

Titre: Identification de facteurs associés à l'émission et à la dispersion de bioaérosols dans les stations d'épuration des eaux usées
Title: Identification of factors associated with the emission and dispersion of bioaerosols in wastewater treatment plants

Auteur: Salim Khaddouma
Author:

Date: 2025

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Khaddouma, S. (2025). Identification de facteurs associés à l'émission et à la dispersion de bioaérosols dans les stations d'épuration des eaux usées [Mémoire de maîtrise, Polytechnique Montréal]. PolyPublie.
Citation: <https://publications.polymtl.ca/65830/>

Document en libre accès dans PolyPublie Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/65830/>
PolyPublie URL:

Directeurs de recherche: Émilie Bédard
Advisors:

Programme: Génie civil
Program:

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

**Identification de facteurs associés à l'émission et à la dispersion de bioaérosols
dans les stations d'épuration des eaux usées**

SALIM KHADDOUMA

Département des génies civil, géologique et des mines

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise ès sciences appliquées*

Génie civil

Avril 2025

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

Identification de facteurs associés à l'émission et à la dispersion de bioaérosols dans les stations d'épuration des eaux usées

présenté par **Salim KHADDOUMA**

en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise ès sciences appliquées*

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

Dominique CLAVEAU-MALLET, présidente

Émilie BÉDARD, membre et directrice de recherche

Caroline DUCHAINE, membre et codirectrice de recherche

Dwight HOUWELING, membre

DÉDICACE

À Émilie, pour tout, sa direction exemplaire, son soutien indéfectible, sa bienveillance...

À Arthur, pour tout ce qu'il m'a transmis, tout ce qu'il m'a montré et pour son aide précieuse.

À ma famille et à mes amis, pour leurs encouragements sans cesse renouvelés.

À Nader, Ta Houda et Khali Slah, que vos âmes reposent en paix.

REMERCIEMENTS

Je ne peux pas commencer ces remerciements sans les adresser, en premier lieu, à ma directrice d'études, Émilie. Émilie, tout ce que tu as fait pour moi au cours de ces deux années dépasse de loin ce que je pourrais exprimer ici. J'attendais ce moment pour te témoigner toute ma gratitude et ma profonde reconnaissance. Merci d'avoir rendu ces deux années plus douces. Grâce à ta personnalité bienveillante, optimiste, patiente, et à ton encadrement exceptionnel, tu as su transformer ce projet de maîtrise, et tout ce qui l'entourait, en une expérience enrichissante et motivante. Sans ta direction, tes suivis attentifs, nos discussions, réunions, et échanges réguliers, rien de tout cela n'aurait été possible. Merci pour ta patience et pour m'avoir apaisé dans les moments les plus difficiles. Tu as été un véritable pilier, un soutien constant, une référence à la fois humaine et scientifique. Tu es une personne influente, attentionnée envers tes étudiants tant sur le plan personnel que professionnel. Les activités d'équipe vont certainement me manquer. Je termine cette étape de mon parcours avec une multitude d'apprentissages, et je peux dire que j'ai beaucoup appris de toi, Émilie, sur de nombreux plans. Merci pour l'opportunité et merci pour la confiance.

Un immense merci à Arthur, qui m'a accompagné tout au long de ces deux années de maîtrise. Ton énergie et ton implication m'ont marqué. Une grande partie de la réussite de ce projet te revient. Ce fut un réel plaisir de travailler à tes côtés, de vivre avec toi les journées d'échantillonnage sur le terrain, les analyses au laboratoire, et toutes nos discussions, aussi sérieuses que légères. Tout cela va certainement me manquer. Je te souhaite une très belle continuation dans ton doctorat, je n'ai aucun doute que tu iras très loin. Merci également à Caroline, ma co-directrice, à Marc et à Émie pour votre contribution précieuse à ce projet. Avoir pu travailler avec vous sur un sujet lié aux bioaérosols a été à la fois stimulant et rassurant. Je tiens à remercier toute l'équipe d'Émilie ainsi que les étudiants du groupe LGE pour leur accueil et leurs échanges. Un merci tout particulier à Mélanie et Gabriel, à qui je dois une profonde reconnaissance. Vous avez joué un rôle essentiel dans mon parcours. Merci pour vos conseils, votre rigueur, votre disponibilité, et pour avoir toujours trouvé des solutions aux difficultés rencontrées. Merci aussi pour avoir assuré notre sécurité et répondre à mes questions. Je remercie également les techniciens de la chaire pour leur aide précieuse.

Merci à ma famille, ma mère, mon père, mes deux sœurs, et à mes amis, en Tunisie comme au Canada. Votre présence, même à distance, a été d'un grand réconfort et a rendu ces deux années bien plus légères.

Je remercie sincèrement les gestionnaires et opérateurs des stations partenaires de ce projet pour leur collaboration.

Enfin, un grand merci à toutes celles et ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à ce projet ou à mon parcours, même par quelques mots. Je vous resterai toujours reconnaissant.

RÉSUMÉ

Les stations d'épuration des eaux usées sont reconnues comme des sources importantes de bioaérosols, générés à différentes étapes du traitement par des mécanismes tels que l'agitation ou le brassage des eaux, l'aération des procédés, les chutes d'eaux ou de boues, ou encore la formation de vapeur et de microgouttelettes. Ces bioaérosols peuvent se disperser dans l'environnement et poser un risque pour la santé, en particulier pour les travailleurs exposés. Plusieurs études ont mis en évidence une prévalence accrue de symptômes et de maladies respiratoires, gastro-intestinales ou systémiques parmi ces travailleurs, regroupées sous le terme de « syndrome des travailleurs des stations d'épuration ».

Dans ce contexte, ce travail visait à développer des indicateurs qualitatifs permettant d'estimer les niveaux de bioaérosols en fonction des caractéristiques des procédés de traitement et des conditions environnementales, ainsi qu'à identifier les facteurs favorisant ou limitant leur dispersion. L'approche repose sur un système de notation simple et applicable sur le terrain, destiné à anticiper le risque d'exposition sans recourir systématiquement à des analyses de laboratoire longues et coûteuses.

Pour répondre à ces objectifs, une campagne d'échantillonnage a été réalisée durant l'été 2023 dans 15 stations d'épuration au Québec. Un total de 83 échantillons d'air et 84 échantillons d'eau, de boues, de filtrats de boues ont été prélevés à 4 à 6 points par station, identifiés comme potentiellement générateurs de bioaérosols. Les prélèvements d'air (18 m^3 par point) ont été réalisés à l'aide d'un SASS 3100, et les prélèvements d'eau ou de boues par perche ou chaudière. L'humidité relative a été mesurée simultanément. Après concentration des échantillons et extraction de l'ADN, cinq cibles microbiologiques (*bactéries totales*, *Mycobactéries non-tuberculeuses*, *Legionella species*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*) ont été quantifiées par méthode d'analyses biomoléculaires, la réaction quantitative de polymérase en chaîne (qPCR). L'évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dispersion a été réalisée par l'équipe d'échantillonnage, puis validée avec les travailleurs et gestionnaires des stations d'épuration.

Les résultats montrent que les cinq cibles microbiologiques sont présentes à la fois dans l'eau et dans l'air. Des corrélations significatives élevées ont été observées entre les *bactéries totales* et les autres cibles, suggérant leur potentiel comme indicateur pour la surveillance microbiologique. Des

corrélations significatives ont également été relevées avec les paramètres physico-chimiques dans l'eau (MES, MVES, turbidité), indiquant que ces derniers peuvent être utilisés comme indicateurs indirects des concentrations bactériennes dans les eaux usées. Dans l'air, les concentrations maximales atteignaient 10^5 CG/m³ pour les *bactéries totales*. Les cibles microbiologiques étaient fortement corrélées entre elles ($r = 0,68$ à $0,84$), confirmant qu'une seule cible pourrait suffire pour estimer la présence des autres. Toutefois, les concentrations varient selon les étapes de traitement, avec une augmentation notable au niveau des procédés de traitement des boues. De plus, les procédés de la filière solide présentaient des concentrations plus élevées que ceux de la filière liquide.

L'étude révèle aussi que l'humidité relative est positivement corrélée aux concentrations bactériennes dans l'air, ce qui en fait un indicateur simple et rapide du niveau de bioaérosols. La superficie des bassins et leur configuration spatiale influencent également les concentrations, les bassins plus vastes et non confinés favorisant l'aérosolisation. À l'inverse, les procédés situés à l'extérieur ou soumis à une bonne ventilation présentent des concentrations plus faibles. Ces observations sont appuyées par des corrélations négatives entre les vitesses de vent et les concentrations en *bactéries totales* et *Legionella spp.*

Par ailleurs, l'absence de corrélation directe entre les concentrations dans l'eau et dans l'air souligne la complexité des phénomènes d'aérosolisation et de dilution, ainsi que l'influence de nombreux facteurs environnementaux. Une grille d'évaluation se basant sur des critères qualitatifs a été définie pour évaluer le niveau d'aérosolisation par procédé et l'effet de dilution dans la pièce. Les résultats d'évaluation ont été discutés et révisés avec les opérateurs et gestionnaires de chacune des stations. La note attribuée a ensuite été analysée par rapport aux concentrations bactériennes réellement mesurées dans l'air des différents procédés échantillonnés. L'outil qualitatif développé permet d'identifier les situations à risque et d'estimer un potentiel d'exposition à partir d'observations terrain simples et reproductibles.

Cette étude a permis de mieux comprendre les mécanismes d'émission et de dispersion des bioaérosols dans les stations d'épuration, d'identifier des indicateurs utiles pour la surveillance et de proposer des recommandations visant à réduire le risque d'exposition des travailleurs. Ces recommandations portent notamment sur l'évaluation régulière de la ventilation, la réduction des

surfaces de bassins, le confinement des procédés, la mesure quotidienne de l'humidité relative, et le port d'équipements de protection respiratoire dans les zones à risque.

ABSTRACT

Wastewater treatment plants are recognized as significant sources of bioaerosols, generated at various stages of the treatment process through mechanisms such as surface water agitation or mixing, process aeration, water or sludge splashing, and the formation of vapor or microdroplets. These bioaerosols can disperse into the environment and pose health risks, particularly to exposed workers. Several studies have highlighted a higher prevalence of respiratory, gastrointestinal, and systemic symptoms and diseases among these workers, commonly referred to as "Sewage workers' syndrome."

In this context, the objective of this study was to develop qualitative indicators to estimate bioaerosol levels based on treatment process characteristics and associated environmental factors, as well as to identify the factors that promote or limit their dispersion. The approach is based on a simple and field-applicable scoring system designed to anticipate exposure risks without systematically relying on lengthy and costly laboratory analyses.

