction pour en permettre l'utilisation sous forme de carburant pour les camions-remorques ou de gaz naturel, injectable dans le réseau gazier. Le digestat sera ultimement destiné à être valorisé par voies directe (épandage agricole) ou indirecte, après post-traitement par déshydratation (séparation de phase solide/liquide) suivi d'une étape de maturation (compostage).

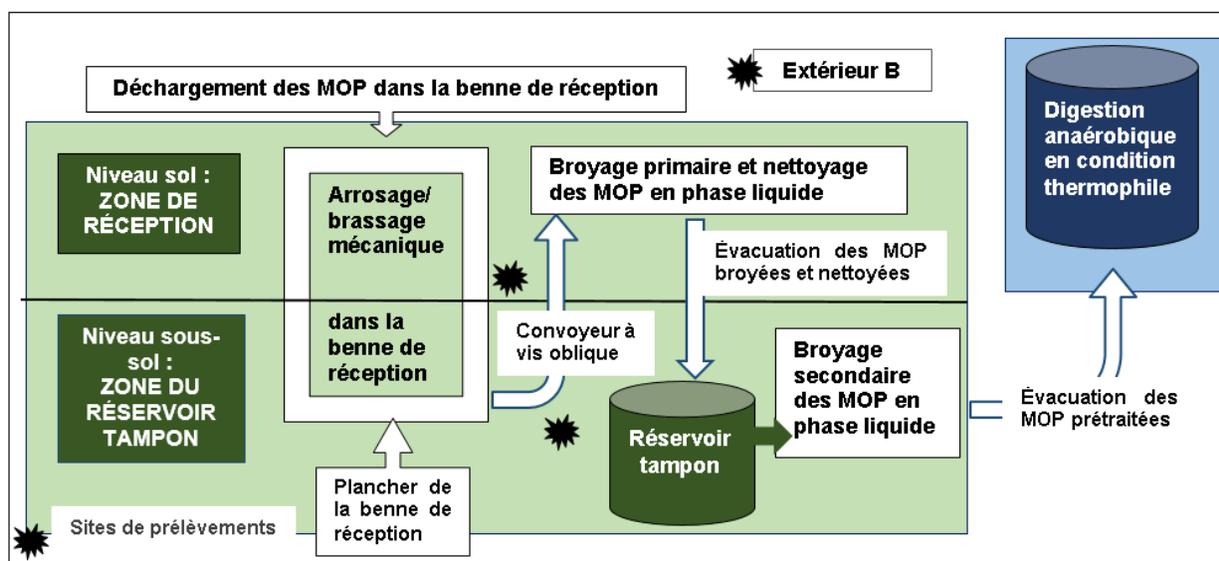


Figure 3 : Schématisation du procédé de l'usine B de biométhanisation avec identification des sites de prélèvements.

4.2 Plan d'échantillonnage

Selon la littérature, les saisons peuvent être un facteur d'influence sur les concentrations microbiennes. L'échantillonnage a donc été réalisé en été et en hiver pour chaque usine (Zucker et Muller, 2004; ADEME, 2011; Searl et Crawford, 2012; Dubuis *et al.*, 2017; Marchand *et al.*, 2017). Comme recommandé, un minimum de six échantillons par contaminant chimique a été prélevé dans la journée, en vue d'estimer les expositions moyennes par inhalation (Mulhausen et Damiano, 1998; ACGIH, 1999). Les sites de prélèvements correspondent aux ateliers où les MOP sont manipulées (tableaux 4 et 5). Pour les agents biologiques, des contrôles de l'air extérieur ont été réalisés afin d'obtenir la mesure du bruit de fond. En raison des températures sous le point de congélation durant l'hiver, les bruits de fond n'ont pu être

échantillonnés qu'en été. De fait, les milieux collecteurs et les appareils d'échantillonnage ne peuvent supporter les températures sous le point de congélation.

Les sites de prélèvements ont été repérés lors de deux visites préliminaires.

L'usine A1 a été échantillonnée le 28 juillet 2015 et le 26 janvier 2016. Le plateau de maturation du digestat déshydraté n'a pas été échantillonné en hiver, car il est non fonctionnel du premier décembre à la fin mars. Il s'agit d'une décision interne de la direction de l'usine A1, car la saison hivernale n'est pas propice à l'épandage du compost sur les champs.

L'usine A2 a été échantillonnée le 30 juillet 2015 et le 27 janvier 2016. Les échantillonnages de l'usine B ont été réalisés le 26 août 2015 et le 10 février 2016.

4.3 Prélèvements des bioaérosols

L'utilisation des approches moléculaires et par culture pour les prélèvements des bioaérosols permettent d'obtenir une image plus représentative de l'environnement étudié (Dubuis *et al.*, 2017). De fait, les bactéries identifiées avec les approches par culture sont souvent non identifiées avec les méthodes moléculaires démontrant ainsi leur complémentarité (Shade *et al.*, 2012). De même, à cause de leurs forces et de leurs faiblesses, plusieurs types d'échantillonneurs ont été utilisés afin d'obtenir des résultats qui se rapprochent le plus de la réalité.

4.3.1 Analyse des bioaérosols cultivables

Les bactéries et moisissures mésophiles ont été prélevées à l'aide d'impacteurs à six étages de marque Andersen (Andersen Instruments Inc., Atlanta, GA, USA). Trois prélèvements par type de microorganisme ont été réalisés dans chaque site intérieur tandis qu'un seul a été effectué pour mesurer le bruit de fond dans l'air extérieur. À chaque site, les échantillons ont été prélevés pendant 10 minutes pour un total de 6 prélèvements par site et par saison (3 pour les bactéries mésophiles et 3 pour les moisissures mésophiles), sauf dans l'usine A1 où 8 prélèvements ont été effectués en hiver dans les aires de réception et de prétraitement (4 pour les bactéries mésophiles et 4 pour les moisissures mésophiles). Les bactéries mésophiles ont été prélevées sur des géloses Trypticase soja (TSA) avec de l'amphotéricine B tandis que les moisissures mésophiles l'ont été sur des géloses à extrait de malt (MEA) avec du chloramphénicol. Les temps d'incubation ont été de 48 h pour les bactéries et de 7 jours pour les moisissures, alors que la température d'incubation a été identique pour les deux types de microorganismes, soit 25 °C.

Les analyses des actinomycètes thermophiles et des moisissures thermotolérantes ont été effectuées avec les échantillonneurs Andersen dans la version N6, Super Air Sampler (SAS) Duo (Bioscience International, Rockville, USA) et Microbial Air Sampler (MAS)-100 NT (MBV, Stäfa, Suisse). Les prélèvements ont été réalisés en triplicata dans chacun des sites. Considérant que le SAS Duo permet la récolte de deux échantillons, le nombre de ceux-ci est doublé. Ainsi, 12 prélèvements par site ont été effectués avec le SAS Duo, 6 avec le MAS-100 NT et 6 avec l'Andersen N6, à l'exception de l'usine A2 où, en hiver, 16 mesures ont été obtenues pour le SAS Duo dont 8 chacun pour le MAS-100 NT et le N6, aussi bien pour les aires de réception que pour celles de prétraitement. Les volumes d'air prélevés ont été de 200 L

pour le SAS Duo, de 250 L pour le MAS-100 NT et d'environ 140 L pour l'Andersen N6. D'autre part, les milieux de culture utilisés étaient identiques à ceux des dénombrements des bactéries et moisissures mésophiles cultivables. La température d'incubation a toutefois été de 52 °C pour les thermoactinomycètes et de 45 °C pour les moisissures thermophiles.

L'échantillonneur haut débit Coriolis μ (Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux, France) a été utilisé afin d'effectuer des prélèvements directement en milieu liquide. Ces prélèvements ont été étalés sur des milieux TSA pour la culture des bactéries mésophiles et sur des milieux MEA permettant la culture des moisissures mésophiles et thermophiles. Le temps d'échantillonnage a été de 10 minutes à un débit de 200 L/min pour un volume final de 2 m³ d'air par échantillon. Un total de trois échantillons par site a été prélevé, à l'exception de l'usine A1 pour laquelle 4 prélèvements ont été effectués en hiver dans les aires de réception et de prétraitement.

Les concentrations mesurées ont été comparées à celles de l'air extérieur et aux valeurs recommandées. La flore cultivable a été évaluée par la méthode décrite par Dubuis *et al.*, (2017).

Les prélèvements d'endotoxines ont été réalisés à l'aide de cassettes 37 mm en trois sections et munies de membranes de fibre de verre d'une porosité de 1 μ m, en triplicata (SKC Inc. Eighty-Four, Pennsylvania, USA) tel que décrit par Gilbert *et al.*, (2010). Un seul échantillon a été effectué comme contrôle extérieur. La méthode de lysat d'améboocytes de *Limulus* (LAL) cinétique chromogénique (Lonza, Walkersville, Maryland, USA) a été utilisée pour leur dosage.

4.3.2 Analyse des bioaérosols totaux par biologie moléculaire

Pour les analyses utilisant les techniques de biologie moléculaire, le Coriolis μ ainsi que le Smart Air Sampler System 3100 ou SASS 3100 (Research International Inc., Monroe, USA) ont été utilisés. Les culots de cellules des échantillons prélevés à l'aide du SASS 3100 et du Coriolis μ ont été conservés pour étudier leurs biodiversités bactérienne et fongique.

Le SASS 3100 permet l'impaction sur filtre des bioaérosols, et ce, à un très haut débit de 300 L/min. Le SASS 3100 a permis la récupération d'un volume de 30 m³ d'air, pour une période d'échantillonnage d'une durée de 100 min. Le SASS 3100 est un échantillonneur sec qui récupère les bioaérosols ainsi que les microorganismes qu'il contient sur des filtres chargés électriquement. Ceux-ci sont ensuite placés dans un extracteur qui permet de récupérer les microorganismes dans un tampon d'extraction '*SASS 3100 Extraction Buffer*' à base de chlorure de sodium (NaCl), de chlorure de potassium (KCl), de phosphate de sodium, d'un détergent (le triton) et d'azotate de sodium. Les mesures ont été réalisées une fois dans chaque site, à l'exception de l'usine A2 où, en hiver, deux mesures ont été prises dans les aires de réception et de prétraitement.

Les extraits d'ADN (acide désoxyribonucléique) ont par la suite été analysés grâce à l'approche de réaction en chaîne par polymérase quantitative (qPCR). Pour les bactéries, les gènes codants pour l'ARN ribosomique 16S (ARNr 16S) ont été amplifiés afin de les quantifier de façon non spécifique; d'autres marqueurs spécifiques permettant d'évaluer les risques pour la santé humaine tels que, *Legionella spp*, *Legionella pneumophila*, *Saccharopolyspora rectivirgula* et *Mycobacterium spp* ont également été utilisés.

Les échantillons suffisamment concentrés en ADN ont par la suite été analysés à l'aide d'un séquenceur de nouvelle génération à la plateforme de séquençage de l'IBIS (Institut de biologie intégrative et des systèmes) de l'Université Laval. La construction des bibliothèques, l'amplification et le séquençage de l'ADN bactérien ont été effectués en utilisant le système MiSeq de la compagnie Illumina® (Illumina Inc., San Diego, USA). Cette approche permet d'obtenir un profil global de la biodiversité bactérienne des échantillons. Ce profil a été obtenu par le séquençage de la région ITS1 (Internal Transcribed Spacer 1, située entre l'ARN ribosomique 18S et celui 5,8S), souvent utilisée comme marqueur fongique universel.

L'analyse bio-informatique pour le traitement des données et la visualisation des résultats de diversité est différente pour les bactéries et les moisissures. Dans les deux cas, les outils Mothur, QIIME et USEARCH ont été utilisés. Précisons que les protocoles d'analyse bio-informatique ont été développés de façon personnalisée pour les besoins du projet.

Les marqueurs potentiels de risque pour la santé des microorganismes prélevés dans les usines de biométhanisation de MOP ont été établis à partir de la présence des légionnelles, de *Saccharopolyspora rectivirgula* et des mycobactéries non tuberculeuses.

4.3.3 Mesure de la granulométrie et des bioaérosols totaux

Le spectromètre UV-APS à fluorescence (Model 3314, TSI, Minnesota, USA) a été utilisé afin d'analyser en temps réel la quantité des particules d'origines biologique et non biologique émises dans l'air durant les différentes étapes du procédé de biométhanisation. De fait, cet appareil utilise une longueur d'onde d'excitation de 355 nm et mesure la fluorescence ultraviolette entre 420 et 575 nm, qui est propre aux microorganismes. Cet appareil permet de distinguer entre la fraction biologique associée à la fluorescence et celle qui est non biologique. Il établit également la structure fine ou la granulométrie d'un aérosol, de façon quasi instantanée, pour les particules dont le diamètre aérodynamique se situe entre 0,5 et 15 µm.

4.4 Prélèvements des substances chimiques

Le méthane (CH₄), l'anhydride carbonique (CO₂), le monoxyde de carbone (CO), l'hydrogène sulfuré (H₂S), l'ammoniac (NH₃), les oxydes d'azote (NO, NO₂) ont été mesurés aux différents sites identifiés, et ce, à l'aide d'instruments à lecture directe (ILD) avec piles électrochimiques de marque Ibrid MX6 (Industrial Scientific Corp., Oakdale, PA, USA), munis d'accumulateurs de données. Les mesures obtenues, dont l'exactitude est de ± 5 %, ont été comparées aux valeurs d'exposition moyennes pondérées (VEMP) du [Règlement sur la santé et la sécurité du travail](#) (RSST) S-2.1, r.19.01. (RSST, 2013).

Les composés organiques volatils (COV) totaux ont été mesurés de manière instantanée avec des détecteurs par photo-ionisation. Toutefois, certains COV ont été prélevés dans des tubes de charbon actif afin de les caractériser spécifiquement. Les terpènes (α-pinène, β-pinène, 3-carène, D-limonène) et l'éthanol ont été particulièrement ciblés étant donné leur abondance dans ce type d'activité (Smet *et al.*, 1999; ADEME, 2011). Les mesures obtenues ont été comparées avec celles recensées dans la littérature scientifique relativement à ce secteur d'activité.

Les métaux pouvant se retrouver potentiellement dans l'air de ce type de milieu (plomb, nickel, cadmium, arsenic) ont été prélevés avec des échantillonneurs Gil-air, avec un débit de 1,5 L/min sur des filtres en ester de cellulose 0,8 micron de porosité et ils ont été analysés par spectrophotométrie par absorption atomique. Les concentrations mesurées ont été comparées avec les VEMP du RSST S-2.1, r.19.01 (RSST, 2013).

Les poussières totales dans l'air ont été prélevées avec des cassettes ACUCAP munies de filtres en polychlorure de vinyle (PVC) 0,8 micron (SKC Inc., Eighty Four, Pennsylvania, USA). Les concentrations obtenues ont été comparées aux valeurs du RSST S-2.1, r.19.01 pour les poussières inhalables (RSST, 2013).

Les tableaux 4 et 5 présentent les synopsis des paramètres analysés lors de l'évaluation de l'exposition des travailleurs, et ce, en fonction des sites de prélèvement lors du procédé de biométhanisation dans les usines A1, A2 et B.

4.5 Traitement statistique

Les concentrations moyennes des substances chimiques et les intervalles de confiance sur le 95^e centile ont été comparés aux VEMP en utilisant le logiciel IHSTAT de l'American Industrial Hygiene Association (AIHA). Les concentrations de bioaérosols ont été comparées avec celles retrouvées en amont, dans la direction des vents, par des analyses de la variance des données (ANOVA), transformées de façon logarithmique en raison de leur distribution log-normal. Pour les ANOVA significatives ($p \leq 0,05$), des tests de comparaisons multiples de Tukey-Kramer ont été réalisés sur les différents facteurs. La version 11 du logiciel NCSS a été utilisée pour effectuer ces analyses statistiques et les calculs (Hintze, 2013). Des tests de Friedman et de Wilcoxon ont été utilisés pour la comparaison des échantillonneurs Andersen N6. Ceux-ci ont été réalisés à l'aide du logiciel GraphPad (Graphpad Software, La Jolla, CA, USA).

Au total, 421 échantillons microbiens ont été prélevés. La grande majorité des concentrations des substances chimiques, sauf les COV spécifiques (420 échantillons), les métaux (336 échantillons) et les poussières inhalables (84 échantillons), a été prélevée avec des instruments à lecture directe munis d'accumulateur de données intégrées.

Tableau 4 : Synopsis des paramètres microbiens analysés dans l'évaluation de l'exposition des travailleurs en fonction des sites de prélèvements, lors du procédé de biométhanisation des MOP

Site de prélèvement (atelier)	Bioaérosol cultivable (UFC/m ³) ⁽¹⁾				Bioaérosol total (copies 16S/m ³ pour les bactéries)						DAM ⁽²⁾	Endotoxine
	Bactérie mésophile	Moissure mésophile	Actinomycète thermophile	Moissure thermophile totale	Bactérie totale	<i>Saccharo-polyspora rectivirgula</i>	<i>Legionella spp</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	Mycobactérie	Biodiversité		
USINE A1												
Réception	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Prétraitement	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Maturation	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Extérieur A1	√	√	√	√	√	√	-	-	-	-	√	√
USINE A2												
Filtre-presse	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Vidange des boues	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Extérieur A2	√	√	√	√	√	√	-	-	-	-	√	√
USINE B												
Réception	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Tampon	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Extérieur B	√	√	√	√	√	√	-	-	-	-	√	√
Valeurs guides	10 000	1 000	10⁵	1 000	100 000	-	10³	10³	Présence	-	-	90 UE/m³ ⁽³⁾

¹UCF/m³ : unités formatrices de colonies par mètre cube d'air.

² Diamètre aérodynamique médian

³ UE/m³ : unités d'endotoxines par mètre cube d'air

Tableau 5 : Synopsis des paramètres chimiques analysés dans l'évaluation de l'exposition des travailleurs en fonction des sites de prélèvement, lors du procédé de biométhanisation des MOP

Site de prélèvement (atelier)	Gaz (ppm)							Métal (mg/m ³)				COV (ppm)						Poussière		
	CH ₄	CO ₂	CO	NO	NO ₂	NH ₃	H ₂ S	Pb	Ni	Cd	As	α-pinène	β-pinène	3-carène	D-imonène	Éthanol	Totaux	Inhalable	DAM ⁽³⁾	
USINE A1																				
Réception	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Prétraitement	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Maturation	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Extérieur A1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	√	√	√
USINE A2																				
Filtre-presse	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Vidange des boues	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Extérieur A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	√	√	√
USINE B																				
Réception	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Tampon	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Extérieur B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	√	√	√
VMR ⁴								0,0004	0,008	0,0002	0,0003	0,6	0,6	0,6	0,2	0,05	0,05	0,1		
L.D. ⁵	0,25%	300	0,5	0,5	0,05	0,5	0,05													
VEMP ⁽¹⁾	AS ⁽²⁾	5 000	35	25	3	25	10	0,05	1	0,025	0,1	-	-	-	-	1000	-	10	-	

¹VEMP : Valeur d'exposition moyenne pondérée (Règlement sur la santé et la sécurité du travail, S-2.1, r.19.01)²AS : Asphyxiant simple; ³Diamètre aérodynamique médian; ⁴VMR : Valeur minimale rapportée; ⁵L.D. : Limite de détection

5. RÉSULTATS ET DISCUSSION

5.1 Particules non fluorescentes et fluorescentes (bioaérosols totaux) UV-APS

5.1.1 Analyse statistique descriptive

Les résultats de l'analyse statistique descriptive (moyennes et médianes des concentrations numériques, diamètres aérodynamiques médians et écarts-types) des particules non fluorescentes et fluorescentes (bioaérosols totaux) mesurées avec l'UV-APS TSI 3314 pour les différents sites d'échantillonnage, en été et en hiver, sont présentés aux tableaux 6 (usine A1), 7 (usine A2) et 8 (usine B).

Tableau 6 : Concentrations moyennes et diamètres aérodynamiques médians des particules de l'usine A1

Atelier	Saison	n ⁽¹⁾	Particule non fluorescente		Particule fluorescente	
			Concentration moyenne (±ET) (#/m ³)	DAM ⁽²⁾ (±ET) (µm)	Concentration moyenne (±ET) (#/m ³)	DAM ⁽²⁾ (±ET) (µm)
Réception	Été	13 ⁽³⁾	9,4 x 10 ⁶ (6,2 x 10 ⁶)	0,8 (0,03)	1,1 x 10 ⁵ (4,9 x 10 ⁴)	3 (0,2)
		11 ⁽⁴⁾	7,0 x 10 ⁶ (1,3 x 10 ⁶)	0,7 (0,01)	1,8 x 10 ⁵ (5,0 x 10 ⁴)	2,9 (0,2)
	Hiver	52	2,0 x 10 ⁷ (8,6 x 10 ⁶)	1 (0,1)	2,8 x 10 ⁵ (1,9 x 10 ⁵)	3,6 (0,6)
Prétraitement	Été	33	1,2 x 10 ⁷ (8,6 x 10 ⁶)	0,8 (0,1)	3,8 x 10 ⁵ (3,6 x 10 ⁵)	3,2 (0,2)
	Hiver	28	2,9 x 10 ⁷ (1,3 x 10 ⁷)	0,9 (0,03)	7,3 x 10 ⁵ (4,1 x 10 ⁵)	3,7 (0,5)
Maturation	Été	17	5,3 x 10 ⁶ (1,6 x 10 ⁶)	0,7 (0,03)	1,4 x 10 ⁵ (1,2 x 10 ⁵)	3,5 (0,4)
Extérieur A1	Été	2	3,7 x 10 ⁶ (4,2 x 10 ⁵)	0,7 (0,01)	7,8 x 10 ⁴ (2,6 x 10 ⁴)	3,1 (0,1)

¹ n: nombre d'échantillons (effectif)

² DAM : diamètre aérodynamique médian

³ Durant les activités normales du matin

⁴ Durant l'après-midi lors du déversement accidentel du contenu solide et du lixiviat d'un camion-benne de livraison des MOP, suivi du lavage du plancher par jet d'eau

Tableau 7 : Concentrations moyennes et diamètres aérodynamiques médians des particules de l'usine A2

Atelier	Saison	n ⁽¹⁾	Particule non fluorescente		Particule fluorescente	
			Concentration moyenne (±ET) (#/m ³)	DAM ⁽²⁾ (±ET) (µm)	Concentration moyenne (±ET) (#/m ³)	DAM ⁽²⁾ (±ET) (µm)
Filtre-presse	Été	21	1,1 x 10 ⁷ (4,8 x 10 ⁶)	0,6 (0,01)	7,4 x 10 ⁴ (2,7 x 10 ⁴)	2,8 (0,2)
	Hiver	27	8,6 x 10 ⁵ (6,3 x 10 ⁴)	0,8 (0,1)	1,4 x 10 ⁴ (1,5 x 10 ⁴)	2,4 (0,5)
Vidange des boues	Été	22	1,4 x 10 ⁷ (2,9 x 10 ⁶)	0,6 (0,009)	4,9 x 10 ⁵ (2,5 x 10 ⁵)	3,3 (0,3)
	Hiver	55	1,3 x 10 ⁶ (5,0 x 10 ⁵)	0,8 (0,03)	9,4 x 10 ³ (6,7 x 10 ³)	2,9 (0,3)
Extérieur A2	Été	14	2,5 x 10 ⁷ (2,6 x 10 ⁵)	0,6 (0,01)	5,4 x 10 ⁴ (1,2 x 10 ⁴)	2,6 (0,1)

¹ n : nombre d'échantillons; ² DAM : diamètre aérodynamique médian

Tableau 8 : Concentrations moyennes et diamètres aérodynamiques médians des particules de l'usine B

Atelier	Saison	n ⁽¹⁾	Particule non fluorescente		Particule fluorescente	
			Concentration moyenne (±ET) (#/m ³)	DAM ⁽²⁾ (±ET) (µm)	Concentration moyenne (±ET) (#/m ³)	DAM ⁽²⁾ (±ET) (µm)
Réception	Été	28	2,3 x 10 ⁷ (7,2 x 10 ⁶)	0,8 (0,02)	4,9 x 10 ⁵ (2,9 x 10 ⁵)	3,1 (0,3)
	Hiver	48	4,2 x 10 ⁶ (3,9 x 10 ⁶)	0,9 (0,1)	2,5 x 10 ⁴ (2,6 x 10 ⁴)	3,6 (0,7)
Tampon	Été	8	2,3 x 10 ⁷ (3,5 x 10 ⁶)	0,8 (0,01)	4,2 x 10 ⁵ (5,7 x 10 ⁴)	2,9 (0,1)
	Hiver	15	7,2 x 10 ⁵ (5,5 x 10 ⁴)	1 (0,01)	5,4 x 10 ³ (7,6 x 10 ³)	2,6 (0,8)
Extérieur B	Été	10	4,8 x 10 ⁶ (1,7 x 10 ⁶)	0,8 (0,01)	8,6 x 10 ⁴ (1,4 x 10 ⁴)	3 (0,03)

¹ n : nombre d'échantillons; ² DAM : diamètre aérodynamique médian

Quelques tendances se dégagent :

- en été, toutes les concentrations moyennes de particules fluorescentes mesurées à l'intérieur des usines ont été supérieures à celles mesurées à l'extérieur. Par contre, la concentration moyenne de particules non fluorescentes mesurées à l'extérieur de l'usine A2 a été supérieure à toutes celles mesurées dans les autres ateliers.
- en hiver, les concentrations moyennes de particules non fluorescentes et fluorescentes les plus élevées ont été calculées dans l'usine A1 alors que les plus faibles concentrations moyennes des deux types de particules l'ont été dans la zone du réservoir tampon de l'usine B.
- en été, outre à l'extérieur de l'usine A2, les concentrations moyennes de particules non fluorescentes et fluorescentes les plus élevées ont été évaluées dans la zone de réception de l'usine B. Pour la même saison, les plus faibles concentrations moyennes de particules non fluorescentes ont été mesurées dans le plateau de maturation de l'usine A1 alors que les plus faibles concentrations moyennes de particules fluorescentes l'ont été dans la salle des filtres-presses de l'usine A2.
- les concentrations moyennes de particules fluorescentes mesurées dans l'aire de réception, en été, lors de l'épisode de déversement accidentel ont été plus élevées que celles mesurées durant la période d'activité normale. Ce déversement et le lavage par jet d'eau du plancher qui s'en est suivi auraient pu favoriser une élévation des concentrations de particules fluorescentes. La survenue possible de ce type d'évènement invite donc à envisager des mesures plus poussées en matière de protection personnelle de l'ensemble des travailleurs présents sur les lieux.

En plus d'appuyer les tendances globales dégagées par l'analyse statistique descriptive (tableaux 6, 7 et 8), l'analyse de la variance et les tests de comparaisons multiples de Tukey-Kramer ont permis d'affiner les observations en tenant compte de facteurs d'influences tels que l'usine, les ateliers et les activités (arrosage, brassage, nettoyage, remplissage des bennes, réparation, etc.).

Tests de comparaisons multiples de Tukey-Kramer

Les résultats des tests multiples de Tukey-Kramer sont représentés graphiquement aux figures 4 à 10. Les résultats observés à la figure 4 démontrent que les concentrations de particules non fluorescentes mesurées dans les trois usines sont significativement différentes les unes des autres. Les concentrations les plus élevées sont observables dans l'usine A1 alors que les plus faibles sont obtenues dans l'usine A2. En matière de particules fluorescentes, les concentrations obtenues dans l'usine A2 sont significativement plus faibles que celles mesurées dans les deux autres usines.

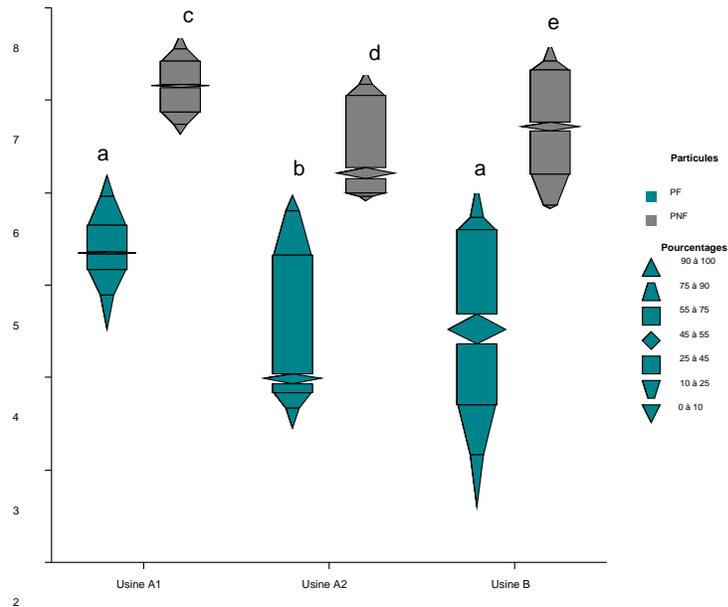


Figure 4 : Centiles des logarithmes des concentrations des particules non fluorescentes et fluorescentes dans les usines A1, A2 et B, sans égard à la saison.

Une lettre différente signifie une différence significative entre les groupes.

La figure 5 démontre que les concentrations de particules fluorescentes et non fluorescentes les plus élevées ont été mesurées dans l'aire de prétraitement de l'usine A1, et ce, peu importe la saison. Les concentrations les plus élevées dans cette usine ont toutefois été observées en hiver. D'ailleurs, lors de la prise des échantillons en hiver, de nombreuses activités ont été notées dans l'aire de prétraitement, favorisant possiblement l'émission et/ou la remise en suspension de particules, qu'elles soient non fluorescentes ou fluorescentes, expliquant ces observations. En effet, non seulement deux camions-bennes ont vidangé leur contenu dans une des bennes basculantes de l'aire de prétraitement, mais d'autres activités incluant l'ouverture des portes, l'entrée de camions équipés de moteurs alimentés au diésel, le remplissage de la benne suivi d'opérations de brassage ont également été notées.

Bien que les systèmes de ventilation tant générale qu'à la source (sise au-dessus des bennes de réception) étaient en opération, il est possible qu'ils n'aient pas été bien adaptés (notamment sur le plan de la fréquence des changements d'air) à la circulation de camions-bennes ainsi qu'aux activités de brassage ayant suivi les déchargements des MOP. En été, aucune différence significative n'a pu être démontrée entre les concentrations moyennes des deux types de particules mesurées dans l'air extérieur et celles mesurées dans les différents ateliers. Il faut cependant noter que lors de la session d'échantillonnage estivale aucun déchargement de MOP par des camions-bennes n'a été effectué.

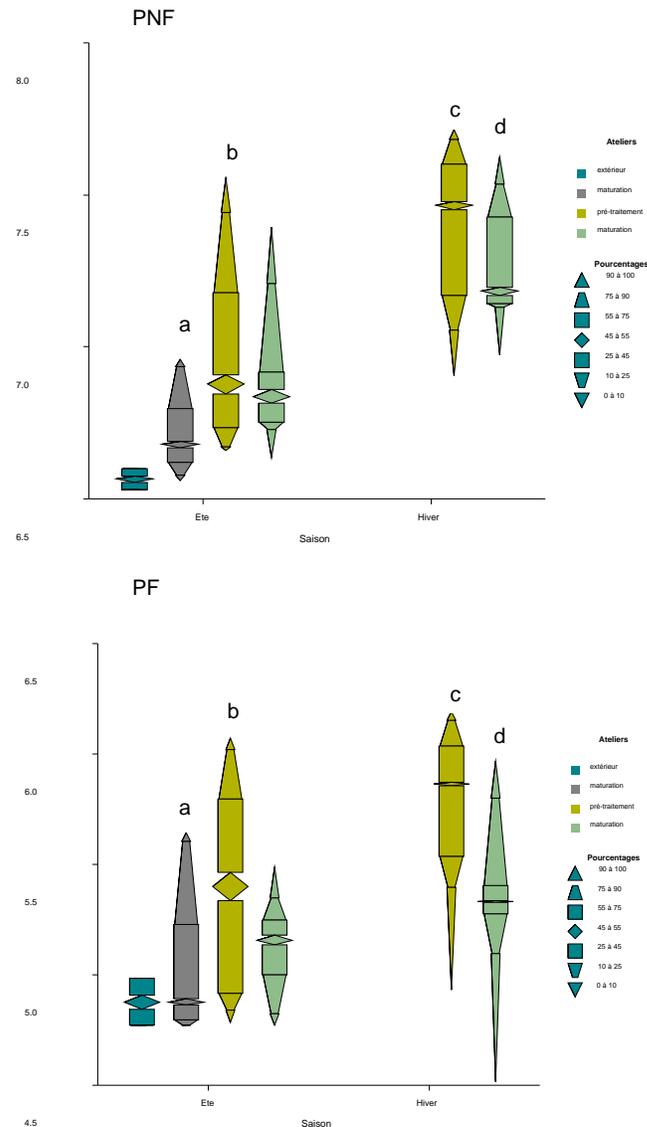


Figure 5 : Centiles des logarithmes des concentrations des particules non fluorescentes (PNF) et fluorescentes (PF) pour chaque atelier de l'usine A1, en été et en hiver.

En été, la circulation occasionnelle et non prévisible de véhicules lourds dans la cour extérieure de l'usine A2 et à proximité du site de prélèvement pourrait expliquer les concentrations significativement plus élevées des particules non fluorescentes (figure 6).

Les concentrations de particules fluorescentes les plus élevées ont été mesurées à l'atelier de vidange des boues, lors de l'échantillonnage estival. Le déchargement de camions contenant des boues de fosses septiques dans la cour extérieure de l'usine A2 pourrait avoir favorisé la remise en suspension de particules fluorescentes. La porte d'accès de l'aire de vidange étant demeurée grande ouverte, cela aurait pu favoriser la pénétration des particules dans l'air de l'usine.

En hiver, aucune différence significative n'a été démontrée entre les concentrations des particules fluorescentes, et ce, pour tous les ateliers. D'autre part, les concentrations les plus élevées pour les deux types de particules ont été obtenues en été, tous ateliers confondus.

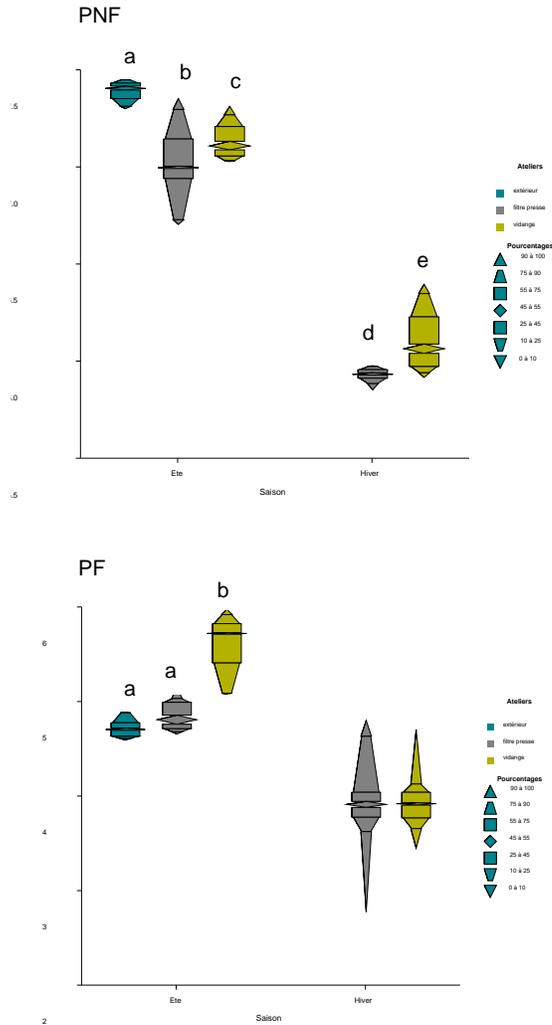


Figure 6 : Centiles des logarithmes des concentrations moyennes des particules non fluorescentes (PNF) et fluorescentes (PF) pour chaque atelier de l'usine A2, en été et en hiver.

Comme l'illustre la figure 7, les concentrations moyennes des particules non fluorescentes mesurées à la réception et au réservoir tampon de l'usine B ont culminé en été comparativement à celles mesurées à l'extérieur. Durant l'hiver, les concentrations moyennes des particules non fluorescentes ont été statistiquement plus élevées dans l'aire de réception. Les mêmes observations ont d'ailleurs été formulées pour les particules fluorescentes.

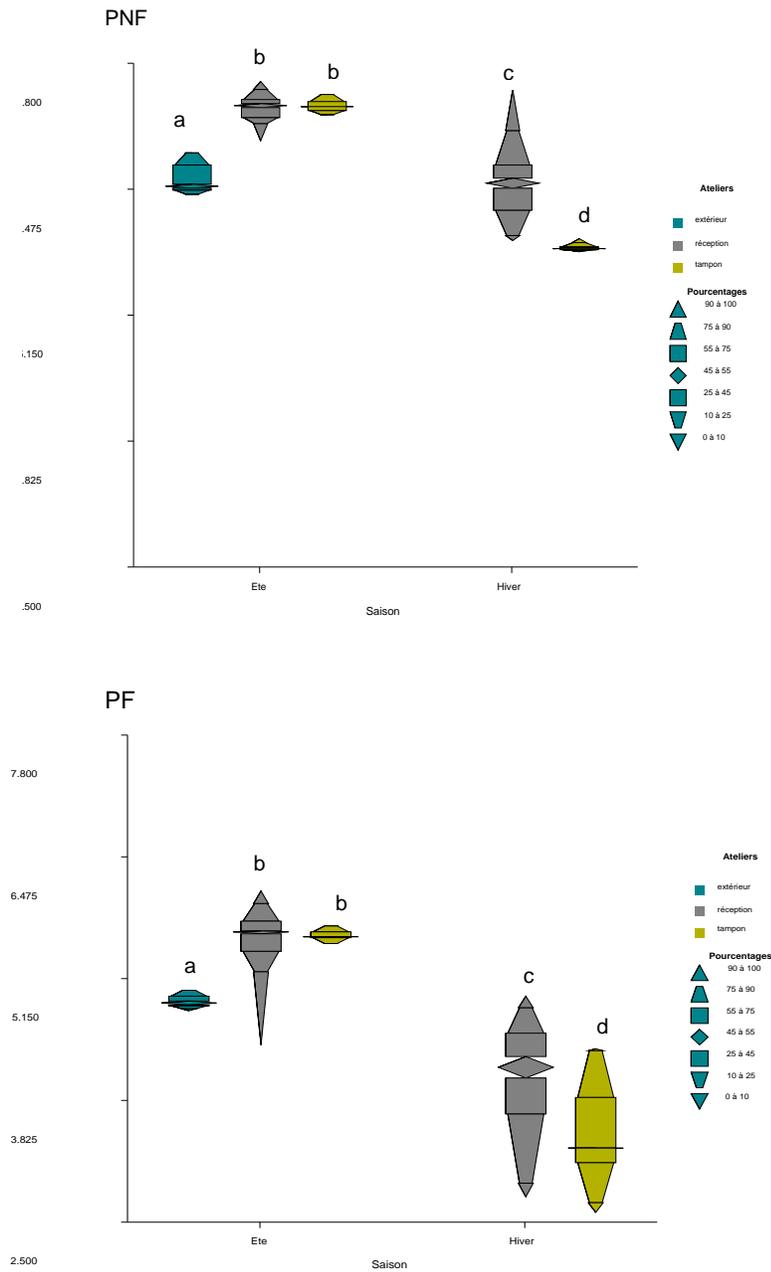


Figure 7 : Centiles des logarithmes des concentrations moyennes des particules non fluorescentes (PNF) et fluorescentes (PF) pour chaque atelier de l'usine B, en été et en hiver.

En été, deux vidanges de camions-bennes chargés de MOP ont été effectuées dans l'usine B. Comme pour l'usine A1 en hiver, la présence de ces camions, le remplissage de la benne de réception ainsi que les activités de brassage assistées d'une pelle mécanique pourraient avoir favorisé l'émission et/ou la remise en suspension des particules tant fluorescentes que non fluorescentes. De plus, les températures estivales et celles atteintes par les MOP dans les

camions-bennes auraient pu contribuer au développement de microorganismes, favorisant ainsi une augmentation des particules fluorescentes lors de la manipulation des MOP. Un dernier facteur pourrait avoir joué un rôle majeur sur l'importance des concentrations dans la zone de réception de l'usine B en été. Il s'agit de l'état initié du compostage des MOP entreposées dans la benne depuis quelques jours. D'ailleurs, des asticots jonchaient les planchers des zones de réception et du réservoir tampon.

Il y a eu deux déchargements de MOP en hiver dans la zone de réception de l'usine B. Les MOP étaient toutefois gelées. Or, dans cet état physique, la dissémination et la croissance d'agents biologiques sont ralenties par rapport aux conditions estivales (ACGIH, 1999). Cela pourrait expliquer les faibles concentrations de particules fluorescentes obtenues dans l'usine B durant l'hiver.

En ce qui a trait aux activités (figure 8), il n'y a pas de différences significatives entre les concentrations moyennes de particules non fluorescentes mesurées lors des différentes activités dans l'usine A1 en été. Rappelons que les portes de l'usine étaient grandes ouvertes durant cette saison. En hiver, les concentrations moyennes de particules non fluorescentes mesurées lors de l'arrosage des MOP, des équipements et du plancher ainsi que lors des opérations de brassage ont été plus élevées que celles mesurées lors des autres activités menées dans l'usine. En été, les concentrations moyennes de particules fluorescentes associées au bruit de fond et à l'absence d'activité ont été inférieures à celles des autres opérations. En hiver, les concentrations moyennes des particules fluorescentes qui constituent le bruit de fond ont également été inférieures à celles mesurées lors des autres activités. Le nettoyage des équipements, le remplissage des bennes de réception par les deux camions-bennes ainsi que l'arrosage et le brassage des MOP seraient ainsi autant d'activités responsables de la remise en suspension de bioaérosols.

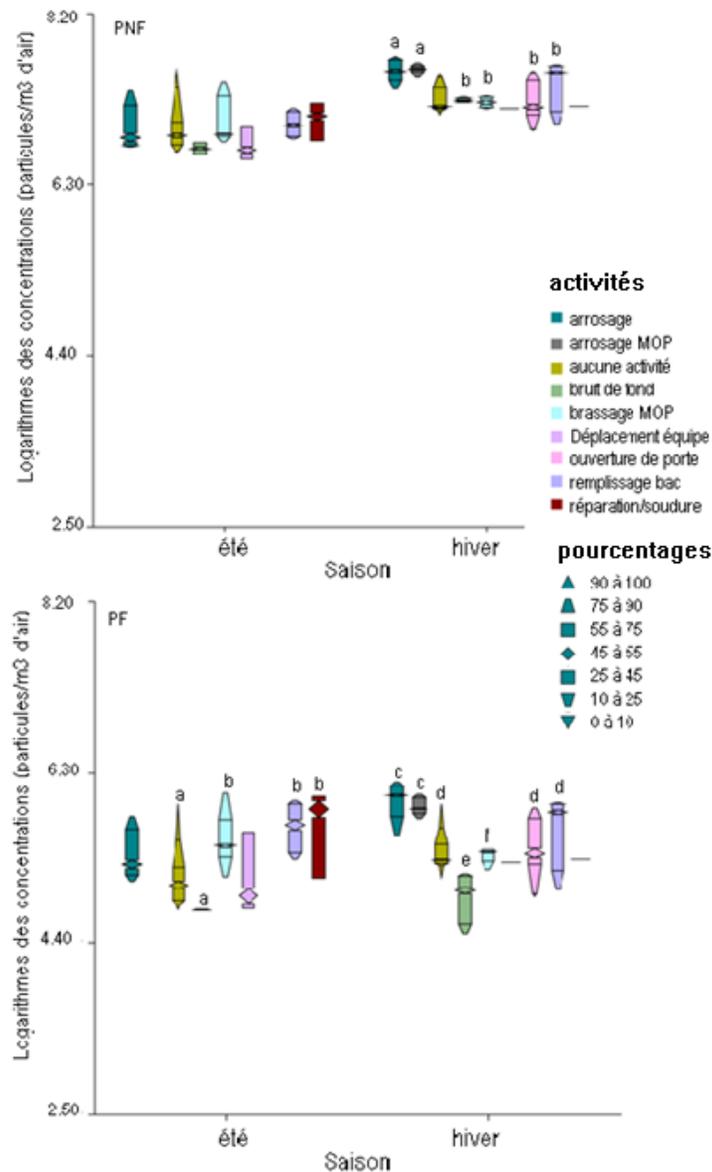


Figure 8 : Centiles des logarithmes des concentrations moyennes des particules non fluorescentes (PNF) et fluorescentes (PF) lors des activités dans l'usine A1, en été et en hiver.

Selon la figure 9, les concentrations moyennes de particules non fluorescentes mesurées comme bruit de fond extérieur de l'usine A2 ont été plus élevées que celles mesurées lors des autres activités. En hiver, paradoxalement, l'absence d'activité a été accompagnée de concentrations moyennes de particules non fluorescentes plus élevées. En été, les concentrations moyennes de particules fluorescentes ont été plus élevées lors d'absence de toute activité et lors du giclement depuis les filtres-presses (fuite liquide du contenu). En hiver, le même phénomène a été observé pendant les déplacements de l'équipe de recherche. La remise en suspension des particules pourrait donc y être associée.