To achieve these objectives, a sampling campaign was conducted during the summer of 2023 in 15 wastewater treatment plants across Quebec. A total of 83 air samples and 84 samples of water, sludge, or sludge filtrates were collected from 4 to 6 locations per plant, identified as potentially significant sources of bioaerosols. Air samples (18 m^3 per location) were collected using a SASS 3100, while water and sludge samples were taken using a pole or bucket, depending on accessibility. Relative humidity was measured simultaneously. After sample concentration and DNA extraction, five microbiological targets (*Total bacteria, NTM, Legionella species., Escherichia coli, and Pseudomonas aeruginosa*) were quantified by qPCR. The evaluation of aerosolization factors was conducted by the sampling team and later validated with plant workers and managers.

The results show that all five microbiological targets were detected in both water and air. Strong correlations were observed between total bacteria and the other targets in wastewater, suggesting their potential as a single indicator for microbiological monitoring. Significant correlations were also observed with water physico-chemical parameters (TSS, VSS, and turbidity), indicating their utility as indirect indicators of bacterial concentrations in wastewater. In the air, maximum concentrations reached up to 10^5 CG/m^3 for total bacteria. The microbial targets were also strongly correlated with each other ($r = 0,74$ to $0,82$), confirming that monitoring a single target could

suffice to estimate the presence of the others. However, concentrations varied depending on the treatment stage, with a notable increase in the sludge treatment processes. Furthermore, solid-line processes exhibited higher airborne concentrations than those in the liquid line.

The study also revealed a significant positive correlation between relative humidity and airborne bacterial concentrations, highlighting humidity as a simple and rapid indicator of bioaerosol levels. Basin surface area and spatial configuration also influenced concentrations, with larger and non-confined basins favoring aerosolization. Conversely, processes located outdoors or with good ventilation exhibited lower concentrations. These observations are supported by negative correlations between wind speed and concentrations of *total bacteria* and *Legionella species*.

Moreover, the absence of direct correlation between bacterial concentrations in water and in air underscores the complexity of aerosolization and dilution phenomena, as well as the influence of numerous environmental factors. An assessment grid based on qualitative criteria was developed to evaluate the level of aerosolization for each process and the dilution effect within the room. The evaluation results were discussed and revised with the operators and managers of each plant. The assigned score was then analyzed in relation to the bacterial concentrations actually measured in the air of the various sampled processes. The qualitative tool developed in this study allows for the identification of risk-prone situations and the estimation of exposure potential based on simple, reproducible field observations.

This study provided a better understanding of the mechanisms governing the emission and dispersion of bioaerosols in wastewater treatment plants, identified useful monitoring indicators, and proposed recommendations aimed at reducing worker exposure risks. These include regular assessment of ventilation systems, reduction of basin surface areas, confinement of certain processes, daily monitoring of relative humidity, and the use of personal protective equipment in high-risk areas.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE	III
REMERCIEMENTS	IV
RÉSUMÉ	VI
ABSTRACT	IX
LISTE DES TABLEAUX.....	XIV
LISTE DES FIGURES	XV
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XIX
LISTE DES ANNEXES.....	XXII
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Mise en contexte.....	1
1.2 Objectifs	3
1.3 Structure du mémoire	4
CHAPITRE 2 REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	5
2.1 Les stations d'épuration des eaux usées : caractéristiques et procédés de traitement.....	5
2.1.1 Caractérisation des eaux usées à traiter et efficacité de traitement	5
2.1.2 Les procédés de traitement des eaux usées (Filière liquide)	7
2.1.3 Traitement des boues (Filière solide)	10
2.2 Les bioaérosols dans les stations d'épuration des eaux usées	11
2.2.1 Caractéristiques des bioaérosols.....	11
2.2.2 Génération des bioaérosols dans les stations d'épuration des eaux usées.....	13
2.3 Impacts des bioaérosols des stations d'épuration sur la santé.....	15
2.4 Études de bioaérosols dans les stations d'épuration des eaux usées	19
2.4.1 Échantillonnage des bioaérosols	20

2.4.2	Détection des bioaérosols	24
2.5	Bactéries d'intérêt et émergentes dans les bioaérosols des STEU	30
2.5.1	Aérosolisation des bactéries d'intérêt	33
2.6	Les facteurs qui influencent les concentrations des bioaérosols dans l'air	33
2.6.1	Facteurs environnementaux.....	33
2.6.2	Effet des composants chimiques sur les bioaérosols.....	35
2.7	Mesures de contrôle des bioaérosols dans les stations d'épuration des eaux usées.....	35
2.7.1	Optimisation des systèmes d'aération	36
2.7.2	Ventilation	37
2.7.3	Confinement des unités de traitement et autres stratégies de contrôle.....	38
2.7.4	Technologies de filtration et de purification de l'air	39
2.8	Normes et réglementations.....	40
CHAPITRE 3	MÉTHODOLOGIES SUIVIES POUR L'ENSEMBLE DU MÉMOIRE DE RECHERCHE	42
3.1	Déroulement du projet.....	42
3.1.1	Phase I : Échantillonnage des bioaérosols dans quinze stations d'épuration des eaux usées au Québec	42
3.1.2	Phase 2: Suivi temporel de six stations d'épuration.....	46
3.2	Échantillonnage de l'air et de l'eau.....	47
3.2.1	Échantillonnage de l'air	47
3.2.2	Échantillonnage des eaux usées	48
3.2.3	Caractérisation physico-chimique des eaux usées	48
3.2.4	Traitements des échantillons d'air et d'eaux usées : Concentration et quantification.	49
3.3	Analyse qualitative et semi-qualitative	51

3.4	Analyses statistiques	54
CHAPITRE 4	RÉSULTATS ET DISCUSSION	55
4.1	Bactéries dans les eaux usées	55
4.1.1	Corrélation entre les bactéries et les paramètres physico-chimiques	61
4.2	Bactéries dans l'air	63
4.2.1	Corrélations entre les bactéries dans l'air	65
4.2.2	Analyse des concentrations des <i>bactéries totales</i> et des <i>mycobactéries non tuberculeuses (NTM)</i> dans l'air aux différentes étapes du traitement	67
4.2.3	Impact des facteurs environnementaux sur les concentrations dans l'air	71
4.3	Corrélation entre les concentrations dans l'eau et dans l'air.....	76
4.4	Adéquation entre les concentrations bactériennes mesurées dans l'air et les résultats de l'analyse qualitative.....	77
4.4.1	Aérosolisation.....	81
4.4.2	Dilution des bioaérosols	84
4.5	Analyse en composantes principales (ACP) :	85
4.6	Notes des facteurs et paramètres de la grille d'évaluation et concentrations de bactéries totales dans l'air	87
CHAPITRE 5	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	89
RÉFÉRENCES	94
ANNEXES	117

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 Principaux bactéries et virus pathogènes préoccupants dans les eaux usées municipales et maladies ou symptômes associés. Tiré, adapté et traduit de (Chahal et al., 2016).....	18
Tableau 3.1 Caractéristiques des 15 stations d'épurations étudiées.....	45
Tableau 3.2 Caractéristiques et informations sur les qPCR des différentes cibles microbiologiques	50
Tableau A.1 Calendrier d'échantillonnage : Phase 1 : Été 2023.....	117
Tableau B.1. Paramètres physicochimiques, les concentrations des cibles microbiologiques dans les eaux usées et les mesures de l'humidité relative dans l'air	118
Tableau B.2. Coefficients de corrélation entre les cibles microbiologiques et les paramètres physico-chimiques.....	123
Tableau C.1 Coefficients de corrélation entre les concentrations des différentes cibles microbiologiques dans l'air et les notations des facteurs d'aérosolisation ainsi que le paramètre Aérosolisation.....	124
Tableau C.2 Coefficients de corrélation entre les concentrations des différentes cibles microbiologiques dans l'air et les notations des facteurs de dilution ainsi que le paramètre Dilution	125

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 Schéma d'une station d'épuration des eaux usées illustrant les principales étapes du traitement. Les flèches marronnes indiquent le parcours des boues tandis que les flèches bleues représentent les différences étapes du traitement des eaux usées	7
Figure 4.1 Concentrations des microorganismes ciblés dans les échantillons d'eaux usées, de boues, de filtrats de boues et/ou de média de biofiltres, prélevés à différents procédés des 15 stations étudiées	55
Figure 4.2 Heatmap des correlations entre les <i>bactéries totales</i> , <i>mycobactéries non tuberculeuses (NTM)</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Legionella spp.</i> dans les eaux usées des 15 stations d'épuration (n = 77)	57
Figure 4.3 Évolution des concentrations microbiennes aux différentes étapes du traitement des eaux usées de 9 STEU. Les cibles analysées comprennent <i>bactéries totales</i> (16S rRNA) (A), les <i>mycobactéries non tuberculeuses (NTM)</i> (B), <i>Legionella spp.</i> (C), <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) (D) et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (E). Pour l'ensemble des cinq cibles étudiées, les nombres d'échantillons analysés étaient les suivants : vis d'Archimède (n = 3), prétraitement (n = 14), traitement primaire et secondaire (n = 13), traitement tertiaire (n = 4) et traitement des boues (n = 5)	59
Figure 4.4 Corrélation entre les matières en suspension (MES) (A), les matières volatiles en suspension (MVES) (B), la turbidité (C) et le pH (D) dans les eaux usées et les <i>bactéries totales</i>	62
Figure 4.5 Comparaison des concentrations de <i>bactéries totales</i> , de <i>mycobactéries non tuberculeuses (NTM)</i> , de <i>Legionella spp.</i> , d' <i>Escherichia coli</i> et de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les échantillons d'air prélevés. Les lignes horizontales indiquent les concentrations des cibles microbiologiques dans les contrôles intérieurs : la ligne noire correspond aux <i>bactéries totales</i> , la ligne bleue aux <i>NTM</i> et la ligne verte à <i>E. coli</i> . <i>Legionella spp</i> et <i>P. aeruginosa</i> n'ont pas été détectées dans l'air des contrôles intérieurs.....	64
Figure 4.6 Heatmap des correlations entre les <i>bactéries totales</i> , <i>mycobactéries non tuberculeuses (NTM)</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Legionella spp.</i> dans l'air des 15 stations d'épuration	66