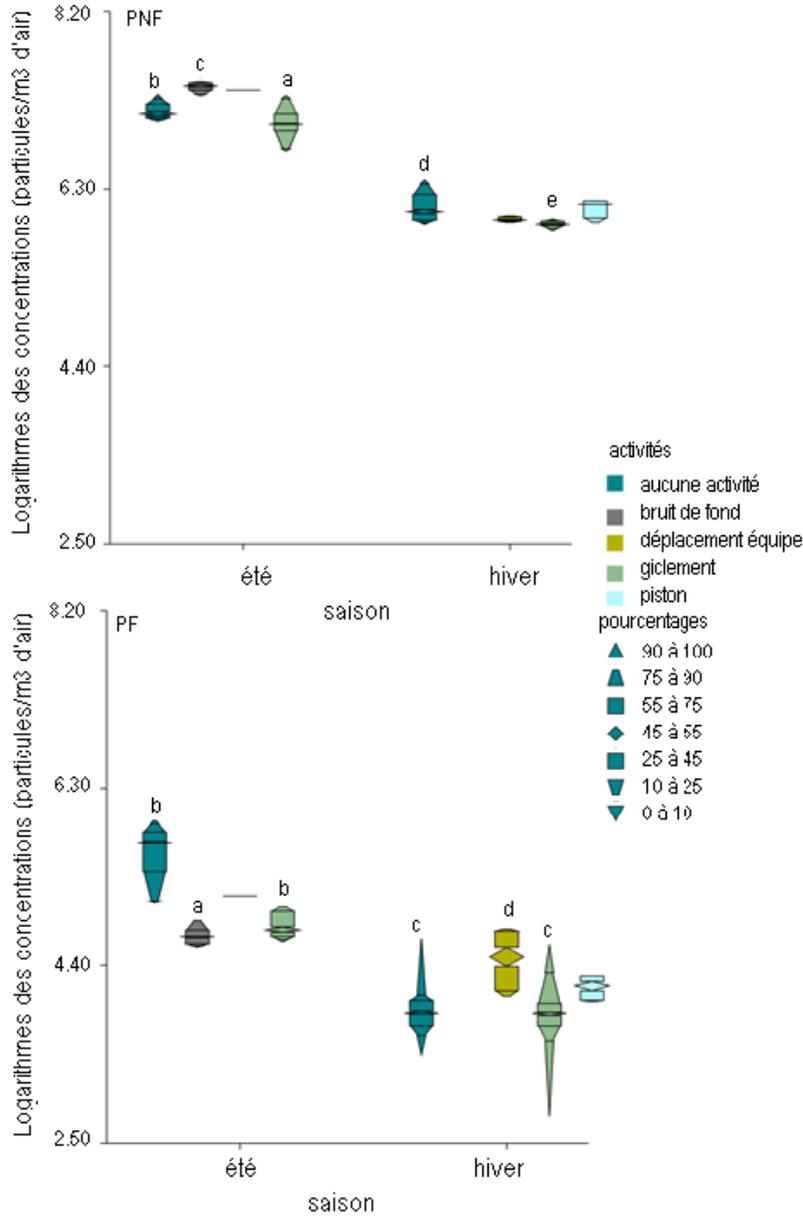


Figure 9 : Centiles des logarithmes des concentrations moyennes de particules non fluorescentes (PNF) et fluorescentes (PF) lors des activités dans l’usine A2, en été et en hiver.

Selon la figure 10, les concentrations moyennes estivales des particules non fluorescentes du bruit de fond de l’usine B ont été statistiquement inférieures à celles mesurées lors des activités de brassage des MOP, avec ou sans émission de fumée, de remplissage de bennes et en absence de toute activité. Toutefois, en hiver, les concentrations moyennes de particules non fluorescentes obtenues lors de l’arrosage du plancher ont été statistiquement supérieures à celles des autres activités qui elles généraient des concentrations très similaires. Les concentrations moyennes de particules fluorescentes estivales du bruit de fond sont

statistiquement inférieures à celles mesurées lors du brassage des MOP, avec ou sans émission de fumée, du remplissage des bacs et en absence de toute activité.

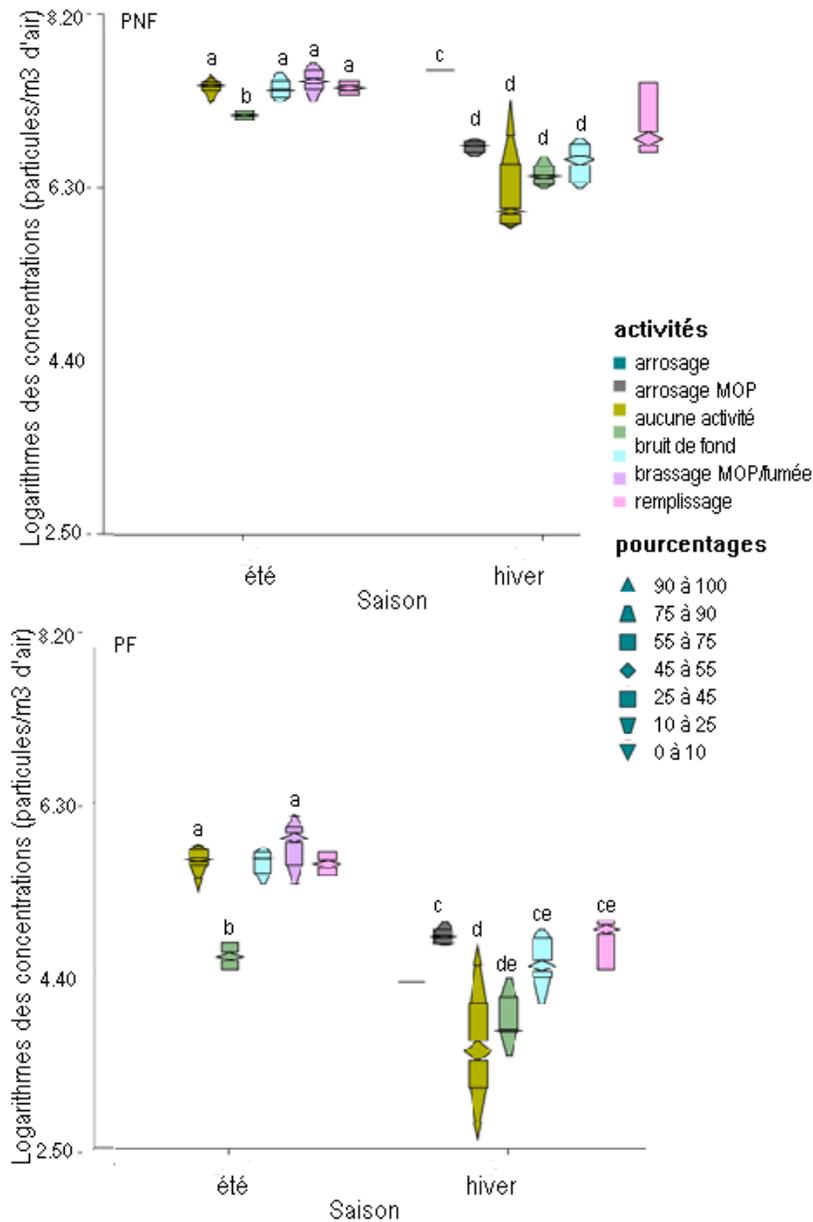


Figure 10 : Centiles des logarithmes des concentrations moyennes de particules non fluorescentes (PNF) et fluorescentes (PF) lors des activités dans l'usine B, en été et en hiver.

5.1.2 Profils granulométriques

Les moyennes des diamètres aérodynamiques médians (DAM) en nombre étaient situées dans une fourchette allant de 2,4 à 3,7 μm et de 0,6 à 1 μm pour les particules fluorescentes et non fluorescentes, respectivement (tableaux 6 à 8). Les moyennes des DAM des particules fluorescentes et non fluorescentes ont été inférieures à 5 μm , ce qui signifie que les bioaérosols ambiants dans les différents ateliers étaient de nature respirable et qu'il est possible qu'elles se déposent profondément dans le système respiratoire (ACGIH, 2017). Un profil granulométrique de particules fluorescentes illustré à la figure 11 est fourni à titre d'exemple.

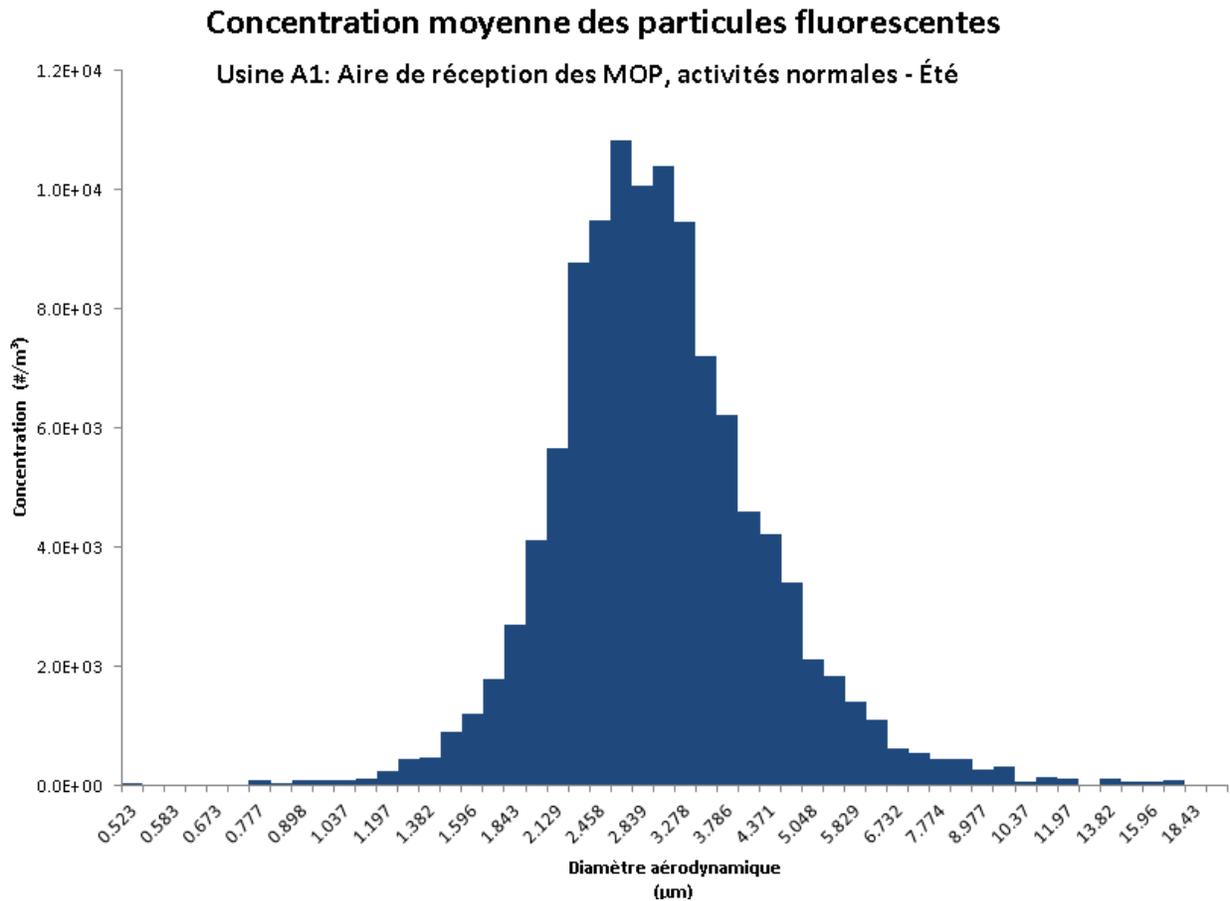


Figure 11 : Exemple d'un profil granulométrique de particules fluorescentes.

5.2 Flore microbienne cultivable

5.2.1 Bactéries et moisissures mésophiles cultivables

Les concentrations moyennes de bactéries et de moisissures mésophiles cultivables pour les usines A1, A2 et B sont présentées au tableau 9.

Tableau 9 : Concentrations moyennes des bactéries mésophiles et des moisissures mésophiles cultivables dans les usines A1, A2 et B

Atelier		Saison	Concentration moyenne de bactéries mésophiles				Concentration moyenne de moisissures mésophiles			
			Andersen N6		Coriolis μ		Andersen N6		Coriolis μ	
			n	UFC/m ³ (\pm ET)	n	UFC/m ³ (\pm ET)	n	UFC/m ³ (\pm ET)	n	UFC/m ³ (\pm ET)
Usine A1	Réception	Été	3	$3,7 \times 10^3$ ($2,1 \times 10^3$)	1	$2,8 \times 10^2$	3	$1,3 \times 10^4$ ($1,9 \times 10^4$)	1	$2,1 \times 10^3$
		Hiver	2*	$1,4 \times 10^2$ ($4,0 \times 10^1$)	1*	$2,5 \times 10^1$	2*	$5,9 \times 10^2$ ($1,7 \times 10^2$)	1*	ND
			2	$3,8 \times 10^3$ ($1,8 \times 10^3$)	2	$2,5 \times 10^1$ ($0,0 \times 10^0$)**	2	$2,7 \times 10^3$ ($8,8 \times 10^2$)	2	$3,3 \times 10^2$ ($0,0 \times 10^0$)**
	Prétraitement	Été	3	$1,9 \times 10^3$ ($1,8 \times 10^3$)	1	$1,2 \times 10^3$	3	$1,1 \times 10^4$ ($1,5 \times 10^4$)	1	$1,8 \times 10^3$
		Hiver	2*	$2,3 \times 10^2$ ($4,8 \times 10^1$)	1*	ND	2*	$6,2 \times 10^2$ ($5,0 \times 10^2$)	1*	$2,3 \times 10^2$
			2	$1,8 \times 10^4$ ($1,7 \times 10^4$)	2	$5,0 \times 10^2$ ($0,0 \times 10^0$)**	2	$1,5 \times 10^4$ ($4,7 \times 10^3$)	2	$1,2 \times 10^3$ ($0,0 \times 10^0$)**
	Maturation	Été	3	$1,2 \times 10^4$ ($1,5 \times 10^4$)	1	$6,8 \times 10^3$	3	$1,6 \times 10^3$ ($3,6 \times 10^2$)	1	$1,7 \times 10^3$
Extérieur A1	Été	1	$4,6 \times 10^1$			1	$1,9 \times 10^3$			
Usine A2	Filtres-presses	Été	3	$2,4 \times 10^2$ ($1,6 \times 10^2$)	1	$5,0 \times 10^1$	3	$9,8 \times 10^2$ ($1,3 \times 10^2$)	1	ND
		Hiver	3	$7,7 \times 10^1$ ($2,0 \times 10^1$)	1	$2,5 \times 10^1$	3	$9,4 \times 10^0$ ($5,4 \times 10^0$)	1	ND
	Vidange des boues	Été	3	$1,9 \times 10^3$ ($1,4 \times 10^3$)	1	ND	3	$1,1 \times 10^4$ ($1,9 \times 10^2$)	1	$1,5 \times 10^2$
		Hiver	3	$6,8 \times 10^1$ ($2,0 \times 10^1$)	1	ND	3	$2,2 \times 10^1$ ($2,1 \times 10^1$)	1	ND
	Extérieur A2	Été	1	$1,6 \times 10^3$			1	$1,9 \times 10^4$		
Usine B	Réception	Été	3	$3,8 \times 10^4$ ($6,9 \times 10^3$)	1	$1,4 \times 10^4$	3	$2,2 \times 10^4$ ($1,2 \times 10^4$)	1	$1,8 \times 10^4$
		Hiver	3	$1,8 \times 10^3$ ($2,7 \times 10^3$)	1	$2,0 \times 10^2$	3	$1,4 \times 10^4$ ($1,4 \times 10^4$)	1	$1,2 \times 10^3$
	Tampon	Été	3	$3,0 \times 10^4$ ($3,5 \times 10^1$)	1	$5,6 \times 10^3$	3	$2,7 \times 10^4$ ($1,6 \times 10^4$)	1	$8,8 \times 10^3$
		Hiver	3	$4,1 \times 10^2$ ($2,8 \times 10^2$)	1	$7,0 \times 10^2$	3	$4,8 \times 10^3$ ($5,5 \times 10^3$)	1	$8,0 \times 10^2$
	Extérieur B	Été	1	$2,5 \times 10^1$			1	$1,5 \times 10^3$		

* Prélèvements effectués en dehors de toute activité dans l'usine A1, en hiver, et dont les mesures obtenues ont été considérées comme valeurs témoins.

** Il n'y a pas d'écart-type, car les concentrations sont similaires.

n : effectif; ND : non déterminé.

Les concentrations moyennes de bactéries mésophiles mesurées en été dans l'usine B avec l'Andersen N6 ont été supérieures à celles obtenues dans les usines A1 et A2. Par ailleurs, celles dans l'usine A1 ont été plus élevées que celles obtenues dans les usines B et A2, et ce, en hiver avec le même échantillonneur. Quatre ateliers ont présenté des concentrations moyennes de bactéries mésophiles, mesurées à l'aide de l'Andersen N6, ayant dépassé la valeur guide de l'IRSST de 10^4 UFC/m³ pour une période de huit heures (Goyer *et al.*, 2001; Lavoie *et al.*, 2007). Il s'agit, pour l'usine A1, du plateau de maturation en été et de l'aire de prétraitement en hiver, ainsi que des zones de réception et du réservoir tampon dans l'usine B en été. Les activités qui ont été exécutées dans ces ateliers auraient possiblement favorisé l'aérosolisation des microorganismes. Elles incluent la décharge des MOP depuis des camions-bennes, leur arrosage et brassage (à l'aide d'une pelle mécanique ou d'une perche à embout métallique activée manuellement), ainsi que du pelletage et grattage du digestat déshydraté par les deux bras de fourche d'un chariot élévateur au niveau du plateau de maturation. Toutefois, la valeur maximale des concentrations moyennes de bactéries mésophiles, soit $3,82 \times 10^4$ UFC/m³ mesurée dans l'aire de réception de l'usine B en été, bien que près de 4 fois la valeur guide, demeure inférieure aux concentrations de ce type de microorganismes mesurées dans certains centres de compostage. En effet, ces concentrations y ont varié entre $9,9 \times 10^4$ UFC/m³, soit près de 10 fois la valeur recommandée (Marchand *et al.*, 2017) et $2,5 \times 10^5$ UFC/m³, soit 25 fois la valeur guide (Poirot *et al.*, 2010).

En 2009, Eduard a rapporté un « Lower Observed Effect Level » (LOEL) de 10^5 spores/m³ pour des expositions mixtes à des moisissures non pathogènes et sans production de mycotoxines. Dans cette revue de la littérature et selon les données probantes disponibles, il recommande alors l'utilisation d'un facteur de précaution de 10 et propose ainsi une limite d'exposition aux moisissures de 10^4 spores/m³ (Eduard *et al.*, 2009). Un ajustement supplémentaire, utilisant le pourcentage de la flore cultivable par rapport à celle totale, doit être réalisé pour convertir cette limite en unité cultivable (UFC). En général, le pourcentage utilisé est approximativement de 10%, ce qui fixe alors la limite en unité cultivable à 10^3 UFC/m³. Cette limite est utilisée et acceptée comme valeur de référence par les chercheurs de l'IRSST (Lavoie *et al.*, 2007) et par la SUVA de Suisse (en allemand Schweizerische Unfallversicherungsanstalt ou en français, Caisse nationale suisse d'assurance en cas d'accidents) (2014).

Dans cette étude, tant en été qu'en hiver, la très grande majorité des concentrations mesurées ont dépassé la valeur limite recommandée. Les concentrations ont été inférieures seulement à la salle des filtres-presses pour les deux saisons et à l'aire de vidange des boues en l'hiver. La concentration moyenne de moisissures mésophiles la plus élevée ($2,72 \times 10^4$ UFC/m³) a été estimée dans la zone du réservoir tampon de l'usine B en été. Bien qu'elle soit plus de 27 fois plus élevée que la valeur limite, elle demeure inférieure à certaines concentrations rapportées dans les études de Marchand et Poirot, où des concentrations atteignaient les $3,5 \times 10^4$ UFC/m³ et même jusqu'à $3,75 \times 10^5$ UFC/m³ dans les centres de compostages (Poirot *et al.*, 2010, Marchand *et al.*, 2017).

Les concentrations ambiantes moyennes de bactéries et de moisissures mésophiles mesurées à l'extérieur de l'usine A2 ont été plus élevées que celles des usines A1 et B. La concentration moyenne de moisissures mésophiles à l'extérieur de l'usine A2 a même excédé celles mesurées dans la salle des filtres-presses et l'aire de vidange des boues, en plus de dépasser la valeur de référence. Les activités dans la cour extérieure de l'usine, telles que décrites précédemment, pourraient avoir favorisé une remise en suspension des bactéries et des moisissures mésophiles.

5.2.2 Actinomycètes et moisissures thermophiles cultivables

Les concentrations moyennes d'actinomycètes et de moisissures thermophiles cultivables, pour les usines A1, A2 et B, sont indiquées aux tableaux 10 et 11.

Tableau 10 : Concentrations moyennes d'actinomycètes thermophiles dans les usines A1, A2 et B

Atelier	Saison	Andersen N6		SAS Duo		MAS-100 NT		
		n	UFC/m ³ (±ET)	n	UFC/m ³ (±ET)	n	UFC/m ³ (±ET)	
Usine A1	Réception	Été	3	ND	6	1,7 x 10 ⁰ (2,6 x 10 ⁰)	3	ND
		Hiver	2*	ND	4*	1,3 x 10 ⁰ (2,5 x 10 ⁰)	2*	ND
			2	7,1 x 10 ⁰ (1,0 x 10 ¹)	4	1,3 x 10 ⁰ (2,5 x 10 ⁰)	2	4,0 x 10 ⁰ (5,7 x 10 ⁰)
	Prétraitement	Été	3	2,4 x 10 ⁰ (4,1 x 10 ⁰)	6	ND	3	ND
		Hiver	2*	3,5 x 10 ⁰ (5,0 x 10 ⁰)	4*	ND	2*	ND
			2	ND	4	ND	2	ND
	Maturation	Été	3	2,1 x 10 ¹ (1,4 x 10 ¹)	6	5,0 x 10 ⁰ (4,5 x 10 ⁰)	3	8,0 x 10 ⁰ (8,0 x 10 ⁰)
Extérieur A1	Été	1	ND	1	ND	1	ND	
Usine A2	Filtres-presses	Été	3	ND	6	ND	3	1,3 x 10 ⁰ (2,3 x 10 ⁰)
		Hiver	3	ND	6	ND	3	ND
	Vidange des boues	Été	3	2,4 x 10 ⁰ (4,1 x 10 ⁰)	6	2,5 x 10 ⁰ (6,7 x 10 ⁰)	3	5,3 x 10 ⁰ (6,1 x 10 ⁰)
		Hiver	3	ND	6	ND	3	ND
	Extérieur A2	Été	1	ND	1	ND	1	ND
Usine B	Réception	Été	3	3,1 x 10 ¹ (4,1 x 10 ⁰)	6	1,4 x 10 ¹ (6,6 x 10 ⁰)	3	8,0 x 10 ⁰ (8,0 x 10 ⁰)
		Hiver	3	ND	6	ND	3	1,3 x 10 ⁰ (2,3 x 10 ⁰)
	Tampon	Été	3	3,1 x 10 ¹ (1,1 x 10 ¹)	6	1,7 x 10 ² (5,2 x 10 ⁰)	3	1,1 x 10 ¹ (2,3 x 10 ⁰)
		Hiver	3	2,4 x 10 ⁰ (4,1 x 10 ⁰)	6	ND	3	ND
	Extérieur B	Été	1	ND	1	ND	1	ND

* Prélèvements effectués en dehors de toute activité dans l'usine A1, en hiver, et dont les mesures obtenues ont été considérées comme valeurs témoins.

n : effectif; ND : non déterminé.

En été, les concentrations moyennes d'actinomycètes thermophiles mesurées dans l'usine B ont été plus élevées que celles obtenues pour les usines A1 et A2, toutes saisons confondues, et ce, pour tous les échantillonneurs. En hiver, celles obtenues dans l'usine A1 ont été supérieures aux deux autres, également pour tous les échantillonneurs. Toutefois, les concentrations moyennes sont toutes demeurées inférieures à la valeur de référence de 2×10^4 UFC/m³, recommandée par Dutkiewicz (1997). À titre de comparaison, les médianes obtenues dans des centres de compostage ont varié de $1,2 \times 10^5$ à $5,4 \times 10^5$ UFC/m³, soit plus de 6 et plus de 25 fois la valeur de référence (Poirot *et al.*, 2010). Les échantillonneurs N6, SAS Duo et MAS-100 NT semblent produire des résultats équivalents, en ce sens qu'aucun d'entre eux n'a permis de dénombrer plus d'actinomycètes thermophiles.

En été, les concentrations moyennes de moisissures thermophiles cultivables mesurées dans l'usine B ont été supérieures à celles obtenues en hiver pour la même usine tout en étant également plus élevées que celles obtenues dans les usines A1 et A2, et ce, tous échantillonneurs confondus. Durant l'hiver, les concentrations mesurées dans l'usine A1 étaient toutefois supérieures aux deux autres usines pour la même saison. Seules les concentrations moyennes mesurées en été dans l'usine B ont dépassé la valeur de référence de 10^3 UFC/m³ (Lavoie *et al.*, 2007; 2013; SUVA, 2014), et ce, pour tous les échantillonneurs. Il est bon de noter qu'il est probable qu'une bonne partie de ces moisissures thermophiles soient des *Aspergillus* sp. Ce genre de moisissure se retrouve dans la catégorie pathogène opportuniste.

La valeur maximale des concentrations moyennes obtenues par le Coriolis μ , soit $3,0 \times 10^4$ UFC/m³ dans l'aire de réception de l'usine B en été, bien que 30 fois plus élevée que la valeur guide, demeure inférieure aux concentrations médianes obtenues dans certains centres de compostage. Celles-ci ont en effet varié de $6,3 \times 10^4$ UFC/m³ à $1,6 \times 10^5$ UFC/m³, soit respectivement plus de 60 à 160 fois plus élevées que la valeur de référence (Poirot *et al.*, 2010).

Tableau 11 : Concentrations moyennes de moisissures thermophiles cultivables pour les usines A1, A2 et B

Atelier		Saison	Anderson N6		SAS Duo		MAS-100 NT		Coriolis μ	
			n	UFC/m ³ (\pm ET)	n	UFC/m ³ (\pm ET)	n	UFC/m ³ (\pm ET)	n	UFC/m ³ (\pm ET)
Usine A1	Réception	Été	3	6,6 x 10 ¹ (5,7 x 10 ¹)	6	1,4 x 10 ² (1,3 x 10 ²)	3	1,2 x 10 ² (1,4 x 10 ²)	1	7,5 x 10 ¹
		Hiver	2*	7,1 x 10 ⁰ (0,0 x 10 ⁰)	4*	7,5 x 10 ⁰ (5,0 x 10 ⁰)	2*	6,0 x 10 ⁰ (2,8 x 10 ⁰)	1*	ND
			2	9,5 x 10 ¹ (5,5 x 10 ¹)	4	2,1 x 10 ² (1,7 x 10 ²)	2	1,8 x 10 ² (1,3 x 10 ²)	1	ND
	Prétraitement	Été	3	4,2 x 10 ¹ (3,9 x 10 ¹)	6	8,3 x 10 ⁰ (7,5 x 10 ⁰)	3	3,1 x 10 ¹ (1,2 x 10 ¹)	1	ND
		Hiver	2*	3,1 x 10 ³ (4,4 x 10 ³)	4*	3,0 x 10 ¹ (1,6 x 10 ¹)	2*	1,2 x 10 ¹ (5,7 x 10 ⁰)	1*	ND
			2	1,1 x 10 ² (1,5 x 10 ²)	4	8,0 x 10 ¹ (6,0 x 10 ¹)	2	1,6 x 10 ¹ (2,3 x 10 ¹)	1	ND
	Maturation	Été	3	1,7 x 10 ¹ (4,1 x 10 ⁰)	6	1,7 x 10 ¹ (8,2 x 10 ⁰)	3	8,0 x 10 ¹ (8,0 x 10 ⁰)	1	2,5 x 10 ¹
Extérieur A1	Été	1	ND	1	7,5 x 10 ⁰	1	2,8 x 10 ¹			
Usine A2	Filtres-presses	Été	3	2,4 x 10 ¹ (2,5 x 10 ¹)	6	5,4 x 10 ¹ (2,1 x 10 ¹)	3	5,5 x 10 ¹ (2,3 x 10 ¹)	1	ND
		Hiver	3	ND	6	ND	3	ND	1	ND
	Vidange des boues	Été	3	2,4 x 10 ⁰ (4,1 x 10 ⁰)	6	1,1 x 10 ¹ (7,4 x 10 ⁰)	3	5,3 x 10 ⁰ (4,6 x 10 ⁰)	1	ND
		Hiver	3	ND	6	ND	3	ND	1	ND
	Extérieur A2	Été	1	2,1 x 10 ¹	1	7,3 x 10 ¹	1	1,3 x 10 ²		
Usine B	Réception	Été	3	1,2 x 10 ⁴ (9,4 x 10 ³)	6	6,5 x 10 ³ (0,0 x 10 ⁰)**	3	7,5 x 10 ³ (0,0 x 10 ⁰)**	1	3,0 x 10 ⁴
		Hiver	3	3,3 x 10 ¹ (5,7 x 10 ¹)	6	4,4 x 10 ¹ (6,7 x 10 ¹)	3	7,6 x 10 ¹ (1,3 x 10 ²)	1	ND
	Tampon	Été	3	1,7 x 10 ⁴ (0,0 x 10 ⁰)	6	6,5 x 10 ³ (0,0 x 10 ⁰)**	3	7,5 x 10 ³ (0,0 x 10 ⁰)**	1	2,2 x 10 ⁴
		Hiver	3	1,2 x 10 ¹ (2,0 x 10 ¹)	6	4,2 x 10 ⁰ (5,8 x 10 ⁰)	3	2,7 x 10 ⁰ (4,6 x 10 ⁰)	1	ND
	Extérieur B	Été	1	6,4 x 10 ¹	1	7,5 x 10 ⁰	1	1,2 x 10 ¹		

* Prélèvements effectués en dehors de toute activité dans l'usine A1, en hiver, et dont les mesures obtenues ont été considérées comme valeurs témoins.

** Il n'y a pas d'écart-type, car les concentrations sont similaires.

n : effectif; ND : non déterminé.

5.2.3 Quantification des endotoxines présentes dans l'air ambiant

Les concentrations moyennes d'endotoxines dans l'air ambiant mesurées aux différents sites sont présentées au tableau 12. Actuellement, il n'existe pas de valeur limite d'exposition aux endotoxines. Néanmoins, un comité d'experts néerlandais sur la santé au travail (DECOS) a recommandé, en 2010, un seuil de 90 unités d'endotoxines/m³ (UE/m³) pour huit heures d'exposition en lieu et place des 50 UE/m³ recommandées initialement en 1997 (Duquenne *et al.*, 2013).

Tableau 12 : Concentrations moyennes d'endotoxines dans les usines A1, A2 et B, en été et en hiver

Atelier		Été			Hiver		
		N	Concentrations moyennes (UE/m ³) ¹	Écart-type	n	Concentrations moyennes (UE/m ³) ¹	Écart-type
Usine A1	Réception	3	<1,5	0	3	29,4	13,2
	Traitement	3	<1,4	0	3	3,9	4,0
	Maturation	3	4,7	0,2	3	<1,4	0
	Extérieur A1	1	<1,5	-	1	<2,1	-
Usine A2	Filtres-presses	3	<1,2	0	3	<1,3	0
	Vidange des boues	3	5,5	5,1	3	<1,3	0
	Extérieur A2	1	<1,3	-	0	-	-
Usine B	Réception	3	53,2	33,1	3	2,0	0,5
	Tampon	3	68,2	17,8	3	1,7	0
	Extérieur B	1	< 1,5	-	0	-	-

¹UE/m³ : unités d'endotoxines/m³

Aucune des concentrations moyennes d'endotoxines ne dépassait la valeur guide de 90 UE/m³. Cela est à la fois surprenant et réconfortant alors que les concentrations moyennes mesurées dans des centres de compostage du Québec dépassent les 5 000 UE/m³ (Marchand *et al.*, 2017).

5.2.4 Tests statistiques de Tukey-Kramer sur la flore microbienne cultivable

Malgré de faibles effectifs, des analyses de la variance et des tests de comparaisons multiples de Tukey-Kramer ont été appliqués à la flore cultivable. Il en ressort ce qui suit :

- Usine A1 : ni les saisons ni les ateliers n'influencent de manière significative les concentrations de microorganismes cultivables;
- Usine A2 : seules les saisons influencent de manière significative les concentrations des bactéries mésophiles qui ont été plus élevées en été. Les saisons ainsi que les ateliers

ont toutefois influencé de manière significative les concentrations de moisissures mésophiles dont le niveau était supérieur en été dans l'aire de vidange des boues.

- Usine B : seuls les ateliers influencent de manière significative les concentrations des bactéries mésophiles, qui étaient les plus élevées dans la zone de réception. Par ailleurs, ni les saisons ni les ateliers n'influencent de manière significative les concentrations des moisissures mésophiles. Quant aux concentrations d'actinomycètes et de moisissures thermophiles, elles influent de manière significative selon les saisons alors que les concentrations les plus élevées sont mesurées durant l'été.

5.3 Analyses de biologie moléculaire

5.3.1 Quantification par PCR

Les résultats de la mesure des bactéries et des marqueurs de risques biologiques pour la santé humaine (*Saccharopolyspora rectivirgula*, *Legionella spp*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium spp*) par qPCR sont présentés aux tableaux 13 et 14.

Lors des différentes activités menées aux usines de biométhanisation (par ex. : travaux divers de manutention, déchargement), il est possible que des pics d'émission de bioaérosols soient enregistrés. Une durée d'échantillonnage plus courte peut avoir eu pour effet de mesurer plus précisément cette plus forte concentration de microorganismes, alors que des temps plus longs ont tendance à en évaluer les moyennes, naturellement plus basses que les pics d'émissions. De plus, étant donné que la littérature scientifique concernant l'utilisation de l'Andersen à 6 étages est abondante, cet échantillonneur a été priorisé pour le volet culture par rapport au Coriolis µ. La liste des amorces et des sondes utilisées lors des analyses qPCR est fournie dans l'annexe A.

Tableau 13 : Détection par qPCR des bactéries totales et des microorganismes indicateurs de risques pour la santé humaine dans les usines A1, A2, et B, en été

Atelier		<i>Bactérie totale</i> (copie 16S/m ³)	<i>S. rectivirgula</i> (copie 16S/m ³)	<i>Legionella spp</i> (copie 16S/m ³)	<i>L. pneumophila</i> (copie 16S/m ³)	<i>Mycobacterium spp</i> (copie 16S/m ³)
Usine A1	Réception	1,8 x 10 ⁵	ND ²	ND	ND	1,6 x 10 ⁴
	Prétraitement	1,6 x 10 ⁴	ND	ND	ND	5,2 x 10 ²
	Maturation	5,9 x 10 ⁷	ND	ND	ND	3,6 x 10 ⁵
Usine A2	Filtres-presses	8,0 x 10 ³	ND	ND	ND	1,3 x 10 ³
	Vidange des boues	25,6 x 10 ⁴	ND	3,6 x 10 ¹	ND	9,6 x 10 ³
Usine B	Réception	7,9 x 10 ⁵	5,4 x 10 ¹	ND	ND	5,7 x 10 ⁴
	Tampon	1,1 x 10 ⁶	1,3 x 10 ³	ND	ND	4,6 x 10 ⁵
LD ¹		5 x 10 ¹	5 x 10 ¹	5	5	5 x 10 ¹

¹LD : limite de détection

²ND : non déterminé

Tableau 14 : Détection par qPCR des bactéries totales et des microorganismes indicateurs de risques pour la santé humaine dans les usines A1, A2, et B, en hiver

Atelier		Bactérie totale (copie 16S/m ³)	<i>S. rectivirgula</i> (copie 16S/m ³)	<i>Legionella</i> <i>spp</i> (copie 16S/m ³)	<i>L. pneumophila</i> (copie 16S/m ³)	<i>Mycobacterium</i> <i>spp</i> (copie 16S/m ³)
Usine A1	Réception	3,8 x 10 ⁵	ND ²	ND	ND	5,2 x 10 ⁴
	Prétraitement	2,9 x 10 ⁷	ND	ND	ND	4,1 x 10 ⁵
Usine A2	Filtres-presses	7,9 x 10 ⁴	ND	ND	ND	1,8 x 10 ⁴
	Vidange des boues	2,5 x 10 ⁴	ND	ND	ND	8,0 x 10 ³
Usine B	Réception	ND	ND	ND	ND	6,7 x 10 ⁴
	Tampon	ND	ND	ND	ND	7,3 x 10 ²
LD ¹		5 x 10 ¹	5 x 10 ¹	5	5	5 x 10 ¹

¹LD : limite de détection

²ND : non déterminé

Les concentrations de bactéries totales supérieures à la valeur guide de l'IRSST de 10⁵ spores/m³ d'air ont été mesurées dans l'usine A1 en été (1,8 x 10⁵ copies 16S/m³ à la réception et 5,9 x 10⁷ copies 16S/m³ à la maturation) et en hiver (3,8 x 10⁵ copies 16S/m³ à la réception et 2,9 x 10⁷ copies 16S/m³ au prétraitement) de même que dans l'usine B en été (7,9 x 10⁵ copies 16S/m³ à la réception et 1,1 x 10⁶ copies 16S/m³ dans la zone tampon) (Goyer *et al.*, 2001; Lavoie *et al.*, 2007). La majorité de ces ateliers dépassaient la valeur guide de 10⁴ UFC/m³ d'air pour les bactéries mésophiles cultivables (tableau 9). Marchand a mesuré des concentrations de l'ordre de 10⁹ copies 16S/m³ dans des centres de compostage (Marchand *et al.*, 2017).

Des microorganismes marqueurs de risques biologiques pour la santé humaine ont été aussi détectés dans les trois usines :

- *Saccharopolyspora rectivirgula*, a été décelé dans l'usine B, en été, avec une valeur maximale de 1,3 x 10³ copies 16 S/m³ dans la zone du réservoir tampon. L'état initié du compostage des MOP, qui étaient entreposées dans la benne de réception depuis plusieurs jours, pourrait expliquer que cette bactérie n'ait été retrouvée que dans cette usine. Cet actinomycète thermophile est habituellement détecté en concentrations beaucoup plus élevées dans les bâtiments agricoles (jusqu'à 10⁷ copies 16 S/m³) ainsi que dans certains centres de compostage (jusqu'à 4 x 10⁷ copies 16 S/m³) (Schäfer *et al.*, 2013). Selon Heldal *et al.* (2015), des concentrations de spores d'actinomycètes comprises entre 20 000 et 300 000 spores/m³ d'air sont requises pour provoquer des irritations nasales et de la toux chez les travailleurs des centres de compostage.
- *Mycobacterium spp* ou mycobactéries non tuberculeuses (MNT), dont les concentrations ont varié de 5,2 x 10² à 4,6 x 10⁵ copies 16S/m³ (valeur maximale obtenue dans la zone

du réservoir tampon de l'usine B) pendant l'été et entre $7,3 \times 10^2$ et $4,1 \times 10^5$ copies 16S/m³ (valeur maximale obtenue dans l'aire de prétraitement de l'usine A1) pendant l'hiver. À titre de comparaison, des concentrations de MNT ayant varié de 10^2 à 10^7 copies 16S/m³ ont été mesurées dans des centres de compostage au Québec (Marchand *et al.*, 2017).

- *Legionella spp.*, qui n'a été détectée que dans l'aire de vidange des boues de l'usine A2 avec une concentration de $3,6 \times 10^1$ copies 16S/m³. L'espèce *Legionella pneumophila* n'a toutefois été retrouvée dans aucune des trois usines. À titre comparatif, des concentrations de l'ordre de 10^4 copies 16S/m³ ont été mesurées dans une étude sur les centres de compostage (Marchand *et al.*, 2017).
- Rappelons que l'aire de vidange des boues de l'usine A2 est plutôt associée à une station d'épuration des eaux usées qu'à une usine de biométhanisation. Mirzaee *et al.* (2015) avaient mis en évidence la présence de *Legionella spp.* dans des échantillons d'air prélevés dans divers sites d'une usine de traitement des eaux usées, incluant les bassins d'aération. Une récente étude de Caicedo *et al.* (2016) a également démontré que les *Legionella spp.* pouvaient continuer de croître dans les bassins de boue activée utilisés dans le traitement secondaire des eaux usées. Les boues d'épuration des eaux usées ont subi une digestion anaérobie en conditions mésophiles dans l'usine A2. Or, Yergeau *et al.* (2016) ont démontré que la digestion anaérobie en conditions thermophiles diminuait l'abondance relative de *Legionella spp.* dans les boues d'épuration des eaux usées, mais sans les éliminer complètement. Compte tenu des températures ambiantes moindres (entre 30 et 40 °C), il serait tout à fait plausible que la digestion anaérobie en conditions mésophiles soit encore moins performante à éliminer *Legionella spp.* Le mélange de boues digérées devra nécessairement être considéré lors des évaluations de risques pour la santé des travailleurs dans les usines de biométhanisation traitant les boues d'épuration des eaux usées.

Les résultats obtenus avec l'Andersen à 6 étages (10 minutes) et le SASS 3100 (100 minutes) ont été sélectionnés pour la comparaison entre la culture et la qPCR en raison, entre autres, de leurs temps d'échantillonnage respectifs. Les durées sont en effet plus longues que pour les autres échantillonneurs (Andersen à 6 étages-2 minutes par rapport à Andersen à 6 étages-10 minutes pour la culture, et Coriolis µ-10 minutes par rapport à SASS 3100-100 minutes pour la biologie moléculaire). Les corrélations linéaires, obtenues pour les bactéries à chaque site d'échantillonnage (excluant les bruits de fond extérieurs) avec les méthodes de cultures et de qPCR, sont présentées à la figure 19 de l'annexe B.

5.3.2 Analyse de biodiversité

Biodiversité bactérienne

Différentes mesures peuvent être utilisées afin d'étudier la biodiversité microbienne des échantillons. Dans le cadre de la présente étude, les échantillons d'air prélevés dans les deux usines ont été évalués selon leur diversité α et β . La diversité- α permet d'estimer la diversité au sein de l'échantillon (intra) alors que la diversité- β permet de comparer la diversité entre les échantillons (inter) afin d'évaluer si les communautés bactériennes les composant sont

différentes. La figure 12 permet de comparer les résultats de la diversité- α , évaluée sur les échantillons prélevés par les deux échantillonneurs, soit le Coriolis μ et le SASS 3100.

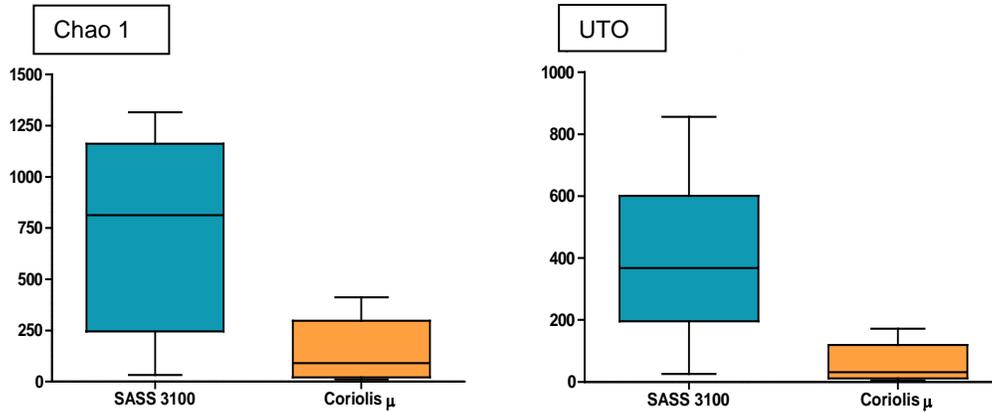


Figure 12 : Comparaison de la diversité- α pour les échantillons prélevés par le Coriolis μ et le SASS 3100.

Afin de comparer les résultats obtenus par les 2 échantillonneurs, la richesse a été estimée par l'indice Chao1 et le nombre d'unités taxonomiques opérationnelles (UTO) observées. Selon ces évaluations, plus les indices sont élevés, plus le nombre d'espèces est différent au sein des communautés et, par le fait même, plus la richesse microbienne est élevée. Comme observé à la figure 12, l'indice Chao1 maximal obtenu par le Coriolis n'atteint même pas la médiane calculée par le SASS 3100. Force est de constater que le SASS 3100 produit des indices de diversité- α largement supérieurs à ceux du Coriolis μ . Le nombre d'UTO est également plus élevé avec le SASS 3100. Ce constat suggère que le SASS 3100 devrait être l'échantillonneur recommandé lors des études de biodiversité de l'air puisqu'il produit des échantillons ayant une plus grande richesse taxonomique. Cette tendance est confirmée par le diagramme de Venn de la figure 13, qui présente le nombre d'UTO obtenu par les deux échantillonneurs ainsi que le lien taxonomique observable entre ceux-ci.