Figure 4.7 Évolution des concentrations des <i>bactéries totales</i> (A) et des <i>mycobactéries non tuberculeuses (NTM)</i> (B) dans l'air aux différentes étapes du traitement des eaux usées.....	67
Figure 4.8 Histogrammes comparant les concentrations des différentes cibles microbiologiques, dans l'air, entre la filière solide et la filière liquide (* : $0,01 < p \leq 0,05$; ** : $0,001 < p \leq 0,01$)	70
Figure 4.9 Corrélation entre l'humidité relative et les <i>bactéries totales</i> (A), <i>NTM</i> (B), <i>Legionella spp.</i> (C), <i>E. coli</i> (D) et <i>P. aeruginosa</i> (E).....	72
Figure 4.10 Relations entre les superficies des bassins et les concentrations des (A) <i>bactéries totales</i> ($n = 41$), (B) <i>mycobactéries non tuberculeuses (NTM)</i> ($n = 42$), (C) <i>Legionella spp</i> (D) ($n = 29$) et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ($n = 47$) dans l'air.....	74
Figure 4.11 Comparaison des concentrations des cibles microbiologiques dans l'air entre les procédés situés à l'intérieur et à l'extérieur des stations d'épuration des eaux usées (* : $0,01 < p \leq 0,05$; ** : $0,001 < p \leq 0,01$).....	75
Figure 4.12 Corrélation entre les différentes cibles dans l'air et l'eau	77
Figure 4.13 Heatmap des moyennes des notes de l'analyse qualitative au sein des 15 stations étudiées: paramètre aérosolisation (moyenne des quatre facteurs d'aérosolisation : vapeur/microgouttelettes, brassage/mélange, aération et chutes d'eaux ou de déchets ou de boues), paramètre dilution (moyenne des deux facteurs de dilution des bioaérosols : configuration spatiale, ventilation), et paramètre potentiel d'exposition (moyenne des paramètres aérosolisation et dilution).	78
Figure 4.14 Heatmap des potentiels d'exposition des différents procédés investiguées au sein des 15 stations étudiées. Seulement les procédés échantillonnés 3 fois ou plus ont été analysés dans cette section.....	80
Figure 4.15 Heatmap des concentrations des cibles microbiologiques dans l'air et les notations des facteurs du paramètre d'aérosolisation : Vapeur/Microgouttelettes, Brassage/Mélange, Aération et Chutes (* : $0,01 < p \leq 0,05$; ** : $0,001 < p \leq 0,01$; *** : $p \leq 0,001$).....	82
Figure 4.16 Heatmap des concentrations des cibles microbiologiques dans l'air et les notes attribuées pour les facteurs configuration spatiale de la pièce et ventilation, utilisés pour calculer le paramètre de dilution (* : $0,01 < p \leq 0,05$).....	84

Figure 4.17 Analyse en composantes principales (ACP) entre les différents facteurs qui influencent les concentrations des différentes cibles microbiologiques dans l'air (n = 55). Pour cette analyse, seulement les procédés à l'intérieur et ouvert ont été étudiés.....	86
Figure 4.18 Concentrations des <i>bactéries totales</i> et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les dégrilleurs échantillonnés dans les 13 stations. Deux dégrilleurs ont été étudiés à la station 4 : 4.1 - Dégrilleur de traitement des affluents réguliers ; 4.2 - dégrilleur de traitement des eaux industrielles.....	88
Figure B.1 Corrélation entre les paramètres physico-chimiques et <i>NTM</i> dans les eaux usées ...	119
Figure B.2 Corrélation entre les paramètres physico-chimiques et <i>Legionella spp</i> dans les eaux usées	120
Figure B.3 Corrélation entre les paramètres physico-chimiques et <i>E. coli</i> dans les eaux usées .	121
Figure B.4 Corrélation entre les paramètres physico-chimiques et <i>P. aeruginosa</i> dans les eaux usées	122
Figure C.1. Concentrations des <i>bactéries totales</i> et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les dessableurs échantillonnés dans différentes stations	125
Figure C.2 Concentrations des <i>bactéries totales</i> et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les bassins de boues actives échantillonnés dans différentes stations	126
Figure C.3 Concentrations des <i>bactéries totales</i> et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les décanteurs échantillonnés dans différentes stations.....	126
Figure C.4 Concentrations des <i>bactéries totales</i> et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les procédés de traitement par les ultraviolets échantillonnés dans différentes stations	127
Figure C.5 Concentrations des <i>bactéries totales</i> et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les biofiltres en fonction normal échantillonnés dans différentes stations	128
Figure C.6 Concentrations des <i>bactéries totales</i> et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les biofiltres en lavage échantillonnés dans différentes stations	129
Figure C.7 Concentrations des <i>bactéries totales</i> et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les mélangeurs rapides échantillonnés dans différentes stations	129

Figure C.8 Concentrations des *bactéries totales* et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les vis d'Archimède échantillonnés dans différentes stations 130

Figure C.9 Concentrations des *bactéries totales* et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les filtres presses à boues échantillonnés dans différentes stations 131

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

16S / ARNr 16S : ARN ribosomique 16S bactérien

AAE : Alvéolite allergique extrinsèque

ACGIH : American Conference of Governmental Industrial Hygienists

ADN : Acide désoxyribonucléique

Al : Aluminium

Ca²⁺ : Ion calcium

CFU : Colony Forming Units (Unités formant colonies)

CG : Copies génomiques

Cl⁻ : Ion chlorure

cm³ : Centimètre cube

CO₂ : Dioxyde de carbone

COT : Carbone organique total

d_{ae} : Diamètre aérodynamique équivalent

E. coli : *Escherichia coli*

Fe : Fer

g : Gramme

HEPA : High Efficiency Particulate Air (Filtre à haute efficacité pour les particules aériennes)

HR : Humidité relative

IRSST : Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail

K / K⁺ : Potassium / Ion potassium

Wh : Watt-heure

L : Litre

Li : Lithium

m² : Mètre carré

m³ : Mètre cube

M : Molaire

MDR : Multi-Drug Resistant (résistant à plusieurs antibiotiques)

Mg²⁺ : Ion magnésium

Min : Minute

MES : Matières en suspension

mg : Milligramme

mL : Millilitre

Mm : Millimolaire

MELCCFP : Ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les changements climatiques, de la Faune et des Parcs

MVES : Matières volatiles en suspension

Na⁺ : Ion sodium

NH₄⁺ : Ion ammonium

nM : Nanomolaire

Nm : Nanomètre

NO₃⁻ : Ion nitrate

NTM : Non-Tuberculous Mycobacteria (*Mycobactéries non tuberculeuses*)

OTUs : Operational Taxonomic Units (Unités taxonomiques opérationnelles)

P : Phosphore

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

PM / PM₁₀ / PM_{2,5} : Particules en suspension / inférieures à 10 µm / inférieures à 2,5 µm

% : Pourcentage

qPCR : Quantitative Polymerase Chain Reaction (Réaction quantitative en chaîne par polymérase)

Rb : Rubidium

ROMAEU : Règlement sur les ouvrages municipaux d'assainissement des eaux usées

S : Soufre

Si : Silicium

SO_4^{2-} : Ion sulfate

Spp. : Species (Espèces)

STEPO : Syndrome toxique d'exposition aux poussières organiques

STEU : Station de traitement des eaux usées

SYBR Green I : Colorant fluorescent utilisé en qPCR

TaqMan : Sonde fluorogénique utilisée en qPCR

Ti : Titane

U : Uranium

UV : Ultraviolet

V : Vanadium

VBNC : Viable But Non-Culturable (Viables mais non cultivables)

vs : Versus (Comparé à)

WHO : World Health Organization (Organisation mondiale de la santé)

Zn : Zinc

μL : Microlitre

μm : Micromètre

ρ_0 : Densité de l'eau

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE A Les campagnes d'échantillonnage de la phase 1.....	117
ANNEXE B Paramètres physico-chimiques et les concentrations bactériennes	118
ANNEXE C Les concentrations des bactéries totales et les notations des facteurs qualitatifs..	124

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 Mise en contexte

Les stations d'épuration des eaux usées sont reconnues comme des sources de bioaérosols, comme l'ont démontré plusieurs études (Han, Yang, Yan, et al., 2020; Kataki et al., 2022; Mbareche et al., 2022; Singh et al., 2021; Wang, Yanjie, Liu, et al., 2023; Yang, Tang et al., 2022). Ces bioaérosols, principalement issus des eaux usées, sont dispersés dans l'air au cours des différentes étapes du traitement (Liu, M., Nobu, et al., 2020; Pascual et al., 2003a), avec des concentrations particulièrement élevées lors du prétraitement et du traitement des boues (Brandi et al., 2000; Sanchez-Monedero et al., 2008). Ces bioaérosols peuvent également être détectés dans les zones environnantes avoisinantes (Li, J. et al., 2016; Lou, M. M. et al., 2021b), confirmant ainsi leur capacité à être transportés sur des distances allant de quelques mètres à 10 km (Li, J. et al., 2016; Vishwakarma et al., 2024; Wang, Yanjie, Yang, et al., 2023).

Les bioaérosols sont des aérosols composés de microorganismes, dont le diamètre aérodynamique varie de 0,01 à 100 µm (Bragoszewska & Pawlak, 2021). Ces bioaérosols peuvent diminuer en taille, passant de gouttelettes à des microgouttelettes, puis à des noyaux de gouttelettes (perte d'une quantité d'eau), augmentant ainsi leur capacité de pénétration profonde dans le système respiratoire (Bourouiba, 2020). La diminution de la taille des bioaérosols accroît leur potentiel de dépôt profond dans les voies respiratoires (Hinds, William C., 1999). Deux voies principales d'exposition ont été identifiées : le contact cutané direct et l'inhalation (Li, Y. et al., 2013). Selon la taille des bioaérosols, leur site de dépôt dans l'appareil respiratoire varie, tout comme les risques sanitaires qui y sont associés. Les particules d'un diamètre aérodynamique inférieur à 10 µm présentent une probabilité accrue de se déposer dans les régions extrathoraciques et trachéobronchiques supérieures, tandis que les particules plus fines ($PM < 2,5 \mu m$) ont une probabilité plus élevée de pénétrer et de se déposer plus profondément dans les régions trachéobronchiques et alvéolaires (Brook et al., 2004).

L'aérosolisation des microorganismes présents dans les eaux usées est une source d'exposition pour les travailleurs des stations (Hotel, 2015; Madsen et al., 2023). Plusieurs études ont rapporté une exposition particulièrement élevée des travailleurs aux bioaérosols dans les STEU comparativement à une population contrôle (Albatanony & El-Shafie, 2011; Kataki et al., 2022; Thorn & Kerekes, 2001; Uhrbrand, Katrine et al., 2011; Vermeulen et al., 2021).