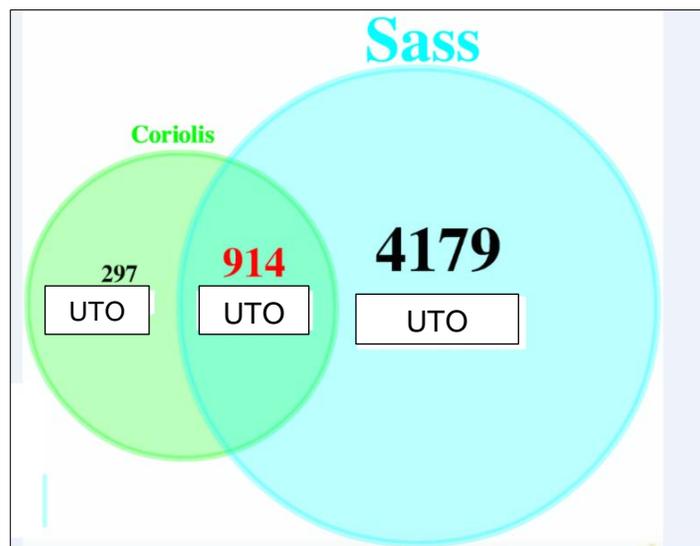


Figure 13 : Diagramme de Venn comparant les unités taxonomiques opérationnelles (UTO) des échantillons prélevés par le Coriolis μ et le SASS 3100.

Les figures 14 et 15 permettent de visualiser la diversité- β pour les échantillons prélevés par le SASS 3100 et de comparer l'abondance relative des genres ou familles des bactéries entre les usines (figure 14) et entre les saisons (figure 15). D'autres figures sont disponibles à l'annexe B pour la diversité obtenue avec le Coriolis μ .

La figure 14 permet d'observer que, parmi les 20 genres bactériens les plus abondants, 12 sont communs à toutes les usines et 8 sont typiques à chacune d'elles. Il faut toutefois souligner que, pour un genre particulier, les proportions observées sont bien différentes entre les usines. La figure 15 illustre cette diversité entre les saisons, il est possible d'observer une grande variation entre les proportions pour tous les genres. Une matrice de distance permettant de comparer un à un les échantillons ainsi que la valeur numérique représentant le lien entre la paire d'échantillons comparés est présentée à l'annexe B (figures 22 à 24).

Parmi les genres bactériens les plus abondants qui ont été observés certains sont reconnus comme étant pathogènes pour l'homme. Par exemple, la *Legionella*, peut provoquer la légionellose et la fièvre de Pontiac (Gouvernement du Québec, 2016); les *Bacteroides*, lorsque déposés dans les poumons, peuvent être responsables d'abcès pulmonaires; les *Staphylococcus* (aureus) peuvent être associés à des infections de la peau et des tissus mous ou encore quelques *Clostridium* peuvent causer plusieurs problèmes de santé tels que le botulisme, les bactériémies, la myonécrose ou encore une entérocolite nécrosante. Toutefois, il faut noter que la plupart des *Clostridium* (près de 200) ne sont pas pathogènes. Il est également possible d'observer d'autres genres bactériens qui sont considérés comme étant des pathogènes opportunistes, comme les *Pseudomonas* et *Shingobacterium*.

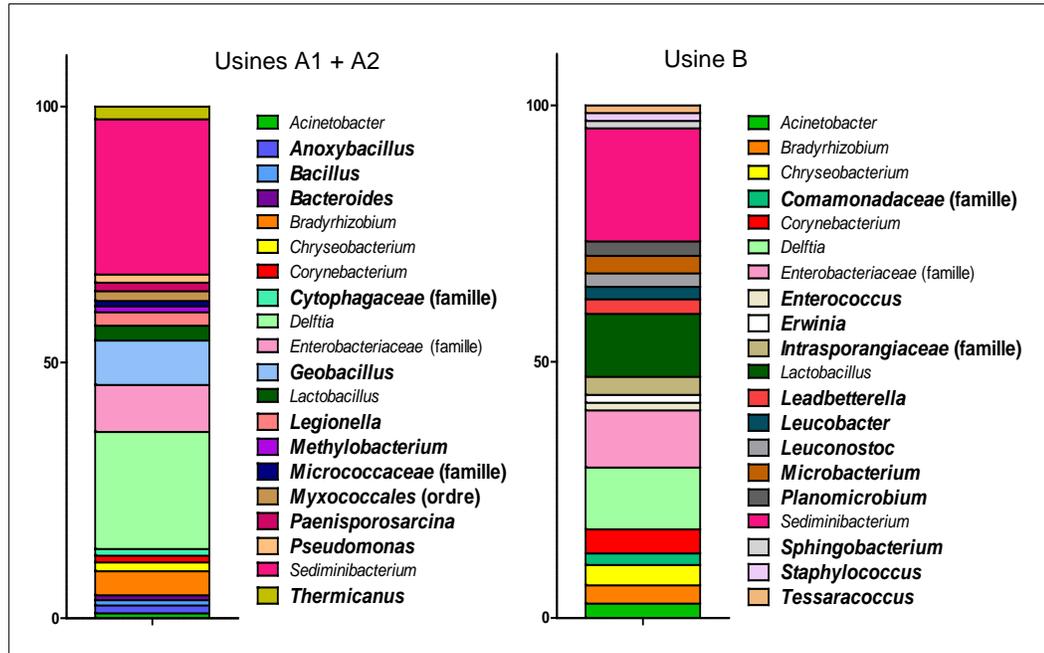


Figure 14 : Distribution taxonomique appartenant aux principaux genres bactériens trouvés dans l'air des usines A1, A2 et B, toutes saisons confondues, pour les prélèvements effectués avec le SASS 3100.

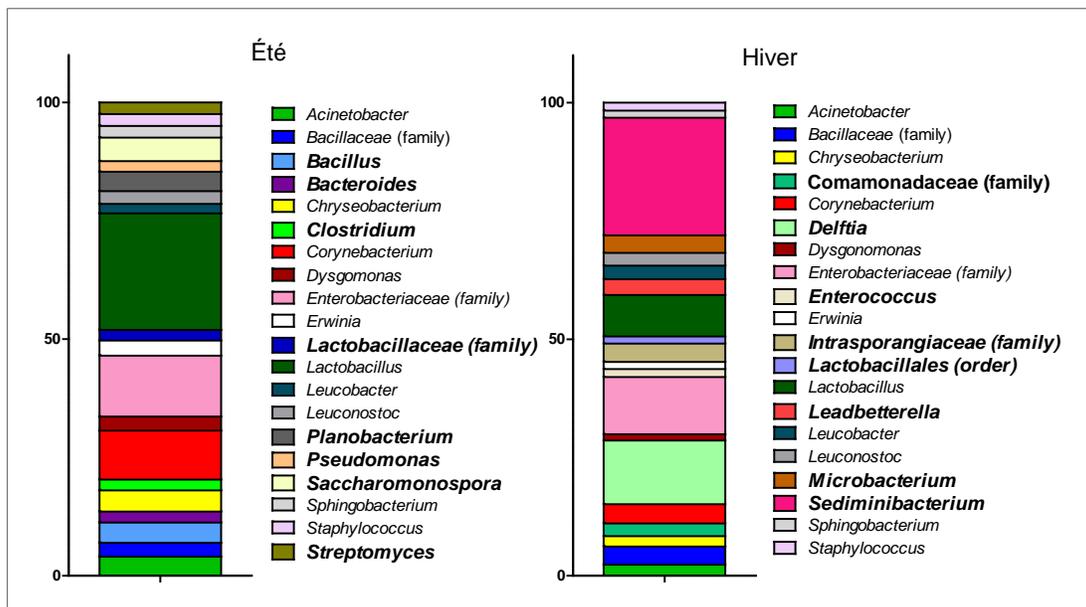


Figure 15 : Distribution taxonomique appartenant aux principaux genres bactériens trouvés en été et en hiver dans les usines A1, A2 et B pour les prélèvements effectués avec le SASS 3100.

Biodiversité fongique

Les figures 16 et 17 exposent, par le biais d'un diagramme de Venn, les genres de moisissures les plus abondants. Les liens taxonomiques sont également observables entre les deux saisons. Pour les usines A1 et A2 (figure 16), sur les 20 genres les plus abondants, seulement 8 sont retrouvés autant l'été que l'hiver. Certains de ces genres sont communément détectés dans les environnements liés au traitement des déchets : soit *Aspergillus*, *Penicillium*, *Davidiella*, *Capnobotryella* et *Alternaria*. Pour l'usine B (figure 17), le genre *Penicillium* est grandement majoritaire. Il représente plus de 90 % des genres de moisissures présents en hiver. Le *Penicillium* est ubiquitaire, il joue un rôle important dans la dégradation naturelle des composés organiques. D'autres genres, tels qu'*Aspergillus*, *Davidiella*, *Talaromyces*, *Alternaria*, *Neurospora*, *Capnobotryella* et *Fusarium* figurent également parmi les moisissures les plus abondantes. Les différences d'abondance entre les deux saisons pourraient être expliquées soit par l'apport direct de la source (MOP présentes au moment de l'échantillonnage), soit par l'influence de l'environnement extérieur. En été comme en hiver, des genres ubiquitaires du bois et de débris de plantes ont été détectés. Le profil de diversité fongique entre les usines et les saisons est présenté à l'annexe C (figure 25).

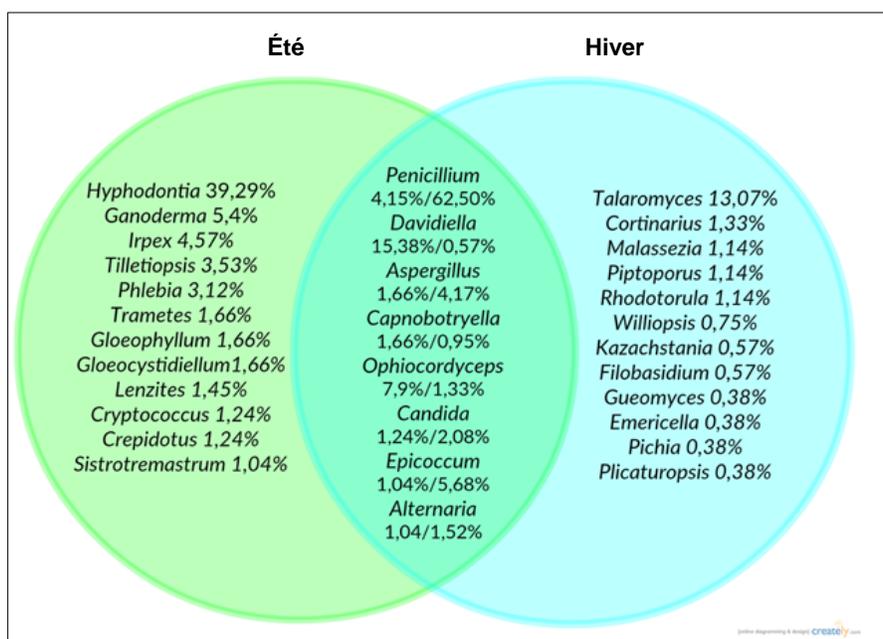


Figure 16 : Diagramme de Venn des 20 genres de moisissures les plus abondants en été et en hiver dans les usines A1 et A2.

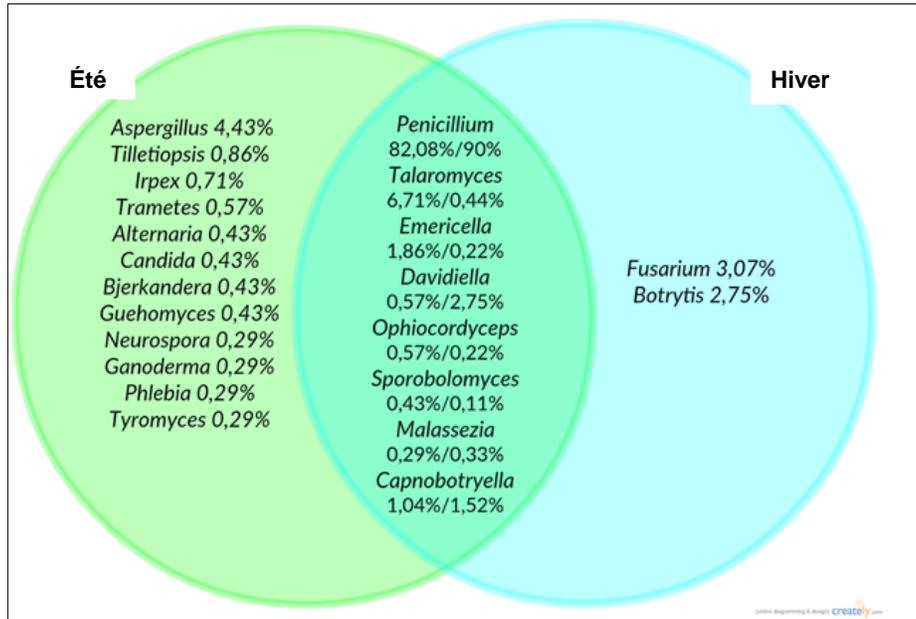


Figure 17 : Diagramme de Venn des 20 genres de moisissures les plus abondants en été et en hiver dans l'usine B.

De façon générale, une grande diversité de moisissures est notée au sein des bioaérosols échantillonnés dans les usines de biométhanisation. La présence dans l'air d'une telle diversité d'agents biologiques pourrait représenter un risque potentiel pour les travailleurs. Effectivement, un des mécanismes physiopathologiques de cet agent est la production de mycotoxines, qui peuvent être générées par une ou plusieurs moisissures. Cette exposition pourrait avoir des effets néfastes pour la santé. De plus, il est possible que, pour certaines de ces moisissures, l'activité allergène et/ou l'infektivité ne soient pas encore démontrées. Ces facteurs pourraient augmenter le risque encouru par les travailleurs. De manière plus spécifique, la présence de 5 moisissures avec une activité allergène et/ou pathogène opportuniste connue a été détectée : *Aspergillus*, *Malassezia*, *Emericella*, *Fusarium* et *Candida*. L'exposition quotidienne des travailleurs des usines de biométhanisation à ces moisissures pourrait représenter un risque accru pour leur santé.

5.4 Substances chimiques

Les résultats des concentrations moyennes de substances chimiques, présentés dans cette sous-section, peuvent intégrer ou faire référence à deux valeurs : la valeur minimale rapportée (VMR) et la valeur d'exposition moyenne pondérée (VEMP). La VMR peut être considérée comme équivalente à la limite de détection. Quant à la VEMP, elle est définie par le RSST comme « la concentration moyenne, pondérée pour une période de 8 heures par jour, en fonction d'une semaine de 40 heures, d'une substance chimique [...] présente dans l'air au niveau de la zone respiratoire du travailleur ». Toutefois, comme les mesures des substances chimiques dans cette recherche n'ont pas été prises dans la zone respiratoire des travailleurs, les comparaisons entre les résultats obtenus et les VEMP ne sont présentées qu'à titre indicatif.

5.4.1 Matières particulaires totales

Les concentrations moyennes de matières particulaires totales (MPT) mesurées en été et en hiver pour les usines A1, A2 et B sont indiquées respectivement aux tableaux 15, 16 et 17. Pour chaque atelier, le nombre de prélèvements était de 6 en été et de 6 en hiver soit un total de 84 pour les trois usines.

Tableau 15 : Moyennes et écarts-types géométriques des concentrations des matières particulaires totales dans l'usine A1 en été et en hiver

Atelier	Concentration mesurée en été \pm ET (mg/m ³)	Concentration mesurée en hiver \pm ET (mg/m ³)
Réception	0,11 \pm 1,2	< VMR ¹
Prétraitement	< VMR ¹	< VMR ¹
Maturation	0,12 \pm 1,3	< VMR ¹
VEMP²	10	10

¹<VMR : inférieure à la valeur minimale rapportée, soit 0,1 mg/m³

²VEMP : valeur d'exposition moyenne pondérée

Tableau 16 : Moyennes et écarts-types géométriques des concentrations des matières particulaires totales dans l'usine A2 en été et en hiver

Atelier	Concentration mesurée en été \pm ET (mg/m ³)	Concentration mesurée en hiver \pm ET (mg/m ³)
Filtres-presses	0,13 \pm 1,6	< VMR ¹
Vidange des boues	< VMR ¹	< VMR ¹
VEMP²	10	10

¹<VMR : inférieure à la valeur minimale rapportée, soit 0,1 mg/m³

²VEMP : valeur d'exposition moyenne pondérée

Tableau 17 : Moyennes et écarts-types géométriques des concentrations des matières particulaires totales dans l'usine B en été et en hiver

Atelier	Concentration mesurée en été ± ET (mg/m ³)	Concentration mesurée en hiver ± ET (mg/m ³)
Réception	< VMR ¹	< VMR ¹
Tampon	< VMR ¹	< VMR ¹
VEMP ²	10	10

¹<VMR : inférieure à la valeur minimale rapportée, soit 0,1 mg/m³

²VEMP : valeur d'exposition moyenne pondérée

Toutes les concentrations moyennes de MPT étaient inférieures à la VEMP. De tels résultats témoignent, en ce qui a trait à la concentration massique, de l'absence de risque pour la santé des travailleurs dans les conditions de travail qui prévalaient lors des échantillonnages.

5.4.2 Métaux

Les concentrations de cadmium, de nickel, de plomb et d'arsenic ont également été mesurées dans les trois usines. Pour chaque atelier, le nombre de prélèvements était de 6 en été et de 6 en hiver, soit un total de 336 pour les trois usines.

Les résultats obtenus montrent que les concentrations moyennes des quatre métaux ont été très faibles (toutes sous leur valeur minimale rapportée) et bien en dessous des VEMP. Ces métaux ne posaient donc pas de risque pour la santé des travailleurs dans les conditions de travail qui prévalaient.

5.4.3 Composés organiques volatils totaux et autres gaz

Les concentrations moyennes d'hydrogène sulfuré (H₂S), de monoxyde de carbone (CO), de méthane (CH₄), d'anhydride carbonique (CO₂), d'ammoniac (NH₃), d'oxydes d'azote (NO, NO₂) et de composés organiques volatils totaux (COV) sont indiqués dans les tableaux 18, 19 et 20 pour les usines A1, A2 et B respectivement.

Les résultats obtenus permettent de rapporter la présence de certains gaz dont la surveillance est suggérée en raison principalement de leur potentiel de risque. Ces substances chimiques, dont les concentrations sont néanmoins bien en dessous des valeurs des VEMP, incluent :

- 1) l'ammoniac (NH₃), gaz irritant, ayant été détecté tout particulièrement dans l'aire de vidange des boues et dans la salle des filtres-presses de l'usine A2, mais également dans l'aire de réception de l'usine A1 ainsi que dans la réception et la zone du réservoir tampon de l'usine B. Les concentrations moyennes étaient néanmoins inférieures à la VEMP. Cependant, ce gaz est considéré comme une substance chimique devant être monitorée, car plusieurs concentrations, mesurées notamment dans certains centres de compostage, dépassaient la VEMP (Poirot *et al.*, 2010; Marchand *et al.*, 2017).
- 2) le monoxyde de carbone (CO), gaz asphyxiant évalué à une concentration relativement élevée de 10 ppm dans l'aire de prétraitement de l'usine A1 en été, mais inférieure à la

VEMP (35 ppm). Cette concentration de 10 ppm pourrait être associée aux émissions du moteur diesel d'une chargeuse remplie de MOP ayant circulé à plusieurs reprises dans l'aire de réception qui était ouverte sur l'aire de prétraitement (site de l'échantillonnage). Les équipements de soudure ayant été utilisés pour la réparation d'une des bennes basculantes dans l'aire de prétraitement auraient également contribué à cette concentration de CO. Les émissions de CO, tant dans les centres de compostage que de biométhanisation, sont néanmoins peu documentées. Ce gaz est pourtant considéré comme étant une substance chimique dont on doit se protéger en raison de ses effets délétères potentiels sur la santé des travailleurs, notamment en milieu confiné ou peu aéré (ACGIH, 2001). Des émissions de CO dans un hall fermé de fermentation lors des opérations de compostage ont d'ailleurs déjà été rapportées dans la littérature (Lavoie et Alie, 1997; Lavoie et Marchand, 1997).

- 3) le dioxyde de carbone (CO₂) en hiver, mesuré dans l'aire de prétraitement de l'usine A1 à une concentration relativement élevée (1260 ppm), quoiqu'inférieure à la VEMP (5000 ppm). Cette concentration de CO₂ serait probablement due à l'échappement d'air d'un chariot élévateur alimenté au gaz propane qui circulait au moment des prélèvements.
- 4) même si le H₂S n'a pas été détecté au-delà de sa limite de détection, il demeure un gaz à monitorer dans les usines de biométhanisation. Des détecteurs étalonnés devraient toujours être disponibles dans les usines.