Dans leur revue de littérature, Kataki et al. (2022) ont recensé des études examinant les maladies affectant les travailleurs des stations d'épuration en raison de leur exposition microbienne. Ces maladies provoquent divers symptômes, notamment des douleurs musculaires et articulaires, des symptômes pseudo-grippaux, des maladies respiratoires (toux, expectorations, dyspnée, respiration sifflante) associées à une diminution de la fonction pulmonaire, ainsi que des affections gastro-intestinales. De même, Hotel (2015) a compilé plusieurs études signalant des symptômes respiratoires, asthmatiques, cutanés, abdominaux et gastro-intestinaux, ainsi que des infections virales telles que l'hépatite A, B et E chez les travailleurs exposés aux bioaérosols. Une affection spécifique, connue sous le nom de Syndrôme des travailleurs des stations d'épuration, a été décrite pour la première fois par Rylander et al. (1976) et regroupe un ensemble de symptômes touchant les travailleurs exposés aux bioaérosols des eaux usées.

Malgré les nombreuses études démontrant les risques sanitaires associés aux bioaérosols en station d'épuration, il n'existe actuellement aucune norme réglementaire sur les concentrations bactériennes en suspension dans l'air à l'intérieur de ces installations (Kataki et al., 2022; Madsen et al., 2023). Toutefois, lorsqu'il s'agit d'agents pathogènes, toute détection devrait être considérée comme un risque potentiel. L'évaluation des niveaux de risque reste complexe en raison de la variabilité des résultats rapportés dans la littérature. La charge microbienne dans les eaux usées dépend de plusieurs facteurs, notamment l'origine des affluents, l'efficacité variable des traitements et les technologies employées dans chaque station (Wang, Yanjie, Yang, et al., 2023). De plus, il existe des incohérences méthodologiques dans l'échantillonnage et l'analyse des bioaérosols. En particulier, l'utilisation de méthodes de culture microbiologique peut sous-estimer les concentrations bactériennes, en raison de la présence de bactéries viables mais non cultivables (VBNC). Ceci justifie le recours à des techniques moléculaires, telles que la PCR, pour une quantification plus précise des microorganismes présents dans l'air (Kataki et al., 2022; Liu, M., Nobu, et al., 2020; Madsen et al., 2023; Mbareche et al., 2022; Singh et al., 2021). Cependant, lorsque des recommandations sont émises, elles sont généralement accompagnées d'une méthode de référence pour le prélèvement ou l'analyse, comme les méthodes NIOSH (exemple : 0800 ou 0801) ou les guides techniques de l'INRS (exemple : ND 2233) (INRS, 2019; NIOSH, 1994).

Plusieurs facteurs influencent la génération et la dispersion des bioaérosols en station d'épuration. Parmi eux, les turbulences mécaniques de l'eau, l'aération, les chutes d'eau ou de boues, ainsi que la formation de vapeur et de microgouttelettes favorisent l'aérosolisation des microorganismes

(Carducci et al., 2000; Han, Li, et al., 2020; Han, Yang, Xu, et al., 2020; Han, Yang, Yan, et al., 2020; Karra & Katsivela, 2007; Kataki et al., 2022; Mbareche et al., 2022; Pascual et al., 2003b; Sanchez-Monedero et al., 2008; Wan et al., 2023). Ces processus facilitent la mise en suspension des bactéries dans l'air et contribuent à leur dispersion dans l'environnement de travail. Différentes études ont rapporté que des concentrations élevées de microorganismes aéroportés étaient observées à proximité des chambres de dessablage aérées et des chutes d'eau ou de boues (Falkingham, Joseph O., 2003; Fracchia et al., 2006; Kataki et al., 2022; Singh et al., 2021), ainsi que dans les environnements de travail où se forment des vapeurs en raison de l'augmentation de la température favorisant ainsi la condensation et l'évaporation (Karra & Katsivela, 2007). Dans la même étude, Karra et Katsivela ont examiné les conditions environnementales favorisant cette formation, notamment les températures élevées et le rayonnement solaire. Parallèlement, des facteurs tels que la configuration des salles et le renouvellement de l'air par ventilation influencent les concentrations de bioaérosols, soit en favorisant leur dilution, soit en accélérant leur élimination. Duchaine et Roy (2022) et Mbareche et al. (2022) ont mentionné que l'augmentation du renouvellement de l'air en été pouvait réduire les concentrations de bioaérosols (Duchaine, C. & Roy, 2022; Mbareche et al., 2022), un point également mis en avant par Kindzierski et al. (2015) et Kataki et al. (2022) (Kataki et al., 2022; Kindzierski et al., 2015).

Dans ce contexte, il est essentiel de développer des approches permettant une évaluation rapide des risques d'exposition aux bioaérosols en station d'épuration, sans recourir systématiquement à des prélèvements d'air et à des analyses en laboratoire coûteuses et chronophages.

1.2 Objectifs

L'objectif principal de ce projet est d'établir des indicateurs qualitatifs permettant d'estimer les niveaux de bioaérosols en fonction des caractéristiques des procédés de traitement des eaux usées et des facteurs environnementaux associés. De plus, les facteurs réduisant la concentration des bioaérosols, tels que la configuration spatiale des salles et le taux de renouvellement de l'air, ont été intégrés à l'analyse. Il vise à établir une liste de critères qualitatifs basés sur des caractéristiques faciles à observer ou à obtenir afin d'évaluer le niveau d'exposition des travailleurs aux bioaérosols selon le procédé et le contexte de la STEU. L'utilisation de ces critères plutôt que la détection des bactéries présentes dans les bioaérosols permettrait d'éviter le processus long et coûteux associé à l'échantillonnage et aux analyses de laboratoire.

Les objectifs secondaires sont :

- Déterminer les procédés ou les points susceptibles de générer des bioaérosols
- Évaluer les facteurs physico-chimiques et microbiologiques de l'eau et de l'air qui influencent la composition des bioaérosols
- Rechercher des indicateurs des concentrations des cibles microbiologiques dans l'air
- Définir les meilleurs critères qualitatifs permettant d'estimer le niveau de génération de bioaérosols par procédé
- Développer une grille d'évaluation du potentiel d'aérosolisation des microorganismes

1.3 Structure du mémoire

Ce mémoire de recherche est structuré en cinq chapitres. Après le présent chapitre d'introduction, le deuxième chapitre est consacré à la revue de la littérature qui synthétise les connaissances existantes et met en lumière les différentes perspectives liées au sujet. Cette analyse critique permet d'établir un état de l'art et d'identifier les lacunes scientifiques que cette étude souhaite explorer. Le troisième chapitre décrit la méthodologie et les démarches suivies tout au long de cette étude afin d'assurer la rigueur scientifique du travail. Le quatrième chapitre présente les résultats qui sont analysés et interprétés pour expliquer les observations et pour en tirer des conclusions. Enfin, le cinquième chapitre présente les conclusions et recommandations de l'étude. Il met également en avant les limites de la recherche et suggère des perspectives pour les études futures, en identifiant les questions restées en suspens et les pistes nécessaires à explorer afin d'approfondir les connaissances sur le sujet.

CHAPITRE 2 REVUE DE LA LITTÉRATURE

2.1 Les stations d'épuration des eaux usées : caractéristiques et procédés de traitement

Les stations d'épuration ont pour objectif de réduire la charge en contaminants organiques et inorganiques, en suspension ou dissous, présents dans l'eau usée avant son rejet vers le milieu récepteur. La qualité de l'eau traitée en sortie de station doit répondre aux normes de rejet ou de réutilisation établies par divers organismes réglementaires, afin d'assurer la protection des milieux récepteurs et de préserver la santé humaine en réduisant les risques de maladies hydriques (Ethiraj et al., 2024; Kundu et al., 2024). Au Québec, le Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MELCC) est responsable de l'élaboration et de l'application des normes relatives aux rejets d'eaux usées. De plus, le Règlement sur les ouvrages municipaux d'assainissement des eaux usées (ROMAEU) définit les exigences spécifiques encadrant ces normes (Canada, E. e. C. c., 2023a; MELCC, 2019b). Ainsi, le traitement des eaux usées constitue une étape essentielle pour limiter l'impact environnemental et protéger la santé publique (Mara, 2013).

2.1.1 Caractérisation des eaux usées à traiter et efficacité de traitement

Les eaux usées proviennent de diverses sources, incluant les secteurs domestique, commercial, industriel et agricole, ainsi que le ruissellement des eaux de surface (Metcalf et al., 2003). Bien que les stations d'épuration des eaux usées soient principalement conçues pour éliminer les polluants chimiques et organiques, elles captent également une charge microbienne, incluant des microorganismes pathogènes (Numberger et al., 2019).

Les bactéries sont particulièrement abondantes dans les eaux usées, car elles sont excrétées dans les matières fécales provenant du tube digestif humain (Chahal et al., 2016). Parmi les bactéries pathogènes les plus fréquemment détectées, on retrouve : *Salmonella spp.*, *Escherichia spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia spp.*, *Klebsiella spp.*, *Leptospira spp.*, *Vibrio cholerae*, *Aeromonas hydrophila*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium spp.* et *Pseudomonas spp.* (Cai & Zhang, 2013; Chahal et al., 2016; Maynard et al., 2005; Stevik et al., 2004). En raison de leur composition riche en matières organiques et nutriments, les eaux usées constituent un environnement favorable à la croissance et au développement des microorganismes (Abdel-Raouf et al., 2012).

L'efficacité de traitement des eaux usées est généralement mesurée à l'aide de paramètres clés caractérisant les concentrations et la nature des particules présentes. Des paramètres physico-chimiques telles les matières en suspension (MES), les matières volatiles en suspension (MVES) et la turbidité sont de bons indicateurs de traitement et influencent l'efficacité des traitements, notamment la désinfection (Berman et al., 1988; Canada, E. e. C. c., 2023a; Dietrich et al., 2003; Madge & Jensen, 2006). Les particules qui se trouvent dans les eaux usées sont soit d'origine organique ou inorganique (Chahal et al., 2016; Madge & Jensen, 2006). Ces particules peuvent être classées selon leurs tailles et leur capacité à se dissoudre dans l'eau (Azéma et al., 2002; Pallarès et al., 2011):

- Dissoutes (<0,001 µm)
- Colloïdales (0,001–1 µm),
- Supracolloïdales (1–100 µm),
- Décantables (>100 µm)

Dans les eaux usées, la turbidité est principalement causée par la présence de matières en suspension, incluant les particules d'argile, les sédiments, les matières organiques et inorganiques, ainsi que des organismes tels que les algues et les microorganismes. Ce paramètre est un indicateur clé du taux de solides en suspension restants dans l'effluent traité et permet d'évaluer l'efficacité du traitement des eaux usées. Une turbidité élevée est souvent associée à une plus grande présence de particules en suspension, pouvant servir de support pour le transport des microorganismes pathogènes attachés aux particules solides. Ainsi, une augmentation de la turbidité est généralement corrélée à une charge bactérienne plus élevée dans l'eau (Crittenden et al., 2012).

Les MES, MVES et la turbidité sont interreliés entre eux et avec la charge microbiologique (Hannouche et al., 2011; Joannis et al., 2008; Madhavi & Rajkumar, 2013). Les bactéries peuvent s'associer aux différentes particules qui se trouvent dans les eaux usées, notamment, les matières en suspension et/ou les matières volatiles en suspension selon différents processus. Les nutriments libérés à la surface des différentes particules peuvent attirer les bactéries qui s'attachent aux surfaces de ces particules (Chahal et al., 2016). De plus, l'ajout de coagulants modifie la force ionique de l'eau, favorisant ainsi les interactions entre les particules et les bactéries, qui peuvent s'y fixer plus aisément (Zita & Hermansson, 1994). Plusieurs facteurs peuvent influencer cette

association comme la taille et la composition des particules et l'âge et le niveau de développement des bactéries (Madge & Jensen, 2006; Stevik et al., 2004).

2.1.2 Les procédés de traitement des eaux usées (Filière liquide)

Les opérations de traitement des eaux usées peuvent être classées en trois grandes catégories : le prétraitement, les traitements physico-chimiques et les traitements biologiques (Larios-Martínez et al., 2022). La majorité de ces étapes de traitement sont représenté dans la Figure 2.1.

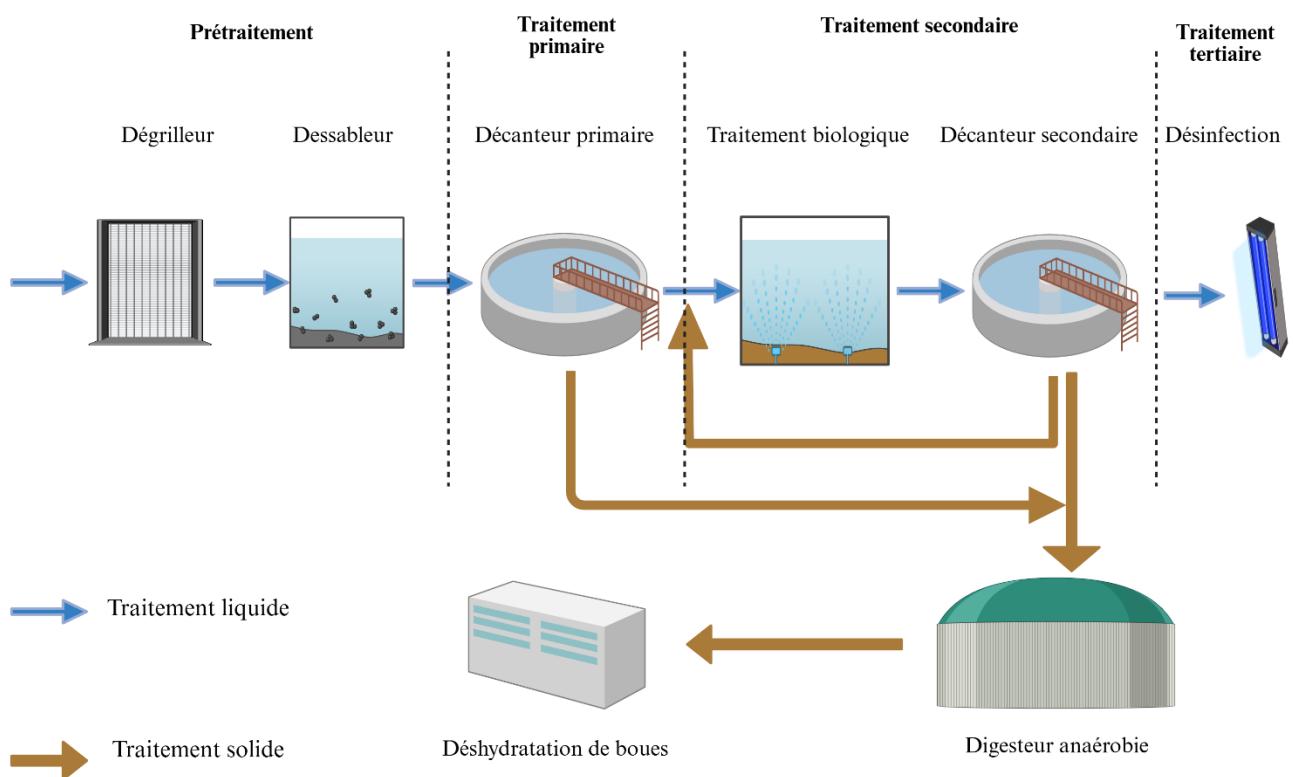


Figure 2.1 Schéma d'une station d'épuration des eaux usées illustrant les principales étapes du traitement. Les flèches marronnes indiquent le parcours des boues tandis que les flèches bleues représentent les différences étapes du traitement des eaux usées

Une série d'étapes de prétraitement est généralement nécessaire afin de retirer les gros débris et particules susceptibles de perturber les procédés suivants (Okoh et al., 2007). Le dégrillage permet l'élimination des déchets volumineux en les retenant à travers les mailles du dégrilleur (Okoh et

al., 2007). Le dégrillage des eaux usées se décline en plusieurs catégories selon la taille des ouvertures des grilles. Le dégrillage grossier comprend des ouvertures supérieures à 12 mm et permet de retenir les plus gros déchets. Le dégrillage moyen, quant à lui, possède des ouvertures comprises entre 6 mm et 12 mm, offrant une filtration intermédiaire. Le dégrillage fin est caractérisé par des ouvertures allant de 0,5 mm à 6 mm, capturant des particules plus petites. Enfin, le microtamisage, avec des ouvertures inférieures ou égales à 0,5 mm, est principalement utilisé comme barrière finale pour l'élimination des matières en suspension (MES), contribuant ainsi au polissage de l'effluent avant son rejet dans le milieu récepteur (MELCCFP, 2023a). Par la suite, le dessablage a pour objectif d'éliminer le sable et le gravier présents dans l'eau, limitant ainsi l'accumulation de dépôts dans les équipements de traitement subséquents (Templeton & Butler, 2014) . Une étape de déshuileage vise à séparer et extraire les huiles et graisses flottantes, qui peuvent entraver le bon fonctionnement des procédés suivants.

Les traitements physico-chimiques visent à éliminer les contaminants solides, organiques et inorganiques, par des mécanismes physiques et chimiques. Parmi ces procédés, on retrouve la sédimentation, la coagulation-flocculation et la filtration (Larios-Martínez et al., 2022). La coagulation et la flocculation constituent les étapes centrales du traitement physico-chimique. Ces processus permettent d'agréger les particules en suspension afin de faciliter leur élimination (Larios et al., 2018). La coagulation repose sur l'ajout d'un coagulant, tel que le chlorure ferrique ou l'alun, qui neutralise les charges électriques des particules colloïdales, favorisant ainsi la formation de micro-agrégats sous l'effet des mouvements browniens. La flocculation permet à ces micro-agrégats de fusionner et de former des flocs plus volumineux et plus denses, capturant à la fois des particules insolubles et dissoutes. La sédimentation permet une décantation efficace des flocs sous l'effet de la gravité, favorisant ainsi leur séparation de l'eau (Larios-Martínez et al., 2022).

Lors du traitement biologique des eaux usées, la matière organique est oxydée par des communautés microbiennes composées de plusieurs espèces. Ces systèmes sont auto-optimisés, car les microorganismes les plus compétitifs deviennent dominants dans des conditions environnementales données (par exemple, variation de température ambiante ou la température des eaux) (Schroeder, 2003). Les bactéries constituent le groupe dominant dans le traitement biologique des eaux usées, bien que d'autres organismes tels que les protozoaires, les champignons et certains invertébrés soient également présents. Ces derniers jouent un rôle secondaire,

influençant indirectement la performance du processus (Schroeder, 2003). Certains nutriments comme l'oxygène, l'azote et le phosphore sont indispensables au métabolisme des bactéries impliquées dans le traitement des eaux usées (Schroeder, 2003).

Dans les procédés de boues activées, la culture microbienne se développe sous forme de flocs biologiques en suspension dans le réacteur. Ces flocs sont maintenus en suspension grâce à un système d'aération, qui permet également l'apport d'oxygène nécessaire au métabolisme des microorganismes. Deux principaux systèmes d'aération sont couramment utilisés (Schroeder, 2003) :

- Aération par diffusion : L'air, ou parfois de l'oxygène pur, est injecté sous forme de bulles fines au fond du réacteur. Ces bulles transfèrent l'oxygène à la phase liquide et assurent l'homogénéisation du mélange.
- Aération de surface : L'oxygénation est réalisée par des turbines ou des aérateurs de surface qui brassent et oxygènent l'eau.

Le mélange de liquide biologique actif contenant les eaux usées et les microorganismes quitte ensuite le réacteur et est dirigé vers un bassin de décantation secondaire. Cette étape permet de séparer les flocs microbiens de l'effluent clarifié. Une partie des boues décantées est recyclée vers le réacteur d'aération afin de maintenir une biomasse active, tandis que l'excédent est dirigé vers le traitement des boues.

Dans les procédés à croissance fixée, tels que les filtres biologiques, la biomasse microbienne se développe sur un support solide inerte (exemple : roches, plastique structuré, médias en polystyrène, etc.) (Schroeder, 2003). Dans ce cas, l'air circule à travers le média filtrant, permettant le transfert d'oxygène vers la phase liquide. Avec le temps, l'accumulation de biomasse entraîne une augmentation de l'épaisseur du biofilm. Lorsque celui-ci devient trop épais, des fragments se détachent naturellement (sloughing), et ces particules sont ensuite éliminées dans un bassin de décantation secondaire avant d'être envoyées vers un digesteur anaérobie pour traitement des boues (Schroeder, 2003).

Au Québec, les stations d'épuration des eaux usées se différencient en fonction du type de procédé utilisé, qui peut être physico-chimique, biologique ou hybride (MELCCFP, 2023c). Les principales étapes et technologies incluent les procédés biologiques à culture en suspension (Boues actives,

oxydation rapide avec polissage) ou à culture fixée (disques biologiques, biofiltration), les systèmes de traitement extensifs (étangs aérés ou non-aérés), la filtration et l'infiltration, les prétraitements et physico-chimiques (dégrillage fin, dessablage, coagulation) (Arvanitoyannis & Kassaveti, 2008; Larios-Martínez et al., 2022; MELCC, 2012; MELCCFP, 2023c; Pillai & Thombre, 2020). Ces technologies peuvent être utilisées seules ou en combinaison, selon les exigences de traitement et les contraintes environnementales du site d'implantation.