Tableau 18 : Concentrations moyennes et écarts-types (\pm ET) des gaz dans l'usine A1, en été et en hiver

Atelier	H ₂ S (ppm)		CO (ppm)		CH ₄ (%)		CO ₂ (ppm)		NH ₃ (ppm)		NO ₂ (ppm)		NO (ppm)		COV totaux (ppm)	
	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver
Réception	<0,05	<0,05	<0,5	<0,5	<0,025	<0,025	400 (\pm 90)	<300	2 (\pm 0,5)	1 (\pm 0,5)	<0,05	<0,05	<0,5	<0,5	2 (\pm 1)	0,5 (\pm 0,1)
n =	121	202	121	202	121	202	121	202	122	203	122	203	122	203	122	203
Prétraitement	<0,05	<0,05	10 (\pm 2,2)	1,3 (\pm 2)	<0,025	<0,025	500 (\pm 130)	1260 (\pm 1300)	1 (\pm 0,5)	<0,5	<0,05	<0,05	<0,5	0,8	0,5 (0,3)	1,1 (\pm 0,6)
n =	136	249	136	249	136	249	136	249	137	249	137	249	137	249	137	249
Maturation	<0,05	<0,05	<0,5	<0,5	<0,025	<0,025	<300	<300	1 (\pm 0,5)	0,8 (\pm 0,7)	<0,05	<0,05	<0,5	<0,5	<0,05	0,5 (\pm 0,4)
n =	140	37	140	37	140	37	140	37	140	38	140	38	140	38	140	38
VEMP¹	10	10	35	35	AS²	AS²	5000	5000	25	25	3	3	25	25	-	-

¹VEMP : valeur d'exposition moyenne pondérée²AS : Asphyxiant simple

Tableau 19 : Concentrations moyennes et écarts-types (\pm ET) des gaz dans l'usine A2, en été et en hiver

Atelier	H ₂ S (ppm)		CO (ppm)		CH ₄ (%)		CO ₂ (ppm)		NH ₃ (ppm)		NO ₂ (ppm)		NO (ppm)		COV totaux (ppm)	
	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver
Filtres-presses	<0,05	<0,05	<0,5	<0,5	<0,025	<0,025	<300	<300	2 (\pm 0,5)	<0,5	<0,05	<0,05	<0,5	<0,5	0,3	<0,05
n =	127	331	127	331	127	331	127	331	127	331	127	331	127	331	127	331
Vidange des boues	<0,05	<0,05	<0,5	<0,5	<0,025	<0,025	<300	<300	4 (\pm 0,7)	1 (\pm 0,5)	<0,05	<0,05	<0,5	<0,5	<0,05	<0,05
n =	300	123	300	123	300	123	300	123	289	120	289	120	289	120	289	120
VEMP¹	10	10	35	35	AS²	AS²	5000	5000	25	25	3	3	25	25	-	-

¹VEMP : valeur d'exposition moyenne pondérée

²AS : Asphyxiant simple

Tableau 20 : Concentrations moyennes et écarts-types (\pm ET) des gaz dans l'usine B, en été et en hiver

Atelier	H ₂ S (ppm)		CO (ppm)		CH ₄ (%)		CO ₂ (ppm)		NH ₃ (ppm)		NO ₂ (ppm)		NO (ppm)		COV totaux (ppm)	
	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver	Été	Hiver
Réception	<0,05	<0,05	<0,5	<0,5	<0,025	<0,025	<300	<300	2,2 (\pm 0,3)	1,4 (\pm 0,5)	<0,05	<0,05	<0,5	<0,5	3 (0,9)	<0,05
n =	304	93	304	93	304	93	30	93	323	93	323	93	323	93	323	93
Tampon	<0,05	<0,05	<0,5	<0,5	<0,025	<0,025	<300	<300	2 (\pm 0,2)	1 (0,5)	<0,05	<0,05	<0,5	<0,5	1 (\pm 0,2)	<0,05
n =	138	243	138	243	138	243	13	243	139	244	139	244	323	244	139	244
VEMP¹	10	10	35	35	AS²	AS²	5000	5000	25	25	3	3	25	25	-	-

¹VEMP : valeur d'exposition moyenne pondérée

²AS : Asphyxiant simple

5.4.4 Composés organiques volatils spécifiques

Les concentrations de composés organiques volatils (COV) spécifiques (3-carène, α -pinène, β -pinène, limonène et éthanol) ont été mesurées dans les usines A1, A2 et B. Pour chaque site de prélèvement, le nombre d'échantillons était de 6 en été et de 6 en hiver, soit un total de 420 prélèvements pour les trois usines.

Les concentrations moyennes des COV spécifiques étaient inférieures aux VMR, à l'exception de la concentration du limonène, estimée dans l'aire de prétraitement de l'usine A1 en hiver. En effet, celle-ci (0,35 mg/m³) a dépassé la VMR qui est de 0,2 mg/m³.

Les COV terpéniques, notamment le limonène et le β -pinène, sont associés à la manipulation des MOP fraîches issues des déchets de table ou d'épicerie, tout particulièrement constitués de restes de fruits et de légumes (Smet *et al.*, 1999; Orzi *et al.*, 2010). Or, durant la session d'échantillonnage d'hiver, deux camions-bennes chargés de MOP, issues de bacs bruns contenant essentiellement des restants de fruits et légumes, ont vidangé leur contenu dans une des bennes basculantes de l'aire de prétraitement de l'usine A1. Les opérations de mélange, de brassage et de broyage des MOP expliqueraient la présence, bien que modérée, de limonène dans cet atelier. Poirot *et al.* (2010) ont obtenu des moyennes de concentrations de COV terpéniques qui variaient de 0,74 à 1,74 mg/m³ dans des centres de compostage de MOP résidentielles comparativement à des moyennes variant de 0,03 à 0,38 mg/m³ dans des unités compostant des boues d'eaux usées ou des déchets verts. Il est toutefois intéressant de noter que l'étude de Poirot *et al.* (2010) a révélé que la concentration moyenne mesurée lors du compostage en milieu fermé des boues issues de la digestion de MOP résidentielles a été la plus élevée, soit 3,10 mg/m³. Le plateau de maturation du digestat déshydraté de l'usine A1 était un milieu relativement ouvert vers l'extérieur, ce qui pourrait expliquer des moyennes de concentrations de COV spécifiques sous les VMR.

5.5 Hiérarchisation des aires critiques de travail

La hiérarchisation des aires critiques de travail constitue une façon de présenter les sites de prélèvement en fonction des concentrations de substances chimiques et d'agents biologiques par ordre d'importance (des plus élevées aux plus basses). Étant donné la quasi-absence d'exposition aux substances chimiques, dans les conditions de travail qui prévalaient lors des sessions d'échantillonnage, la hiérarchisation des aires critiques a été établie, pour les trois usines, en tenant compte exclusivement des résultats relatifs aux agents biologiques. Or, dans cette recherche, les mesures les plus représentatives à ces agents sont celles qui découlent de l'analyse des particules fluorescentes avec l'UV-APS, car elles incluent tout le matériel biologique (virus, bactéries, moisissures, etc.). Le tableau 21 présente ainsi la hiérarchie des aires critiques des usines A1, A2 et l'usine B, en été et en hiver, et ce, par ordre décroissant des concentrations moyennes.

Tableau 21 : Hiérarchisation des aires critiques de travail par ordre décroissant des concentrations moyennes de particules fluorescentes mesurées dans les usines A1, A2 et B, en été et en hiver

Usine	Aire critique de travail	
	Été	Hiver
A1 et A2	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vidange des boues 2. Prétraitement 3. Maturation 4. Réception 5. Filtres-presses 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Prétraitement 2. Réception 3. Filtres-presses 4. Vidange des boues
B	<ol style="list-style-type: none"> 1. Réception 2. Tampon 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Réception 2. Tampon

En tenant compte des résultats obtenus durant l'été, l'aire de vidange des boues de l'usine A2 a été classée en tête. Toutefois, ce résultat pourrait avoir été surévalué en raison des activités se déroulant dans la cour extérieure de l'usine et d'une porte d'accès maintenue ouverte durant toute la période d'échantillonnage. En effet, ces deux facteurs auraient pu favoriser l'augmentation des concentrations de particules fluorescentes dans l'usine. Le classement de cette aire de travail pour la saison hivernale pourrait à l'inverse avoir été sous-estimé. En effet, l'aire de vidange des boues ne fonctionnait pas à plein régime durant la session d'échantillonnage hivernale.

Hormis ces deux cas particuliers, les aires de travail les plus critiques ont été, par ordre d'importance, celles où se déroulaient les étapes de réception et de prétraitement des MOP fraîches, suivies de celles associées aux étapes de post-traitement par maturation des MOP digérées. En tenant compte des concentrations de bioaérosols totaux, des différences saisonnières ont été constatées entre les usines. Ainsi, la contamination des ateliers de réception et de prétraitement de l'usine A1 était supérieure en hiver tandis que l'atelier de réception de l'usine B l'a plutôt été en été. Les déchargements de MOP depuis des camions-bennes dans les usines A1 et B, respectivement en hiver et en été, en seraient probablement la cause.

Si la hiérarchie des aires critiques a été sensiblement la même pour les trois usines, été comme hiver, les aires de prétraitement de l'usine A1 et de réception de l'usine B (toutes deux étant des lieux de brassage, d'arrosage et de broyage des MOP) ont toutefois été les plus problématiques. En été, le plateau de maturation, s'ajoutant aux ateliers fonctionnels en période estivale, pourrait également représenter une zone de travail à risque biologique élevé comparativement à l'aire de réception.

5.6 Facteurs pouvant influencer le niveau d'exposition potentiel des travailleurs

En considérant les résultats des analyses statistiques, il a été possible de déterminer quelques facteurs susceptibles d'augmenter les concentrations de substances chimiques et/ou d'agents biologiques (par aérosolisation et/ou remise en suspension des poussières) et ainsi de rehausser les risques pour la santé des travailleurs des usines de biométhanisation. Ces

facteurs sont associés soit à des activités, à des pratiques et à des conditions de travail particulières ou encore à des événements ponctuels. Ils incluent notamment :

- le remplissage des bennes de réception;
- l'arrosage des MOP;
- le brassage des MOP;
- le nettoyage manuel par jet d'eau des équipements et des planchers;
- la fuite du contenu liquide d'équipements en contact direct avec les MOP fraîches ou digérées;
- les allées et venues des travailleurs dans les aires de travail.

D'autres facteurs sont susceptibles d'influencer l'exposition des travailleurs. Ceux-ci découlent essentiellement des observations sur le terrain et mériteraient d'être éventuellement mieux étudiés. Il s'agit de :

- l'accumulation des MOP et les retards dans leur traitement susceptibles de déclencher un processus de compostage. Il ne doit pas s'écouler en effet plus de 18 heures entre la réception d'un intrant exogène sur l'aire étanche de réception et l'entrée de cet intrant dans le digesteur anaérobie (MDDEP, 2011a);
- la circulation d'engins motorisés alimentés au propane ou au diesel dans les aires de travail;
- le brassage assisté d'une pelle mécanique qui, s'il est trop puissant, pourrait favoriser l'aérosolisation des microorganismes, devenant ainsi une source supplémentaire de bioaérosols;
- les travaux de réparation d'équipements;
- les déversements accidentels de contenu solide et liquide de camions-bennes chargés de MOP;
- les milieux de travail clos mal ventilés ou à l'opposé complètement ouverts vers l'extérieur;
- le post-traitement de mélanges de boues issues de MOP et de boues d'épuration d'eaux usées;
- la proximité de sites d'enfouissement technique.

Un seul de ces facteurs où leur combinaison pourrait contribuer à augmenter les concentrations des agents biologiques dans l'air des usines et hausser conséquemment le niveau d'exposition des travailleurs et le niveau de risque pour leur santé. L'exemple de l'usine B illustre cette situation. En effet, cette usine s'est singularisée en été par des concentrations de microorganismes indicateurs de risque supérieures à celles ayant été mesurées dans les usines A1 et A2 ainsi que par la présence de *Saccharopolyspora rectivirgula*. Une exposition

plus élevée aux microorganismes dans l'usine B pourrait entraîner un risque pour la santé plus élevé.

De façon plus spécifique, l'usine B présentait un certain nombre de caractéristiques qui peuvent influencer sur ce positionnement :

- la proximité de l'usine B d'un lieu d'enfouissement technique;
- le non-fonctionnement du système de ventilation générale de l'usine B durant la période estivale. L'ouverture des portes d'accès n'aurait donc pas suffi à dissiper les émissions de contaminants vers l'extérieur;
- l'état initié du compostage des MOP dont était remplie la benne depuis déjà quelques jours;
- le recours à une pelle mécanique pour brasser les MOP dans la benne de l'usine B alors que dans l'usine A1 l'opération de mélange était effectuée sporadiquement à l'aide d'une perche munie d'un embout métallique;
- des fuites de lixiviat sous la benne de brassage au niveau sous-sol de la zone du réservoir tampon. De nombreux asticots jonchaient le sol de cet atelier, comme signalé plus tôt dans ce rapport. D'ailleurs, les concentrations les plus élevées de microorganismes et d'endotoxines ont été mesurées dans la zone tampon.

À ce propos, il serait sans doute intéressant d'utiliser la bâche de protection qui sert à recouvrir la benne de réception de l'usine B systématiquement entre les vidanges des camions et non pas en fin d'activité, afin de contrôler à la source les émissions des contaminants biologiques. Cette benne est d'ailleurs munie d'un système d'aspiration à la source comme indiqué par la flèche à la figure 18.



Figure 18 : Bouche d'extraction d'air de la benne de réception de l'usine B.

Il est évident que de plus grandes quantités de MOP traitées pourraient également accroître les concentrations des substances chimiques et d'agents biologiques avec pour effet une hausse de l'exposition et des risques encourus par les travailleurs, car elles supposent nécessairement une augmentation de la circulation d'engins motorisés, d'opérations d'agitation incluant brassage et arrosage ainsi que du nombre d'opérations de nettoyage des équipements.

5.7 Recommandations en matière de protection respiratoire et personnelle

Le risque biologique pour les travailleurs des usines de biométhanisation échantillonnées était d'autant plus significatif que des marqueurs ciblés pour les risques biologiques pour la santé humaine, identiques à ceux utilisés dans des centres de compostage, y ont été détectés. De plus, les risques pour la santé humaine doivent être pris en considération même en présence de faibles concentrations de microorganismes à caractère pathogène, une situation différente de celle où la présence d'autres microorganismes ne constitue un risque important pour la santé humaine qu'à l'occasion d'expositions à des concentrations supérieures aux valeurs de référence (Douwes *et al.*, 2003). De ce fait, l'exposition quotidienne des travailleurs dans les usines de biométhanisation à ces bactéries et moisissures pathogènes pourrait représenter un risque pour leur santé d'autant plus que les moyennes des DAM des bioaérosols étaient inférieures à 5 µm, soit dans la gamme de tailles des particules constituant la fraction respirable. Une fois inhalés, ces microorganismes pourraient se déposer dans les zones profondes du système respiratoire.

Par analogie avec les usines de biométhanisation, les centres de compostage ont longtemps été soupçonnés d'être des lieux où des affections respiratoires liées à l'exposition professionnelle chronique peuvent survenir et être attribuables aux concentrations de bioaérosols (Pearson *et al.*, 2015). Une étude de cohorte prospective, étalée sur 13 années, a permis de recueillir des données sur la santé respiratoire des travailleurs des centres de compostage en Allemagne. Les résultats suggèrent que l'exposition chronique des travailleurs aux microorganismes introduits dans ce secteur d'activité, notamment *A. fumigatus* et *S. rectivirgula*, est associée à un risque statistiquement significatif d'atteintes respiratoires de type bronchite chronique avec toux et mucosité (Van Kampen *et al.*, 2016). Les indicateurs biologiques de risque pour la santé humaine étant similaires dans les usines de biométhanisation, ce type d'affection respiratoire chronique devrait être considéré comme un risque potentiel à long terme.

Par conséquent, des protections respiratoires et cutanées sont recommandées pour réduire l'exposition des travailleurs aux agents biologiques à caractère pathogène et pour en prévenir les effets nocifs. Le port d'un appareil de protection respiratoire jetable de type N95 bien ajusté est suffisant pour ce type d'exposition (Lavoie *et al.*, 2007). Le choix du modèle d'appareil par les travailleurs devra être établi dans le cadre d'un programme de protection respiratoire (RSST, 2013). Les risques de projection d'agents biologiques, lors du lavage manuel au jet d'eau à haute pression des bennes de réception, ont d'autre part été rapportés par des préventeurs d'usines de biométhanisation en France. En plus de recommander un système de lavage automatique, ces préventeurs ont fortement suggéré le port de combinaisons, de chaussures de sécurité, de gants et visières pour les travailleurs qui participent à des opérations manuelles de lavage (Delaval, 2015). De telles précautions devraient également être appliquées dans les usines de biométhanisation du Québec.

Signalons enfin que la ventilation des locaux des usines de biométhanisation est un élément clé du contrôle des concentrations ambiantes des substances chimiques et des agents biologiques. Si, dans l'ensemble, les usines étudiées veillaient à une bonne fonctionnalité de leurs systèmes de ventilation, le hasard a voulu que le plan d'échantillonnage coïncide avec des situations où ceux-ci étaient non fonctionnels (usine B en été, en l'occurrence). Cela a certainement influé sur les concentrations mesurées et incite à recommander fortement que l'entretien du système de ventilation se fasse sur une base régulière afin d'assurer son bon fonctionnement et son efficacité. Mentionnons qu'Environnement Canada (2013) préconise six changements d'air frais par heure ou plus dans les unités traitant les matières organiques.

5.8 Limites et contraintes

Les usines de biométhanisation échantillonnées venaient à peine d'être construites et étaient ainsi en pleine période de rodage avec des systèmes plus ou moins opérationnels durant les sessions d'échantillonnage d'été et d'hiver. De plus, ils ne fonctionnaient pas selon les régimes correspondants à la pleine collecte des MOP dans toutes les résidences des villes. Les quantités de MOP traitées étaient donc nettement inférieures aux objectifs visés et au potentiel des établissements. À cause du nombre insuffisant de mesures, les résultats obtenus pour les deux usines ne dressent pas un portrait juste et complet de l'exposition potentielle aux substances chimiques et agents biologiques des travailleurs des usines de biométhanisation. Il est bien sûr attendu que l'exposition des travailleurs augmente de façon importante lorsque les usines auront atteint leur pleine capacité de production et traiteront des quantités plus importantes de MOP.

D'autre part, certaines opérations relatives au processus de biométhanisation n'étaient pas totalement au point. Ainsi, les étapes de post-traitement des MOP, incluant leur sortie des digesteurs, la séparation des phases solides/liquides ainsi que le procédé de maturation à des fins d'épandage, n'ont pas été observées dans l'usine B. Il n'a donc pas été possible d'effectuer des comparaisons entre les deux usines de biométhanisation notamment en ce qui a trait à l'influence de la température lors de la digestion anaérobique sur la composition chimique et biologique du digestat. De plus, le plateau de maturation du digestat déshydraté de l'usine A1 n'était pas fonctionnel en hiver et n'a pas été exploité à plein régime lors des échantillonnages d'été.

L'efficacité des systèmes de ventilation devrait faire l'objet d'études additionnelles. Par exemple, quelle est l'influence des écoulements d'air lorsque les portes sont fermées ou ouvertes sur l'efficacité des systèmes de ventilation et sur les concentrations ambiantes de contaminants? De tels travaux de recherche contribueraient à contextualiser les résultats obtenus dans la présente étude.

En dépit de ces limites et contraintes, et en considérant les conditions de travail qui prévalaient lors des sessions d'échantillonnage, il a été possible de dégager des constats d'importance, d'autant plus pertinents que des quantités plus élevées de MOP seront manipulées et traitées par les travailleurs de ces deux usines de biométhanisation dans le futur.

6. CONCLUSION

Cette étude sur l'exposition des travailleurs aux agents biologiques et aux substances chimiques dans les usines de biométhanisation des MOP au Québec est de nature exploratoire.

Bien que les deux usines participantes aient été récemment construites, qu'elles étaient en pleine période de rodage et qu'elles ne fonctionnaient pas encore à plein régime, cette recherche a permis de mettre en relief un risque biologique significatif pour la santé des travailleurs, principalement lors des étapes de réception, de prétraitement et de post-traitement des digestats par compostage. Plusieurs concentrations de microorganismes excédaient les valeurs guides de référence. De plus, le diamètre aérodynamique de ces agents biologiques était inférieur à 5 microns, dimension qui leur permet de pénétrer profondément dans le système respiratoire. De même, la présence de microorganismes indicateurs de risques pour la santé humaine tels des *Mycobacterium spp* non tuberculeuses et *Saccharopolyspora rectivirgula*, a été détectée. La présence des *Legionella spp* devra nécessairement être considérée lors des évaluations de risques pour la santé des travailleurs dans les usines de biométhanisation traitant les boues d'épuration des eaux usées. Une exposition à long terme des travailleurs à ces contaminants biologiques pourrait notamment augmenter le risque d'affections respiratoires. À l'opposé, l'exposition aux substances chimiques était généralement très faible et ne présentait pas de risques pour la santé des travailleurs.

En raison de l'expansion prévue des deux usines de biométhanisation et, conséquemment, de la hausse du volume de MOP à traiter, il a été recommandé que des précautions soient prises afin de réduire certains risques chimiques et biologiques pour la santé des travailleurs de ces établissements.

Grâce aux différentes politiques mises en place, l'industrie de la biométhanisation devrait connaître une forte croissance. Une augmentation substantielle du nombre de travailleurs est ainsi attendue. En ayant déterminé les aires critiques de travail, cette étude a permis d'établir les bases et paramètres des connaissances qui pourront contribuer à améliorer les modes opératoires ainsi que les conditions de travail associés aux usines de biométhanisation. Ces éléments devraient être considérés lors de l'implantation des futures usines de ce type au Québec. De plus, des mesures d'hygiène industrielle, incluant notamment des prélèvements en poste personnels, pourront être élaborées afin d'évaluer de manière ciblée et exhaustive l'exposition des travailleurs en fonction des étapes du procédé de biométhanisation et d'optimiser ainsi les moyens de contrôle tout en veillant au respect des normes d'exposition et des valeurs guides.

BIBLIOGRAPHIE

- ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). (1999). *Bioaerosols. Assessment and control*. Cincinnati, Ohio, USA: Janet Macher Editor.
- ACGIH. (2001). *Carbon Monoxide. Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices*. (7^e éd.) Cincinnati, Ohio, USA: American Conference of Governmental Industrial Hygienists.
- ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). (2017). *TLVs and BEIs Based on the Documentation of the Threshold Limit values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure indices*. 238 p., Cincinnati, Ohio, USA.
- ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie). (1998). *Etat Des Connaissances Sur Le Devenir Des Germes Pathogenes Et Des Micropolluants Au Cours De La Methanisation Des Dechets et Sousproduits Organiques*. Tiré de https://solagro.org/images/imagesCK/files/publications/f33_impactsdelamethanisationsurlesgermespathogenes.pdf
- ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie). (2009). *Guide méthodologique pour le suivi d'une installation de méthanisation*. Tiré de https://www.biomasse-normandie.org/IMG/pdf/2009-07_Rapport_final_version_ADEME.pdf
- ADEME. (2011). *Qualité agronomique et sanitaire des digestats (Marché ADEME n° 0906C0053)*. Tiré de https://www.ademe.fr/sites/default/files/assets/documents/79519_qualite_digestat_rf_octobre_2011.pdf
- Agence de la santé publique du Canada. (2016). *Mycobacterium spp.*, Fiche technique santé-sécurité: agents pathogènes. Tiré de <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/mycobacterium-fra.php>
- Al Seadi, T. (2001). *Good practice in quality management of AD residues from biogas production (Task 24)*, International Energy Agency (IEA) Bionergy. Tiré de [http://213.229.136.11/bases/ainia_probiogas.nsf/0/70996A6A88900B70C125753F005B70AD/\\$FILE/IEA%20BUENAS%20PR%C3%81CTICAS%20DA.pdf](http://213.229.136.11/bases/ainia_probiogas.nsf/0/70996A6A88900B70C125753F005B70AD/$FILE/IEA%20BUENAS%20PR%C3%81CTICAS%20DA.pdf)
- Al Seadi, T, Rutz, D., Prassl, H., Kottner, M., Finsterwalder, T., Volk, S. et Janssen, R. (2008). *Biogas Handbook*. Tiré de <http://www.lemvigbiogas.com/BiogasHandbook.pdf>
- Al Seadi, T. et Lukehurst C. (2012). *Quality management of digestate from biogas plant used as fertiliser*, IEA Bionergy. Tiré de http://www.iea-biogas.net/files/daten-redaktion/download/publi-task37/digestate_quality_web_new.pdf
- American Biogas Council. (2012). *Getting Projects Done: An Industry Perspective*. Wayne Davis Conference, May 14 2012. Tiré de http://www.epa.gov/envirofinance/BiogasPresentation_Davis.pdf.