2.1.3 Traitement des boues (Filière solide)

Les boues générées lors du traitement des eaux usées doivent ensuite être traitées pour en réduire le volume et en disposer. La première étape, l'épaississement des boues, consiste à augmenter leur concentration en matières solides en réduisant la quantité d'eau qu'elles contiennent. Cette opération est généralement réalisée par sédimentation, centrifugation ou filtration et permet d'optimiser les étapes ultérieures en diminuant le volume à traiter. Une fois épaissees, les boues subissent une stabilisation afin de limiter la dégradation de la matière organique et d'éliminer les agents pathogènes. Cette stabilisation peut être biologique, comme la digestion anaérobie, qui favorise la production de biogaz et réduit la fraction volatile des boues, ou chimique, par ajout de chaux, permettant d'augmenter le pH et d'inhiber l'activité microbienne (Cieślik et al., 2015).

Après stabilisation, une désinfection peut être nécessaire, notamment lorsque les boues sont destinées à un usage agricole. Cette étape repose sur divers procédés tels que le traitement thermique, l'irradiation ou l'ajout d'agents chimiques comme la chaux ou l'ozone, afin de garantir l'élimination des microorganismes pathogènes. Par la suite, les boues sont soumises à une déshydratation, qui vise à réduire encore leur teneur en eau afin d'en faciliter le transport et la valorisation. Différentes technologies peuvent être employées à cette fin, notamment la centrifugation, le pressage mécanique (filtres-presses) ou le séchage naturel sur lits de séchage (Cieślik et al., 2015).

Dans certains cas, un traitement thermique complémentaire peut être appliqué, notamment lorsque les boues doivent être incinérées ou valorisées énergétiquement. Cette phase peut inclure des procédés tels que l'incinération, la co-incinération avec d'autres déchets, la pyrolyse ou la vitrification, permettant ainsi une réduction significative du volume résiduel et une éventuelle récupération d'énergie. Enfin, les boues traitées peuvent être valorisées sous forme d'amendement agricole, sous réserve de leur conformité aux normes sanitaires et environnementales, ou utilisées

dans la production de biogaz. En dernier recours, les boues résiduelles non valorisables peuvent être mises en décharge contrôlée (Cieślik et al., 2015).

Ces étapes sont essentielles pour assurer une gestion efficace des boues d'épuration, réduire leur impact écologique et favoriser leur réutilisation dans une approche de traitement durable et circulaire des déchets issus des eaux usées (Cieślik et al., 2015).

Les différentes étapes de traitement des eaux affectent les particules contenues tout au long du traitement et leur aérosolisation (Garcia-Mesa et al., 2012). La distribution de la taille des particules varie en fonction du niveau de traitement (Neis & Tiehm, 1997).

2.2 Les bioaérosols dans les stations d'épuration des eaux usées

Les stations d'épuration des eaux usées sont une source majeure de bioaérosols (Han, Yang, Xu, et al., 2020; Kataki et al., 2022; Kowalski et al., 2017; Mbareche et al., 2022; Singh et al., 2021; Wan et al., 2023; Yang, Tang et al., 2022). Les bioaérosols sont générés par les procédés à travers les opérations de traitement décrites dans la section précédente (Fracchia et al., 2006). Cependant, les stations d'épuration ne sont pas spécifiquement conçues pour limiter la dispersion aérienne des contaminants durant les processus de traitement. Dans cette section, les caractéristiques des bioaérosols seront présentées, avant d'aborder la génération des bioaérosols dans les STEU et leur impact sur la santé.

2.2.1 Caractéristiques des bioaérosols

Les bioaérosols constituent une catégorie particulière des aérosols, caractérisés par leur origine biologique et leur potentiel à interagir activement avec les organismes vivants et les écosystèmes (Whitby et al., 2022). Contrairement aux aérosols, qui sont principalement composés de particules minérales, chimiques ou organiques inertes et souvent associés à des phénomènes climatiques et à la pollution atmosphérique (Adler et al., 2011; Sonwani et al., 2021), les bioaérosols englobent une grande diversité de particules biologiques, incluant bactéries, virus, champignons, spores et pollen (Wilson et al., 2001). De plus, ils peuvent contenir des plasmides libérés dans l'atmosphère par les êtres vivants, contribuant ainsi à la dispersion de matériel génétique dans l'environnement (Rui, 2006). Leur importance réside dans leur capacité à transporter et disséminer des agents pathogènes, ce qui en fait un vecteur clé dans la transmission des maladies infectieuses affectant la santé des individus. Ces particules sont omniprésentes dans les environnements intérieurs et

extérieurs et peuvent se disperser en s'attachant à d'autres particules en suspension (Whitby et al., 2022).

Les bioaérosols présentent une grande diversité en termes de taille, composition et propriétés biologiques (Whitby et al., 2022). Cette variabilité influence leur comportement dans l'air ainsi que leur potentiel d'exposition et d'impact sur la santé (Douwes et al., 2003). Ils constituent une voie de transmission majeure pour de nombreux agents infectieux et sensibilisants, jouant ainsi un rôle clé dans la propagation des maladies et le développement de réactions allergiques (Douwes et al., 2003).

Les bioaérosols sont caractérisés par un diamètre qui varie entre environ 10 nm et 100 µm (Whitby et al., 2022) et peuvent rester en suspension dans l'air pendant de longues périodes, augmentant ainsi leur potentiel d'exposition et de dispersion sur de vastes distances (Whitby et al., 2022). Wang et al. ont montré que la dispersion des bioaérosols, à partir des stations d'épuration des eaux usées, s'étend sur une distance comprise entre 292 et 515 m, affectant une zone de surface de 43 à 92 m². Li et al. (2016) ont détecté des concentrations en bioaérosols issus des STEU au niveau de différentes distances : à 0,2 km, à 1 km et à 10 km en aval des stations. De plus, Vishwakarma et al. ont rapporté des changements de la qualité de l'air, ainsi que des symptômes de santé signalés par les populations avoisinantes, à des distances de 50, 100 et 150 m des stations à cause des bioaérosols générés par les stations d'épuration des eaux usées (Li, J. et al., 2016; Vishwakarma et al., 2024; Wang, Yanjie, Yang, et al., 2023). Les conditions environnementales, telles que l'humidité, les conditions météorologiques et les mouvements d'air influencent cette dispersion (Karra & Katsivela, 2007; Kataki et al., 2022; Mbareche et al., 2022).

Les bioaérosols peuvent être classées selon leur diamètre aérodynamique (d_{ae}), qui influence leur comportement dans l'air et leur impact sur la santé humaine et l'environnement (Hinds, William C & Zhu, 2022). Le diamètre aérodynamique est défini comme le diamètre d'une sphère de densité unitaire ($\rho_0 = 1 \text{ g/cm}^3$, soit la densité de l'eau) qui possède la même vitesse de sédimentation dans l'air (immobile) que la particule considérée (Hinds, William C., 1999). Cette mesure permet d'évaluer le comportement des particules en suspension, notamment leur vitesse de sédimentation et leur dispersion dans l'atmosphère (Sjoholm et al., 2001). Les particules PM₁₀ et PM_{2,5} sont les particules d'intérêts pour la santé en raison de leur faible taille. Les PM₁₀ sont des particules inhalables grossières d'un diamètre aérodynamique moyen inférieur à 10 µm et peuvent atteindre

les régions extrathoraciques ainsi que les voies trachéobronchiques supérieures. Les particules fines PM_{2,5}, dont le diamètre est inférieur ou égal à 2,5 µm, ont la capacité de pénétrer plus profondément dans le système respiratoire, atteignant les régions trachéobronchiques profondes et alvéolaires (Brook et al., 2004). En se déposant plus profondément dans l'appareil respiratoire, elles contournent plus facilement les mécanismes de défense des voies respiratoires et peuvent provoquer des effets néfastes sur la santé pulmonaire et cardiovasculaire.(Liu, M., Nobu, et al., 2020). Cependant, des particules de plus grande taille, telles que les pollens ou les spores de moisissures, peuvent également se déposer dans les voies respiratoires supérieures et y provoquer des effets irritants, inflammatoires ou allergiques (WHO, 2009).

2.2.2 Génération des bioaérosols dans les stations d'épuration des eaux usées

Plusieurs études s'intéressent à l'échantillonnage, à la quantification et à l'identification des bioaérosols générés par les différentes technologies de traitement des eaux usées (Bauer et al., 2002; Caicedo et al., 2019; Fracchia et al., 2006; Mbareche et al., 2022; Singh et al., 2021). Les processus d'aération des bassins de traitement, qu'ils soient réalisés par oxygénation, agitation mécanique, succion ou chutes d'eau, contribuent à la génération et à la dispersion des bioaérosols. Ces particules biologiques proviennent de la fragmentation des gouttelettes d'eau, résultant de la rupture des jets d'eau et de l'éclatement des bulles à la surface des bassins (Brown, 1997). La génération des bioaérosols, quand elle est non contrôlée, elle peut dépasser les seuils recommandés d'exposition de près de la moitié (49%) d'échantillons investigués dans les milieux où se trouvent les installations (Gangamma et al., 2011).

Les procédés biologiques, qui nécessitent une aération pour bien fonctionner, sont des générateurs de bioaérosols (Bruni et al., 2020; Grisoli et al., 2019; Hamoda, 2006; Han, Yang, Xu, et al., 2020; Heinonen-Tanski, H. et al., 2009a; Karra & Katsivela, 2007; Katsivela et al., 2017; Korzeniewska, E. & Harnisz, 2012; Masclaux, Frédéric G et al., 2014b; Sánchez-Monedero et al., 2008; Teixeira et al., 2013). Des bioaérosols sont aussi générés lors du traitement des boues issues des procédés d'épuration des eaux usées suivant une série d'étapes visant à réduire leur volume, stabiliser leur composition et minimiser leur impact environnemental tout en favorisant leur valorisation (Bauer et al., 2002; Han et al., 2018; Li, J. et al., 2016; Tian et al., 2022; Wang, Yanjie, Liu, et al., 2023). Les concentrations des bactéries quantifiées au niveau des procédés de traitement de boues ont atteint $2,8 \times 10^3$ UFC/m³ (Kowalski et al., 2017). La quantification des concentrations élevées des

bactéries pendant le traitement des boues est aussi rapporté par (Xu, G. et al., 2018) au niveau de salle de déshydratation de boues, une étape de traitement considérée comme l'une des sources principales de génération de bioaérosols. La forte génération de bioaérosols au niveau des procédés est principalement liée à l'aération, qui provoque l'éclatement des bulles d'air à la surface du liquide, formant ainsi des gouttelettes riches en microorganismes dispersées dans l'air (Korzeniewska, Ewa, 2011). De plus, le traitement de boues par les procédés favorisent le développement et la croissance des microorganismes (Li, Y. et al., 2012).

Les bioaérosols rencontrées au niveau de la filière de traitement de boues varient en concentration et en types comparativement aux procédés de traitement de l'eau usée (Liu, M., Nobu, et al., 2020; Masclaux, Frédéric G et al., 2014b; Wang, Yanjie, Liu, et al., 2023). Les microorganismes tels *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Propionibacterium* et *Staphylococcus* présents dans les boues (Cyprowski et al., 2018) peuvent être aérosolisés pendant la phase d'aération du procédé (Wang, Yanjie, Liu, et al., 2023). À cet égard, les principales bactéries identifiées dans l'étude de Gaviria-Figueroa et al. (2019) étaient associées aux bioaérosols générés dans les bassins de boues activées (Gaviria-Figueroa et al., 2019). Les phylums bactériens prédominants comprenaient les *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Planctomycetes*, *Chloroflexi*, *Verrucomicrobia*, *Nitrospirae*, *Acidobacteria* et *Chlorobi* (Gaviria-Figueroa et al., 2019).

La concentration des bioaérosols varie aussi en fonction de plusieurs facteurs environnementaux, notamment la région géographique, la saison, l'humidité relative, l'ensoleillement, la vitesse du vent, la température, le carbone organique total (COT), ainsi que la présence d'ions tels que NH_4^+ , Cl^- et Ca^{2+} (Han, Yang, Xu, et al., 2020; Pengcheng et al.; Szyłak-Szydłowski et al., 2016; Wang, Yanjie, Liu, et al., 2023; Yang, K.-X. et al., 2018). Pour les procédés à l'extérieur, les concentrations de bactéries viables en suspension dans l'air augmentent lorsque l'irradiation solaire diminue, en raison de la réduction de l'effet d'inactivation par les rayons ultraviolets au niveau des procédés extérieurs (Karra & Katsivela, 2007). De plus, les concentrations de bioaérosols dans l'air ambiant des bassins aérés sont corrélées positivement avec la vitesse du vent (Fathi et al., 2017) et sont généralement plus élevées sous le vent dans un rayon de 1 km des installations de traitement des eaux usées (Renee & Mark, 2008).

Pour les procédés à l'intérieur, l'augmentation de la température des eaux ou de l'air environnant peut favoriser l'augmentation des concentrations des bioaérosols dans l'air (Karra & Katsivela,

2007). De même, l'humidité relative a montré une corrélation positive avec les concentrations de *bactéries totales* et d'endotoxines dans l'air (Mbareche et al., 2022). Les résultats de Mbareche et al. (2022) ont révélé une humidité relative élevée, atteignant environ 95 %, au niveau du procédé de biofiltration en été, associée à des concentrations de bactéries à Gram-négatif cultivables d'environ 10^3 UFC/m³. À l'inverse, au niveau du dégrilleur en hiver, une diminution marquée de l'humidité relative (environ 20 à 30 %) a été observée, accompagnée de concentrations bactériennes significativement plus faibles, proches de 10^1 UFC/m³.

Enfin, une ventilation insuffisante peut favoriser l'accumulation des bioaérosols dans l'air ambiant, augmentant ainsi les concentrations en bioaérosols et l'exposition des travailleurs (Li, P., Li, et al., 2021), contrairement à une ventilation adéquate (Guo et al., 2014). Par ailleurs, l'air ambiant dans ces environnements peut également être influencé par l'apport d'air extérieur, qui peut contenir des bioaérosols provenant d'autres sources et ainsi contribuer à enrichir la charge microbienne des espaces intérieurs (Han et al., 2018; Liu, M., Nobu, et al., 2020; Wang, Yanjie, Li, et al., 2018).

2.3 Impacts des bioaérosols des stations d'épuration sur la santé

Les bioaérosols constituent une catégorie de substances allergènes et pathogènes pouvant affecter la santé des organismes vivants. Leur temps de résidence dans l'air est influencé par plusieurs facteurs, notamment la taille des particules, les conditions météorologiques et l'intensité de la source d'émission. Ces éléments déterminent la durée pendant laquelle les bioaérosols restent en suspension avant de se déposer ou d'être dispersés (Huang et al., 2024). Leur impact sur la santé humaine est particulièrement étudié, car certains bioaérosols peuvent contenir des pathogènes responsables d'infections respiratoires, d'allergies ou d'autres maladies.

L'aérosolisation des microorganismes se produit lors du traitement des eaux usées ainsi que du traitement des boues. Ce phénomène est facilité par différents facteurs qui favorisent leur transfert des procédés vers l'air ambiant (Bauer et al., 2002; Han et al., 2018; Li, J. et al., 2016; Tian et al., 2022; Wang, Yanjie, Liu, et al., 2023). Les travailleurs en contact avec ces procédés sont exposés aux microorganismes présents dans les bioaérosols générés (Jahangiri et al., 2015; Rylander, 1999; Thorn et al., 2002). L'exposition peut se faire par inhalation, contact direct cutané et muqueux, ou ingestion accidentelle (Carducci et al., 2000; Fredricks et al., 2005; Kataki et al., 2022; Prazmo et al., 2003). L'inhalation représente la voie majeure d'exposition et elle est 10^5 plus puissante et

dangereuse que l'exposition par voie direct cutané (Li, Y. et al., 2013). L'ingestion accidentelle peut avoir lieu aussi à travers les mains contaminées ou le contact avec des surfaces sur lesquelles des microorganismes ont été déposés ou à travers des vêtements contaminés. L'ingestion de particules initialement inhalées puis dégluties représente aussi une voie d'exposition non négligeable (D. Sobsey et al., 2006; Jahne et al., 2014). La détermination des différentes voies d'exposition aux microorganismes dans les stations d'épuration des eaux usées met en évidence les risques sanitaires associés à l'aérosolisation des microorganismes (Chen, Y.-h. et al., 2021; Li, Y. et al., 2013; Liu, H. et al., 2018; Masclaux, Frédéric G et al., 2014b; Wang, R.-n. et al., 2021; Wang, Yanjie, Liu, et al., 2023; Yan et al., 2021).

Plusieurs études ont confirmé l'exposition des travailleurs dans les STEU aux bioaérosols (Albatanony & El-Shafie, 2011; Giusti, 2009; Rylander, 1999; Thorn et al., 2002) à des niveaux plus élevés qu'un groupe contrôle (Vermeulen et al., 2021). La proportion élevée de neutrophiles trouvées dans le sang des travailleurs de STEU par rapport à un groupe de contrôle (Albatanony & El-Shafie, 2011; Kataki et al., 2022; Thorn & Kerekes, 2001; Uhrbrand, Katrine et al., 2011) est aussi une confirmation de l'exposition particulière des travailleurs aux microorganismes dans les STEU (Thorn & Rylander, 1998).

Une récente revue de la littérature a recensé plusieurs études examinant les maladies affectant les travailleurs des stations d'épuration des eaux usées (STEU) en raison de leur exposition aux bioaérosols (Kataki et al., 2022). Ces maladies provoquent divers symptômes, tels que des douleurs musculaires et articulaires, des symptômes pseudo-grippaux, ainsi que des affections respiratoires (toux, expectorations, toux productive, sifflements respiratoires, essoufflement) souvent associées à une diminution de la fonction pulmonaire, ainsi que des troubles gastro-intestinaux.

Les opérateurs travaillant au niveau des différents procédés ont présenté des symptômes sanitaires associés à leur exposition aux bioaérosols (Kataki et al., 2022). De façon générale, les travailleurs des STEU ont montré plus de signes de maladies respiratoires, notamment des maladies pulmonaires et des troubles des voies respiratoires (Bener et al., 1998; Friis et al., 1999; Zuskin et al., 1993). Dans certains cas, une diminution de la capacité pulmonaire a été rapportée par rapport aux personnes non-exposées (Kataki et al., 2022) et un effet significatif a été observé sur la manifestation des symptômes respiratoires et sur la capacité de fonction des poumons sous certaines conditions de travail (Jahangiri et al., 2015). Des symptômes comme les courbatures, les

douleurs abdominales, les difficultés respiratoires, l'asthmes et les dyspnées sont plus souvent rencontrés chez les travailleurs des STEU (Albatanony & El-Shafie, 2011). Par ailleurs, l'exposition aux endotoxines a été associée à des effets inflammatoires et respiratoires (Thorn & Beijer, 2004).

D'autres recherches ont rapporté des symptômes gastro-intestinaux, incluant des infections et des troubles digestifs (Khuder et al., 1998), ainsi que le portage de parasites intestinaux chez les travailleurs exposés (Schlosser et al., 1999). Une augmentation de 37% des symptômes aigus de gastroentérite a été observée par rapport à la population normale (Uhrbrand, Katrine et al., 2011). Comme mentionné dans la section 2.3.1, les bioaérosols générés dans les stations d'épuration des eaux usées peuvent contenir des virus. Leur mise en suspension peut résulter de diverses conditions de fonctionnement des procédés de traitement (Lou, M. et al., 2021a). Plusieurs virus entériques ont été détectés dans l'air ambiant de ces installations, notamment les adénovirus et le norovirus (Masclaux, F. G. et al., 2014a), les rotavirus (Stobnicka-Kupiec et al., 2022), ainsi que les entérovirus et les réovirus (Sigari et al., 2006). Par ailleurs, la présence du coronavirus SARS-CoV-2 a également été rapportée dans l'air des stations d'épuration (Gholipour et al., 2021). Ces observations soulignent la diversité des agents viraux auxquels peuvent être exposés les travailleurs, et certaines études suggèrent même des effets cliniques potentiels liés à cette exposition. En effet, des symptômes d'hépatite B ont été signalés chez les travailleurs des stations d'épuration (Arvanitidou et al., 1998; Arvanitidou et al., 2004), ainsi que des symptômes d'hépatite A (Arvanitidou et al., 2004).

De manière similaire, Les travailleurs des stations d'épuration présentent un profil symptomatique spécifique, identifié sous le terme de "Syndrome des travailleurs des eaux usées", décrit pour la première fois par (Rylander et al., 1976).

La pathogénicité des microorganismes générés par les procédés de traitement dépend aussi des conditions environnementales dans lesquelles ils étaient générés et aussi sur la réponse immunologique ainsi que d'autres facteurs (Amoah et al., 2022; Zang et al., 2024). Le niveau de risque dû à l'exposition aux bioaérosols varie entre les travailleurs selon l'âge, le sexe, l'éloignement à la source, la durée de l'exposition et le type d'infection (Vishwakarma et al., 2024). Suite à l'exposition, le risque peut passer d'une simple exposition causant une réponse allergique jusqu'à une infection mortelle (Vishwakarma et al., 2024).