ATEE (Association technique Énergie Environnement). (2011). Guide de bonnes pratiques pour les projets de méthanisation. Tiré de <http://atee.fr/biogaz/guide-bonnes-pratiques-pour-les-projets-de-m%C3%A9thanisation>

ATSDR (Agency for Toxic Substances & Disease Registry). (2014). Toxic Substances Portal. Tiré de <https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/index.asp>

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. doi:10.1016/s0167-7012(01)00370-0

Bio-Tox. (2009). Synthèse des Connaissances sur les impacts environnementaux et les risques sanitaires de l'incinération, de la méthanisation et des centres de stockage. Tiré de http://projet-ivryparis13.syctom.fr/wp-content/files/Synthese_des_connaissances_sur_les_impacts_environmentaux_et_les_risques_sanitaires_-BIO_TOX_-2009.PDF {dernière consultation: 11 aout 2016}.

Brewer, J.H., Thrasher, J.D., Straus, D.C., Madison, R.A. et Hooper, D. (2013). Detection of mycotoxins in patients with chronic fatigue syndrome. *Toxins*, 5, 605-617. doi: 10.3390/toxins5040605

Buffiere, P., Carrere, M., Lemaire, O. et Vasquez, J. (2007). Guide Méthodologique pour l'Exploitation d'Unités de Méthanisation de Déchets Solides. Projet METHAPI-Expertise, Centre de Recherche sur la Propreté et l'Énergie. Tiré de http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=home.showFile&rep=file&fil=Methapi_Guide_Methodo_FR.pdf

Caicedo, C., Beutel, S., Scheper, T., Rosenwinkel H. et Nogueira, R. (2016). Occurrence of *Legionella* in wastewater treatment plants linked to wastewater characteristics. *Environmental Science and Pollution Research*, 23 (16), 16873-16881. doi:10.1007/s11356-016-7090-6

Canon-Franco, W.A., Henao-Agudedo, R.A. et Perez-Bedoya, J.L. (2012). Recovery of Gastrointestinal swine parasites in Anaerobic Biodigester Systems, *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 21 (3), 249-253. doi: 10.1590/S1984-29612012000300013

CNESST (Commission des normes, de l'équité, de la santé et de la sécurité du travail). (2016). Répertoire toxicologique. Tiré de <http://www.csst.qc.ca/prevention/reptox/Pages/repertoire-toxicologique.aspx>

CRAAQ (Centre de référence en agriculture et agro-alimentaire du Québec). (2008). La biométhanisation à la ferme. Tiré de <http://www.craaq.qc.ca/data/DOCUMENTS/EVC033.pdf>

Couturier, C. et Galtier, L. (1998). État des connaissances sur le devenir des germes pathogènes et des micropolluants au cours de la méthanisation des déchets et sous-produits organiques. Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (N° contrat : 9893024). Tiré de https://solagro.org/images/imagesCK/files/publications/f33_impactsdelamethanisationsurlesgermespathogenes.pdf

Deacon, I., Pankhurst, L., Liu, J., Drew, G.H. Hayes, T., Jackson, S., Tyrrel, S. (2009). « Endotoxin emissions from commercial composting activities », *Environmental Health*, 8 (Suppl 1), S9. doi.org/10.1186/1476-069X-8-S1-S9

DECOS (Dutch Expert Committee on Occupational Standards). (2010) *Endotoxins: health-based recommended occupational limit*. Publication No. 2010/04OSH. The Hague: The Health Council of the Netherlands.

Delaval, K. (Juillet-août 2015). Confiner les risques, Dossier Les énergies renouvelables. Travail et Sécurité n° 736. Tiré de <http://www.travail-et-securite.fr/ts/dossier/Confiner%20les%20risques.html>

Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N. et Heederick, D. (2003). Bioaerosol Health Effects and Exposure Assessment: Progress and Prospects, *Annals of Occupational Hygiene*, 47 (3), 187–200.

Dubuis, M.E., M'Bareche, H., Veillette, M., Bakhiyi, B., Zayed, J., Lavoie, J., Duchaine, C. (2017). Bioaerosols Concentrations in Working Areas in Biomethanization Facilities. *Journal of the Air & Waste Management Association* 67 (11), 1258-71. doi:10.1080/10962247.2017.1356762.

Duquenne, P., Marchand, G. et Duchaine, C. (2013). Measurement of Endotoxins in Bioaerosols at Workplace: A Critical Review of Literature and a Standardization Issue. *Annals of Occupational Hygiene*, 57(2), 137-72. doi: 10.1093/annhyg/mes051

Dutkiewicz, J. (1997). Bacteria and Fungi in Organic Dust as Potential Health Hazard. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 4, 11–16.

Eduard, W. (2009). Fungal spores: A critical review of the toxicological and epidemiological evidence as a basis for occupational exposure limit setting. *Critical Reviews in Toxicology*, 39(10):799-864. doi.org/10.3109/10408440903307333

Environnement Canada. (2013). Document technique sur la gestion des matières organiques municipales, numéro de cat.: En14-83/2013F. Tiré de <http://www.compost.org/pdf/Document%20technique%20sur%20la%20gestion%20des%20matieres%20organiques%20municipales.pdf>

GIEC (Groupe intergouvernemental sur l'évolution du climat). (2007). Changement climatique 2007, Rapport des synthèses. Tiré de http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/syr/ar4_syr_fr.pdf

Gilbert, Y., Veillette, M., Mériaux, A., Lavoie, J., Cormier, Y., Duchaine, C. (2010). Metalworking Fluid-related Aerosols in Machining Plants. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 7(5), 280-9. doi:10.1080/15459621003680227.

Gouvernement du Québec. (2016). Légionellose (maladie du légionnaire), Portail santé mieux-être. Tiré de : <http://sante.gouv.qc.ca/problemes-de-sante/legionellose/>

Goyer, N., Lavoie, J., Lazure, L., Marchand, G. 2001. Les bioaérosols en milieu de travail : guide d'évaluation, de contrôle et de prévention. Études et recherches, guide technique T-23, Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, 63 pages.

Heldal, K.K., Madsø, L. et Eduard, W. (2015). Airway inflammation among compost workers exposed to actinomycetes spores. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 22(2), 253–8.

Herpers, B. L., de Jongh, B. M., van der Zwaluw, K. et van Hannen, E. J. (2003). Real-time PCR assay targets the 23S-5S spacer for direct detection and differentiation of *Legionella spp.* and *Legionella pneumophila*. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(10), 4815-4816.
doi:10.1128/jcm.41.10.4815-4816.2003

Hintze, J. (2013). NCSS Statistical Software LLC. Kaysville, Utah, USA. Tiré de :
<http://www.ncss.com/Software/ncss/ncss-documentation/>.

HSE (Health and Safety Executive). (2011a). Health and safety in the new energy economy: Meeting the challenge of major change. A report of the HSE Board on 15 December 2010. Tiré de <http://www.hse.gov.uk/eet/new-energy-economy.pdf>

HSE. (2011b). Hazards Arising From the Conveyance and Use of Gas Non-Conventional Sources (NCS). RR 882. Tiré de <http://www.hse.gov.uk/research/rrhtm/rr882.htm>

HSE. (2014). Health and hazardous substances in waste and recycling. Series code:Waste27. Tiré de <http://www.hse.gov.uk/pubns/waste27.htm>

IFC (International Finance Corporation). (2007). Environmental, Health, and Safety Guidelines for Waste Management Facilities. Tiré de :
<http://www1.ifc.org/wps/wcm/connect/1cd72a00488557cfbdf4ff6a6515bb18/Final%2B-%2BWaste%2BManagement%2BFacilities.pdf?MOD=AJPERES&id=1323162538174>

ILO (International Labor Organization). (2012). Working towards sustainable development Opportunities for decent work and social inclusion in a green economy. Tiré de http://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---dgreports/---dcomm/---publ/documents/publication/wcms_181836.pdf

INERIS (Institut national de l'environnement industriel et des risques). (2010). Biogaz Safety and Régulation. Discussion document. Tiré de <http://www.eu-vri.eu/filedown.aspx?file=7032>

INERIS. (2012). Retour d'expérience relatif aux procédés de méthanisation et à leurs exploitations. Rapport d'étude DRA-12-117442-01013A.

INRS (Institut national de recherche et de sécurité) (2013). Endotoxines en milieu de travail, Fiche agents biologiques ED 4412. Tiré de <http://www.inrs.fr/dms/inrs/CataloguePapier/ED/TI-ED-4412/ed4412.pdf>

INRS. (2015). Prévenir les expositions professionnelles au plomb. Tiré de <http://www.inrs.fr/risques/plomb/ce-qu-il-faut-retenir.html>

IRENA (International Renewable Energy Agency). (2016). Renewable Energy and Jobs, Annual Review 2016. Tiré de http://www.se4all.org/sites/default/files/IRENA_RE_Jobs_Annual_Review_2016.pdf {dernière consultation : 1 août 2016}.

Joly, P., Falconnet, P. A., Andre, J., Weill, N., Reyrolle, M., Vandenesch, F, Jarraud, S. (2006). Quantitative real-time *Legionella* PCR for environmental water samples: Data interpretation. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(4), 2801-2808. doi:10.1128/aem.72.4.2801-2808.2006

Kim, Y.J. et Kim, J.M. (2015). Arsenic toxicity in male reproduction and development. *Development and Reproduction*, 19(4), 167–180. doi: 10.12717/DR.2015.19.4.167

Kox, L. F. F., Vanleeuwen, J., Knijper, S., Jansen, H. M. et Kolk, A. H. J. (1995). PCR assay based on DAN coding for 16s ribosomal-RNA for detection and identification of mycobacteria in clinical-samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(12), 3225-3233.

Lavoie, J. et Alie, R. (1997). Determining the characteristics to be considered from a worker health and safety standpoint in household waste sorting and composting plants. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 4, 123-128.

Lavoie, J. et Marchand, G. (1997). [Détermination des caractéristiques à considérer d'un point de vue de santé et sécurité des travailleurs dans les centres de compostage des déchets domestiques](#), (Rapport IRSST R-159). Montréal : Institut de recherche Roberts-Sauvé en santé et en sécurité du travail.

Lavoie, J., Cloutier, Y., Jaime, L. et Marchand, G. (2007). Guide sur la protection respiratoire contre les bioaérosols - Recommandations sur le choix et l'utilisation (Rapport IRSST RG-497). Tiré de <http://www.irsst.qc.ca/media/documents/pubirsst/rq-497.pdf>

Lavoie, J., Neesham-Grenon, E., Debia, M., Cloutier, Y. et Marchand, G. (2013). Développement d'un modèle de gestion graduée du risque pour le choix de la protection respiratoire contre les bioaérosols. Études et recherches (rapport IRSST R-766). Tiré de <https://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/R-766.pdf>

Lee, H.J. et Ryu, D. (2015). Advances in mycotoxin research: public health perspectives, *Journal of Food and Science*, 80(2), T2970-T2983. doi: 10.1111/1750-3841.13156

Li, X., Liu, X., Wua, S., Rasoola, A., Zuob,J., Lia,C. et Liua, G. (2014). Microbial diversity and community distribution in different functional zones of continuous aerobic-anaerobic coupled process for sludge in situ reduction, *Chemical Engineering Journal*, 257, 74–81. doi: 10.1016/j.cej.2014.07.028

Marchand, G., Bonifait, L., Veillette, M., Pépin, C., Beaudet, Y., Légaré, Cloutier, Y. (2017). [Évaluation des bioaérosols et des composés gazeux émis lors des compostages de résidus agroalimentaires et résidentiels](#). (Rapport IRRST R-960, 87 pages).

MDDEP. (2011a). Lignes directrices pour l'encadrement des activités de biométhanisation. Ministère du Développement durable de l'Environnement et des Parcs, Direction des matières résidentielles et des lieux contaminés, ISBN 978-2-550-62016-7, 57 Pages. Tiré de

<http://www.mddefp.gouv.qc.ca/programmes/biomethanisation/lignes-directrices-biomethanisation.pdf>

MDDELCC (Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques). (2016). Programme de traitement des matières organiques par biométhanisation et compostage. Tiré de <http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/programmes/biomethanisation/liste-projets.htm> {dernière consultation : 2 août 2016}.

Mirzaee, S.A., Nikaeen, M., Hajizadeh, Y., Nabavi B.F. et Hassanzadeh, A. (2015). Detection of *Legionella spp* by a nested-PCR assay in air samples of a wastewater treatment plant and downwind distances in Isfahan. *Advanced Biomedical Research*, 4, 48. Tiré de <http://www.advbiores.net/text.asp?2015/4/1/48/151540>

Moletta, R. (2002). Technologies du traitement des effluents par méthanisation. Extrait de « Gestion des problèmes environnementaux dans les industries agroalimentaires » R. Moletta coordonnateur, collection Tec Doc Lavoisier). Tiré de : <http://moletta-methanisation.fr/textes/technologies%20de%20la%20methanisation%20des%20effluents.pdf>

Mulhausen, J.R. et Damiano, J. (1998). A Strategy for assessing and managing occupational exposures. AIHA Press, Fairfax, VA, Stock No. 327-EA-98

Nadal, M., Inza, I., Schuhmacher, M., Figueras, M.J. et Domingo, J.L. (2009). Health Risks of the Occupational Exposure to Microbiological and Chemical Pollutants in a Municipal Waste Organic Treatment Plant, *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 212 (6), 661-669. doi: 10.1016/j.ijheh.2009.06.002

Orzi V, Cadena, E., D'Imporzano, G., Artola, A., Davoli, E., Crivelli, M. et Adani, F. (2010). Potential odour emission measurement in organic fraction of municipal solid waste during anaerobic digestion: Relationship with process and biological stability parameters, *Bioresource Technology*, 101(19), 7330–7337. doi: 10.1016/j.biortech.2010.04.098

Pearson, C., Littlewood, E., Douglas, P., Robertson, S., Gant, T.W. et Hansell, A.L. (2015). Exposures and health outcomes in relation to bioaerosol emissions from composting facilities: a systematic review of occupational and community studies, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 18:1, 43-69. doi:10.1080/10937404.2015.1009961.

Pike Research. (22 June 2012). Global Biogas Market to Nearly Double in Size to \$33 Billion by 2022. Press Release 22 June 2012. Tiré de <http://www.pikeresearch.com/newsroom/global-biogas-market-to-nearly-double-in-size-to-33-billion-by-2022>

Poirot P., Grosjean, J., Monta, N., Nicot, T., Zimmermann, Z., Duquenne, P., ...Piernot, C. (2010). Approche des risques chimiques et microbiologiques dans le secteur de compostage, Institut nationale de recherche et de sécurité (INRS), France, Hygiène et sécurité du travail, 4^e trimestre 2010, Document ND 236 -221. Tiré de <http://www.inrs.fr/dms/inrs/CataloguePapier/ND/TI-ND-2336/nd2336.pdf> (14 octobre 2016).

[Règlement sur la santé et la sécurité du travail](#) (RSST) S-2.1, r.19.01. (2013). Éditeur officiel du Québec, 270 p.

Rylander, R., Fogelmark, B. et Ewaldsson, B. (2008). Moldy environments and toxic pneumonitis, *Toxicology and Industrial Health*, 24 (3), 177–180. doi: 10.1177/0748233708093356.

Sahlström, L. (2003). A review of Survival of Pathogenic Bacteria in Organic Waste used in Biogas Plants, *Bioresource Technology*, 87(2), 161-166. doi: 10.1016/S0960-8524(02)00168-2

Sahlström, L., Bagge, E., Emmoth, E., Holmqvist, A., Danielsson-Tham, M.L, et Albiñ, A. (2008). A Laboratory study of Survival of Selected Microorganisms after Heat Treatment of Biowaste used in Biogas Plants, *Bioresource Technology*, 99(16), 7859-7865. doi:10.1016/j.biortech.2007.09.071

Salvi, O., Chaubet, C. et Evanno, S. (2012). Biogas: Opportunities to improve safety and safety regulation. Safety Engineering Series, Vol II, Issue 2, ISSN 1805-3238. Tiré de <http://www.degruyter.com/view/j/tvsbses.2012.7.issue-2/v10281-012-0010-0/v10281-012-0010-0.xml>

Schäfer, J., Kampfer, P. et Jackel, U. (2011). Detection of *Saccharopolyspora rectivirgula* by quantitative real-time PCR. *The Annals of Occupational Hygiene*, 55(6), 612-619. doi:10.1093/annhyg/mer018.

Schäfer, J., Klug, K., Van Kampen V. et Jäckel, U. (2013). Quantification of *Saccharopolyspora rectivirgula* in composting plants: assessment of the relevance of *S. rectivirgula*. *The Annals of occupational hygiene*, 57(7), 875-83. doi:10.1093/annhyg/met010.

Searl, A. et Crawford J. (2012). Review of Health Risks for Workers in the Waste and Recycling Industry. Tiré de [http://www.blmlaw.com/images/uploaded/news/File/Review_of_Health_Risks_for_workers_in_the_Waste_and_Recycling_Industry1%20\(2\).pdf](http://www.blmlaw.com/images/uploaded/news/File/Review_of_Health_Risks_for_workers_in_the_Waste_and_Recycling_Industry1%20(2).pdf)

Shade, A., Hogan, C.S., Klimowicz, A.K., Linske, M., McManus, P.S., Handelsman, J. (2012). Culturing captures members of the soil rare biosphere. *Environmental microbiology* 14 (9), 2247-52. doi:10.1111/j.1462.2920.2012.02817.x.

Slana, I., Pribylova, R., Kralova, A. et Pavlik, I. (2011). Persistence of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis at a Farm-Scale Biogas Plant Supplied with Manure from Paratuberculosis-Affected Dairy Cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(9), 3115-3119. doi: 10.1128/AEM.02407-10.

Smet, E., Van Langenhove, H. et De Bo, I. (1999). The emission of volatile compounds during the aerobic and the combined anaerobic/aerobic composting of biowaste. *Atmospheric Environment*, 33(8), 1295-1303. 10.1016/S1352-2310(98)00260-X

SUVA (en allemand *Schweizerische Unfallversicherungsanstalt* ou en français, Caisse nationale suisse d'assurance en cas d'accidents) (2014). Valeurs limites d'exposition aux postes de travail. SUVA, Protection de la santé au poste de travail, 3^e édition, Lausanne, Suisse, 146 pages.

Thaon, I., Reboux, G., Moulonguet, S. et Dalphin, J.C. (2006). Les pneumopathies d'hypersensibilité en milieu professionnel. *Revue des Maladies Respiratoires*, 23, 705-725. doi : 10.1019/2006191.

UNEP (United Nations Environment Programme). (2010). Waste and Climate Change Global Trends and Strategy Framework. Division of Technology, Industry and Economics International Environmental Technology Centre Osaka/Shiga. Tiré de <http://www.unep.or.jp/ietc/Publications/spc/Waste&ClimateChange/Waste&ClimateChange.pdf>

US EPA (United States Environmental Protection Agency). (2011). Common Safety Practices for On-Farm Anaerobic Digestion Systems. Tiré de https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-12/documents/safety_practices.pdf

Van Kampen, V., Hoffmeyer, F., Deckert, A., Kendzia, B., Casjens, S., Neumann, H.D., ... Büniger, J. (2016). Effects of bioaerosol exposure on respiratory health in compost workers: a 13-year follow-up study. *Occupational Environmental Medicine*, 73(12), 829-837. doi: 10.1136/oemed-2016-103692.

Viau, E., Levi-Schaffer, F. et Peccia, D. (2010). Respiratory Toxicity and Inflammatory response in human Bronchial Epithelial Cells Exposed to Biosolids, Animal Manure, and Agricultural Soil Particulate Matter, *Environmental Science and Technology*, 44(8), 3142-3148. doi: 10.1021/es902943w

Yergeau, E., Masson, L., Elias, M., Xiang, S., Madey, E., Huang, H., Beaudette, L.A. (2016). Comparison of methods to identify pathogens and associated virulence functional genes in biosolids from two different wastewater treatment facilities in Canada. *PLoS One*, 11 (4):e0153554. doi:10.1371/journal.pone.0153554

Zucker, B.A., Muller, W. (2004). Airborne Endotoxins and Airborne Gram-Negative bacteria in a residential Neighborhood. *Water Air and Soil pollution*, 158(1), 67-75. doi:10.1023/b:wate.0000044831.34371.99.

ANNEXE A :

A.I Liste des amorces et des sondes utilisées lors des analyses qPCR

Analyse	Gène cible	Amorce et sonde	Séquence en nucléotides (5'-3')	Référence
qPCR	ARN 16S (Bactéries totales)	EUBf	GGT AGT CYA YGC MST AAA CGT	Bach <i>et al.</i> , 2002
		EUBr	GAC ARC CAT GCA SCA CCT G	
		EUBp	FAM-TKC GCG TTG CDT CGA ATT AAW CCA C-IBFMFQ	
	ARN 16 S (<i>Legionella spp</i>)	LegF	CTA ATT GGC TGA TTG TCT TGA C	Herpers <i>et al.</i> , 2003
		LegR	GGC GAT GAC CTA CTT TCG	
		LegS	FAM - CGA ACT CAG AAG TGA AAC	
	ARN 16S (<i>Legionella pneumophila</i>)	Mip1-AF	GCA TTG GTG CCG ATT TGG	Joly <i>et al.</i> , 2006
		Mip2-AR	GYT TTG CCA TCA AAT CTT TCT GAA	
		MipS	FAM – CCA CTC ATA GCG TCT TGC ATG CCT TTA	
	ARN 16S (Mycobactéries)	pMyc14F	GRG RTA CTC GAG TGG CGA AC	Kox <i>et al.</i> , 1995
		pMyc7R	GGC CGG CTA CCC GTC GTC	
	ARN 16S (<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i>)	Sac-86f	TGT GGT GGG GTG GAT GAG T	Schäfer <i>et al.</i> , 2011
		Sac-183r	ACC ATG CGG CAG AAT GTC CT	

ANNEXE B :

B.I Corrélation linéaire entre les méthodes de culture et de qPCR

La figure 19 présente les corrélations linéaires obtenues pour les bactéries à chaque site d'échantillonnage (sauf les bruits de fond extérieurs) avec les méthodes de culture et de qPCR. La corrélation est statistiquement significative en été ($R^2 = 0,4383$, $p \leq 0,05$).

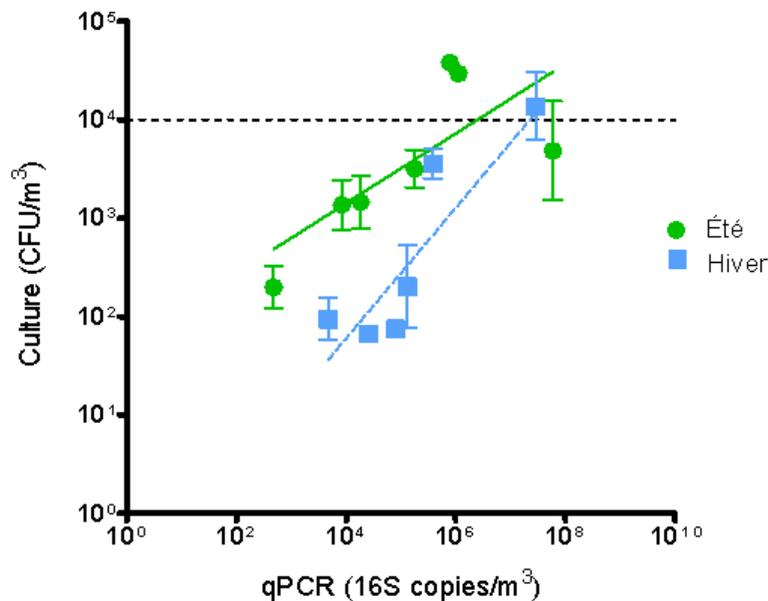


Figure 19 : Corrélation des bactéries totales en qPCR et en culture pour les usines A1, A2 et B, en été et en hiver.

Il y a toutefois une tendance en hiver pour un R^2 de 0,6620 ($p = 0,07$). La détection est également plus élevée avec la qPCR qu'avec la culture (jusqu'à 3 ordres de grandeur de plus), ce qui est normalement observé lorsque les comptes obtenus par culture sont comparés avec les résultats qPCR. La ligne noire en pointillé représente la concentration maximale en bactéries cultivables recommandée par l'IRSST de 10^4 UFC/m³ (Goyer *et al.*, 2001; Lavoie *et al.*, 2007). Trois sites ont dépassé cette valeur, deux en été et un en hiver.

B.II Analyse de la diversité bêta

Une matrice de distance contenant la mesure UniFrac a été créée. La méthode de calcul utilisée par cette mesure incorpore l'information sur le lien relatif des communautés microbiennes en calculant la distance phylogénétique entre les UTO observées dans chaque paire d'échantillons. C'est la version « weighted UniFrac » de la matrice, méthode à la fois qualitative et quantitative qui a été utilisée, car elle tient compte de l'abondance relative de chaque UTO (Dubuis *et al.*, 2017). La « unweighted UniFrac » ne tient en effet compte que de la présence ou non des microorganismes. Les valeurs numériques composant la matrice sont

ensuite transformées en coordonnées principales (CP). Une nouvelle matrice est ainsi générée contenant les axes des CP (colonnes) pour chaque échantillon (lignes). Finalement, chaque paire de CP est représentée dans le graphique afin de visualiser la relation entre les échantillons. Plus les points sont rapprochés, plus les échantillons se ressemblent. Chaque axe permet d'expliquer les variations observées en pourcentage. L'axe 1 permet d'expliquer le plus haut pourcentage de variations, suivi de l'axe 2, et ainsi de suite. Les figures suivantes permettent ainsi de visualiser les différences entre les communautés bactériennes selon les saisons (figure 20) et selon le type d'échantillonneurs (figure 21). Pour déterminer la significativité statistique, le test de signification UniFrac avec la méthode de randomisation de Monte-Carlo a été effectué. Une distribution des valeurs UniFrac a été obtenue et une *p-value* a été associée à chaque distance d'échantillon. De plus, la correction de Bonferroni a été utilisée pour corriger le seuil de significativité pour les comparaisons multiples.

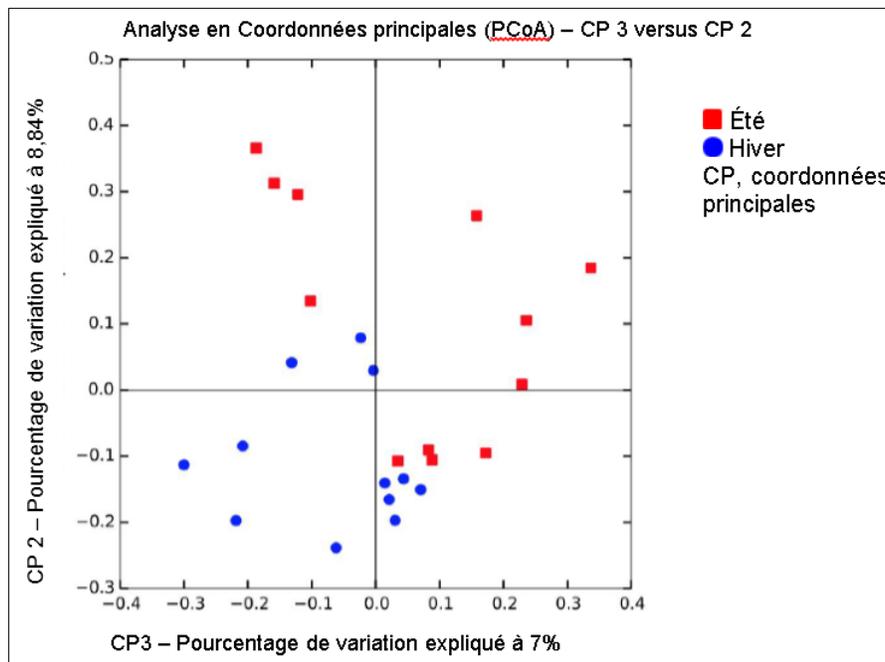


Figure 20 : Distances UniFrac entre les communautés bactériennes en fonction des saisons.

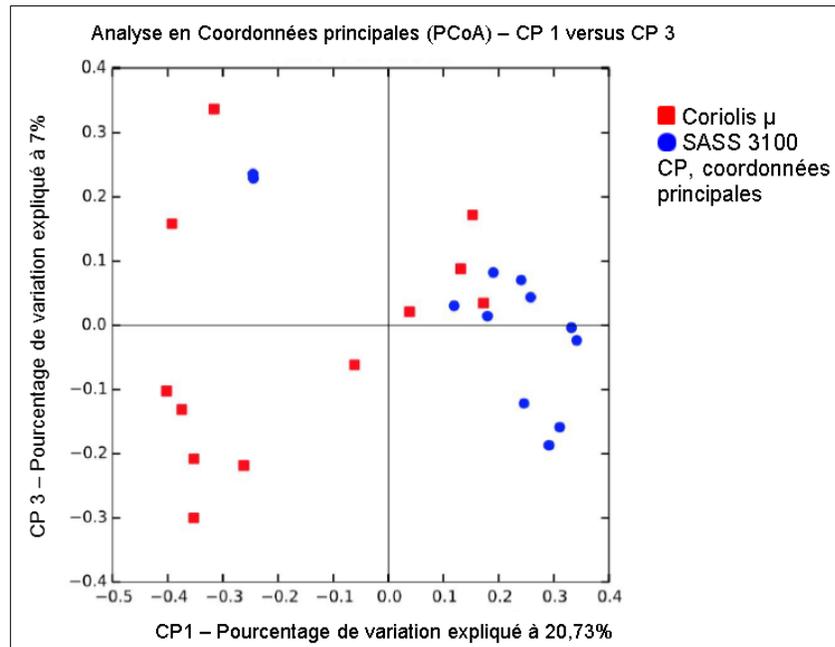


Figure 21 : Distances UniFrac entre les communautés bactériennes en fonction des échantillonneurs.

Sur les figures 20 et 21, les échantillons sont regroupés en deux ensembles. Les différences entre les communautés bactériennes ont été considérées significatives entre les saisons et entre les échantillonneurs ($p \leq 0,05$).

B.III Abondance relative des différents taxons

Les figures 22 et 23 illustrent l'abondance relative des genres ou des familles de bactéries trouvées dans l'air de toutes les usines selon la saison et selon l'échantillonneur, respectivement. L'identification taxonomique a été limitée à 20 genres pour les représentations graphiques.

L'identification par le genre n'ayant toutefois pas été systématiquement possible, les niveaux taxonomiques qui correspondent à la plus grande profondeur d'identification permise par la base de données utilisée (SILVA) ont été mis entre parenthèses. Il peut s'agir soit de la famille soit de l'ordre, dépendamment de l'identité des séquences en question dans les bases de données. Les genres spécifiques à une saison donnée ou à un échantillon donné sont indiqués en caractères gras dans les figures 22 et 23.

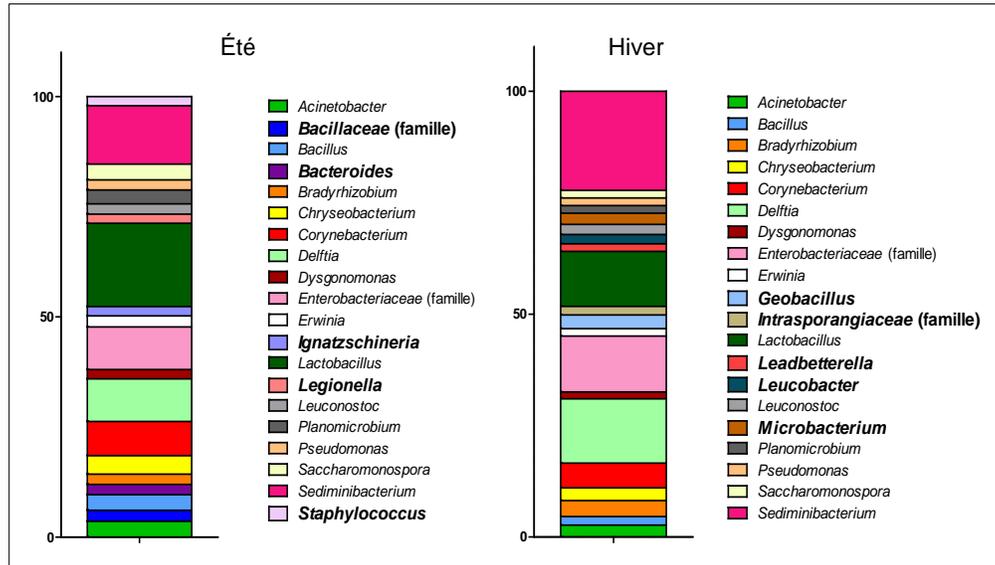


Figure 22 : Distribution taxonomique appartenant aux principaux genres bactériens trouvés dans l'air des usines A1, A2 et B, en été et en hiver.

Selon la figure 22, la majorité des genres et familles a été présente durant les deux saisons, bien qu'il y ait eu une différence de 5 sur 20. Il n'est pas exclu de les retrouver durant les deux saisons quoiqu'en plus faible quantité. Étant donné que l'identification taxonomique a été limitée à 20 genres pour les représentations graphiques, les proportions ont quelque peu varié.

Selon la figure 23, les genres *Delftia* et *Sediminibacterium*, ainsi que la famille des *Enterobacteriaceae*, ont été recueillis avec les deux échantillonneurs, et ce, pratiquement dans les mêmes proportions. Par contre, 10 genres sur 20 étaient différents entre les échantillonneurs; ils sont indiqués en gras dans le graphique. Encore une fois, cela ne signifie pas qu'ils étaient absents pour l'un ou l'autre des échantillonneurs. En ce sens, la combinaison des échantillonneurs semble fournir une plus grande diversité bactérienne. Toutefois, la diversité obtenue avec les prélèvements effectués à l'aide du SASS 3100 demeure nettement supérieure, comme indiqué aux figures 13 et 14. Cet échantillonneur serait donc plus approprié pour évaluer la diversité bactérienne.

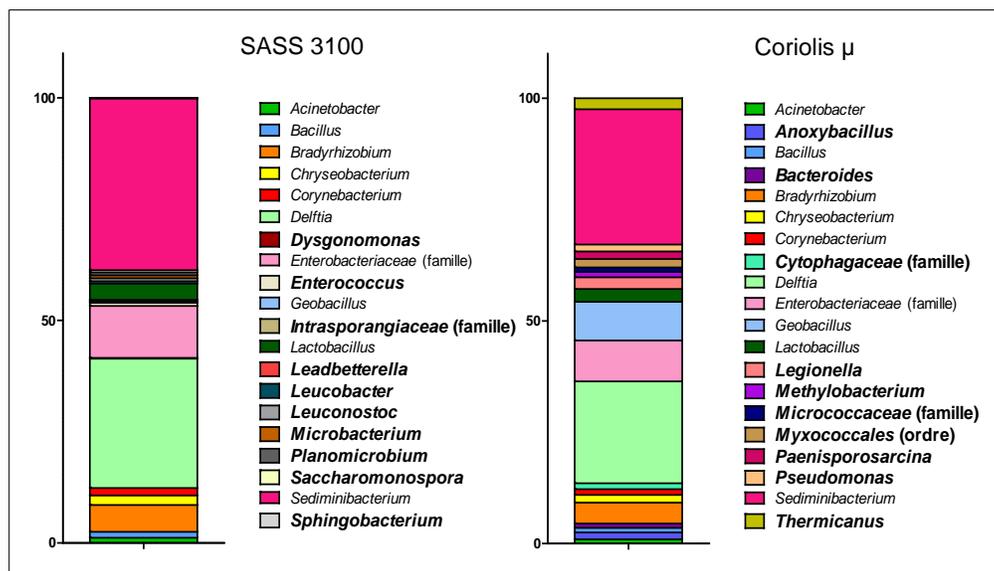


Figure 23 : Distribution taxonomique appartenant aux principaux genres bactériens trouvés dans l'air des usines A1, A2 et B pour les prélèvements effectués avec le SASS 3100 et avec le Coriolis μ .

La figure 24 permet de comparer l'abondance relative des genres de bactéries entre les usines A1 et A2, d'une part, et l'usine B, d'autre part, pour le Coriolis μ . Au total, 8 genres bactériens étaient spécifiques aux usines. Comme pour le SASS 3100 (figure 15), les 12 genres détectés à la fois dans l'usine A1 et A2 et dans l'usine B se sont retrouvés en différentes proportions.

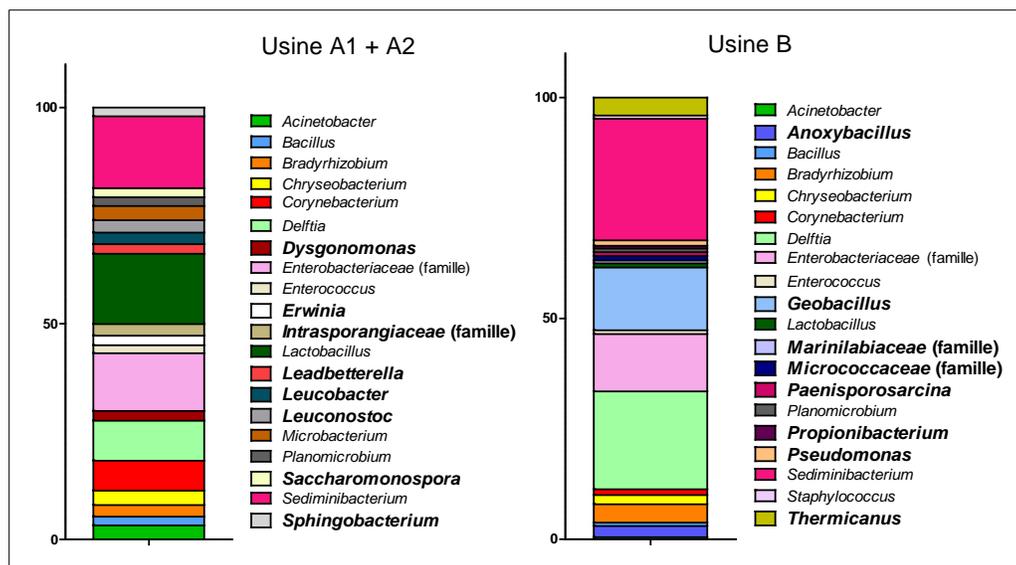


Figure 24 : Distribution taxonomique appartenant aux principaux genres bactériens trouvés dans l'air des usines A1, A2 et B pour les prélèvements effectués avec le Coriolis μ .

B.IV Analyse de la diversité fongique : abondance relative des différents taxons

La figure 25 indique un profil de diversité fongique distinct entre l'air des deux usines A1 et A2 et de l'usine B. La classe des Agaricomycètes semble avoir été majoritaire dans les usines A1 et A2 alors que dans l'usine B, la classe des Eurotiomycètes dominait. De plus, la différence dans le profil de diversité a également été notée lors de la comparaison de l'échantillonnage d'été avec celui d'hiver dans les usines A1 et A2. En effet, le pourcentage d'abondance des Agaricomycètes a été plus élevé comparativement aux autres classes de moisissures en été alors que celui des Eurotiomycètes a été plus important en hiver. En revanche, la classe des Eurotiomycètes dominait dans les deux échantillonnages de l'usine B. Les variations du portrait de diversité entre les usines A1 et A2, d'une part, et de l'usine B, d'autre part, pourraient être expliquées par l'influence du type de MOP traitées dans chacune d'elles.

Une étude sur la diversité fongique dans les usines de compostage a démontré une tendance des communautés fongiques à varier selon le type de la matière première compostée. En outre, l'environnement avoisinant les usines pourrait avoir joué un rôle important dans la composition fongique des bioaérosols, dépendamment des différentes sources potentielles de moisissures présentes. Cette hypothèse est d'autant plus fondée que lors des sessions d'échantillonnage d'été, l'air intérieur des usines n'était pas confiné. De plus, l'usine B était adjacente à un site d'enfouissement qui pourrait influencer les moisissures détectées dans l'usine.

L'impact écologique des Agaricomycètes se caractérise par une activité de décomposition de bois et de symbiote ectomycorrhizien. La présence d'une plus grande proportion de produits provenant de plantation agricole pourrait expliquer la détection de cette classe de moisissure. Par ailleurs, la classe des Eurotiomycètes est liée à des procédés tels que la fermentation utilisée pour la production alimentaire. De plus, plusieurs genres de moisissures faisant partie de cette classe sont des décomposeurs naturels et contribuent à l'altération des aliments. La présence de produits alimentaires naturels ou transformés (fruits, légumes, produits laitiers, etc.) pourrait expliquer la détection des Eurotiomycètes dans l'air des usines de biométhanisation.

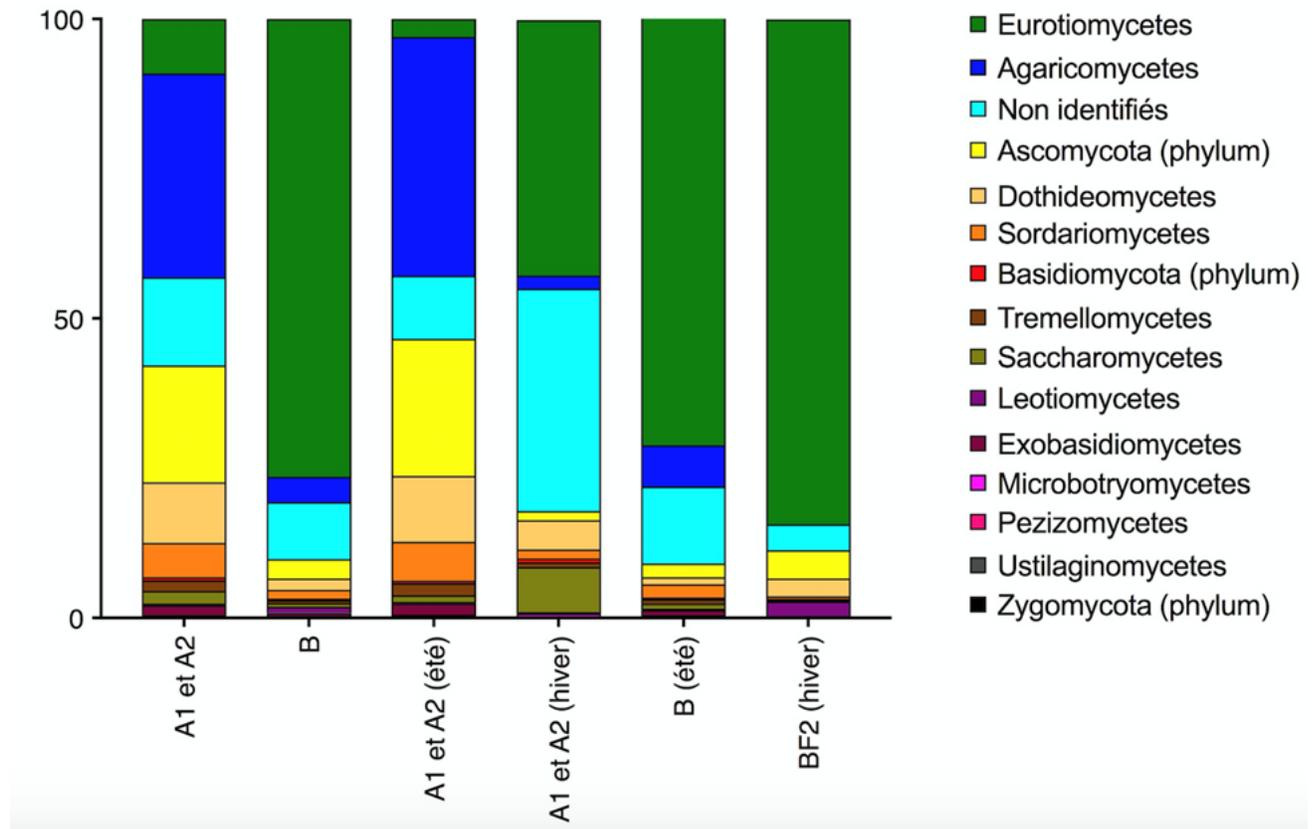


Figure 25 : Abondance relative des classes de moisissures retrouvées dans l'air des usines A1, A2 et B et leur distribution en été et en hiver.

Les différentes barres représentent les groupes à comparer : les usines A1 et A2, par opposition à l'usine B, ainsi que la période estivale, par opposition à la période hivernale pour les usines A1 et A2 et pour l'usine B.