L'exposition chronique aux bioaérosols en grande concentration dans les STEU peut provoquer chez les travailleurs des sensibilisations et un développement de maladies professionnelles comme l'alvélite allergique extrinsèque (AAE), l'asthme ou le syndrome toxique d'exposition aux poussières organiques (STEPO) et autres (Duchaine et al., 2019; Rylander, 2002). Les eaux usées municipales constituent un réservoir important de microorganismes pathogènes, pouvant entraîner des maladies infectieuses variées et parfois graves (Tableau 2.1), notamment les infections des plaies provoquées par *Pseudomonas aeruginosa*, les infections respiratoires dues à *Legionella pneumophila* et *Mycobacterium avium*, ainsi que la leptospirose, une infection bactérienne causée par *Leptospira spp.* (Levy, 2010; Michael H. Gerardi, 2004). L'exposition aux bioaérosols générés à partir de ces eaux peut donc constituer une menace importante pour les travailleurs.

Tableau 2.1 Principaux bactéries et virus pathogènes préoccupants dans les eaux usées municipales et maladies ou symptômes associés. Tiré, adapté et traduit de (Chahal et al., 2016).

	Nom du pathogène	Maladies principales ou symptômes
Bactéries	<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastro-entérite
	<i>Escherichia coli</i>	Gastro-entérite
	<i>Salmonella spp.</i>	Salmonellose, typhoïde, paratyphoïde
	<i>Shigella spp.</i>	Dysenterie bacillaire
	<i>Vibrio cholerae</i>	Choléra
	<i>Yersinia spp.</i>	Gastro-entérite
Virus	Adénovirus	Infection des voies respiratoires supérieures et gastro-entérite

Tableau 2.1 Principaux bactéries et virus pathogènes préoccupants dans les eaux usées municipales et maladies ou symptômes associés. Tiré, adapté et traduit de (Chahal et al., 2016) (suite).

	Nom du pathogène	Maladies principales ou symptômes
	Astrovirus	Gastro-entérite
	Coxsackie virus	Méningite, pneumonie, fièvre
	Echovirus	Méningite, paralysie, encéphalite, fièvre
	Hépatite A virus	Hépatite infectieuse
	Hépatite E virus	Hépatite infectieuse, fausse couche, décès
	Calicivirus humain	Gastro-entérite épidémique avec diarrhée sévère
	Poliovirus	Poliomyélite
	Réovirus	Infections respiratoires, gastro-entérite
	Rotavirus	Gastro-entérite aiguë avec diarrhée sévère
	Hépatite TT	Hépatite

La présence de ces pathogènes dans les eaux usées ainsi que les maladies pouvant être causées par leur exposition soulignent l'importance de porter une attention particulière au phénomène d'aérosolisation de ces microorganismes à partir des eaux usées dans les stations d'épuration, en raison du danger sanitaire potentiel associé.

2.4 Études de bioaérosols dans les stations d'épuration des eaux usées

Les études sur les bioaérosols en milieu intérieur et dans les stations d'épuration des eaux usées présentent des divergences méthodologiques, influençant l'interprétation des résultats et la comparabilité des données (Mbareche et al., 2017; Mbareche et al., 2018). Cette variabilité se manifeste à plusieurs niveaux, notamment par les cibles microbiologiques analysées, la diversité

des procédés investigués, ainsi que les différentes saisons influençant les conditions environnementales (Karra & Katsivela, 2007; Kataki et al., 2022; Mbareche et al., 2017; Mbareche et al., 2018). Par exemple, (Singh et al., 2021) a recensé 17 études ayant examiné plus de 100 procédés de traitement, mettant en lumière les variations méthodologiques importantes d'une étude à l'autre. Dans la même revue de littérature, Singh et al. (2021) ont analysé les données de 44 études, répertoriant ainsi 55 espèces bactériennes fréquemment isolées dans les bioaérosols et recensant les concentrations microbiennes observées dans certains procédés spécifiques.

De plus, les études divergent quant aux méthodes d'échantillonnage, de quantification et d'analyse des bioaérosols, ce qui complexifie la comparaison des résultats (Karra & Katsivela, 2007; Kataki et al., 2022; Mbareche et al., 2017; Mbareche et al., 2018). (Nazaroff, 2016) a analysé 20 études portant sur la présence de bioaérosols en milieu intérieur, mettant en évidence l'utilisation de 13 méthodes différentes pour leur analyse et quantification. Cette étude souligne également la diversité des pathologies affectant les travailleurs des stations d'épuration des eaux usées, ainsi que les microorganismes émis dans ces environnements et leurs liens avec ces maladies. Enfin, les disparités observées dans les concentrations bactériennes rapportées par les différentes études peuvent refléter en partie les variations méthodologiques liées aux protocoles d'échantillonnage, aux méthodes d'analyse et aux conditions environnementales propres à chaque site étudié (Singh et al., 2021). Toutefois, ces écarts ne signifient pas nécessairement que les méthodes utilisées sont problématiques, mais plutôt qu'elles influencent les résultats obtenus.

Cette absence de standardisation dans les approches méthodologiques révèle une absence de protocoles communs pour l'étude des bioaérosols en milieu de traitement des eaux usées, rendant nécessaire l'élaboration de directives harmonisées afin d'améliorer la robustesse et la reproductibilité des résultats (Karra & Katsivela, 2007; Kataki et al., 2022; Mbareche et al., 2017; Mbareche et al., 2018).

Ces résultats mettent en évidence la nécessité d'une harmonisation des approches de recherche afin de permettre une meilleure comparaison des données et une évaluation plus précise des risques sanitaires associés aux bioaérosols.

2.4.1 Échantillonnage des bioaérosols

L'élaboration d'une stratégie d'échantillonnage rigoureuse est une étape essentielle dans l'étude des bioaérosols. Plusieurs paramètres doivent être soigneusement définis et adaptés aux objectifs

spécifiques de l'étude, notamment l'équipement d'échantillonnage à utiliser, la hauteur de prélèvement, le volume d'air prélevé, la méthode de concentration des microorganismes ainsi que la méthode de quantification (Mbareche et al., 2017).

Plusieurs types d'échantillonneurs sont utilisés pour la capture des bioaérosols, tels que les impacteurs, filtres, cyclones, échantillonneurs à condensation et échantillonneurs électrostatiques. Les échantillonneurs se distinguent d'abord par leur principe de collecte des particules, qui peut être basé sur la filtration, l'impaction inertielle ou la capture électrostatique. L'efficacité et la performance de ces dispositifs dépendent de plusieurs facteurs, dont la taille des particules collectées, le débit d'air programmé, le volume d'air total échantillonné, ainsi que les propriétés biologiques des microorganismes cibles (Mbareche et al., 2018). Le choix de l'échantillonneur de bioaérosols joue un rôle déterminant dans les études visant à caractériser la qualité microbiologique de l'air, en particulier dans les environnements professionnels. Ce choix influence directement la précision des résultats et la fiabilité des études d'exposition (Mbareche et al., 2018).

Le Tableau 2.2 résume les différents échantillonneurs utilisés dans diverses études, en précisant leurs paramètres d'échantillonnage, notamment la durée de prélèvement et le débit d'air, ainsi que la cible microbiologique analysée dans chaque recherche.

Tableau 2.2 Types d'échantillonneurs de bioaérosols en stations d'épuration. Tiré, modifié, adapté et traduit de (Kataki et al., 2022).

Type d'échantillonneur	Durée d'échantillonnage (min)	Débit (L/min)	Type de bioaérosol	Références
Bio-Sampler impinger liquide	40	12,5	Bactéries et virus	(Heinonen-Tanski, H. et al., 2009a)
Impacteur Andersen à six étages	3	28,3	Bactéries	(Wang, Yanjie et al., 2019)

Tableau 2.2 Types d'échantillonneurs de bioaérosols en stations d'épuration. Tiré, modifié, adapté et traduit de (Kataki et al., 2022) (suite).

Type d'échantillonneur	Durée d'échantillonnage (min)	Débit (L/min)	Type de bioaérosol	Références
Échantillonneurs Gesamt Staub Probenahme inhalables	409	3,5	Bactéries	(Uhrbrand, K. et al., 2017)
Impacteur gravimétrique Dekati	487	61,5	Virus	(Uhrbrand, K. et al., 2017)
Bio-Sampler	60	12,5	Bactéries	(Benami et al., 2016)
Impinger en verre de 100 mL rempli de 40 mL de PBS	240	4	Virus	(Pasalari et al., 2019)
Échantillonneurs d'air Sartorius MD8 Airscan	30	125	Bactéries	(Gaviria-Figueroa et al., 2019)
Impacteur Andersen à six étages	1 à plusieurs	28,3	Bactéries	(Hung et al., 2010)
Impacteur Andersen à six étages	3	28,3	Bactéries et champignons	(Han et al., 2019)
Échantillonneur d'air de type MAS 100 Eco	NR	NR	Bactéries et champignons	(Michałkiewicz, 2019)

Tableau 2.2 Types d'échantillonneurs de bioaérosols en stations d'épuration. Tiré, modifié, adapté et traduit de (Kataki et al., 2022) (suite).

Type d'échantillonneur	Durée d'échantillonnage (min)	Débit (L/min)	Type de bioaérosol	Références
Impacteur Andersen à six étages	8	28,3	Bactéries et champignons	(Kowalski et al., 2017)
Échantillonneur de microorganismes aéroportés (SKC Bio-Sampler)	NR	12,5	Bactéries	(Han et al., 2012)
Bio-Sampler® (SKC Inc.)	60	12,5	Bactéries	(Benami et al., 2016)
Échantillonneur de particules en suspension totale (TH-150C)	240	100	Bactéries	(Han et al., 2018)

Une grande diversité d'échantillonneurs peut être utilisée pour la collecte des bioaérosols dans les stations d'épuration. Les dispositifs à faible débit d'air peuvent entraîner une limite de détection élevée, affecter la représentativité de la diversité microbienne et limiter la précision des résultats en raison d'une concentration insuffisante de microorganismes collectés (Mbareche et al., 2018). Les échantillonneurs à haut débit (exemple : électrostatiques ou cycloniques liquides) offrent une meilleure couverture de la diversité microbienne que les échantillonneurs à faible débit. Par ailleurs, les échantillonneurs liquides cycloniques présentent certains inconvénients, notamment des pertes de particules microbiennes dues à l'évaporation du liquide de collecte ou encore la migration des microorganismes hors du liquide à cause de l'hydrophobicité de certains

microorganismes, aussi appelé phénomène de rebond aérosols (Lemieux et al., 2019; Tseng & Li, 2005). Ceci peut également fausser la représentation de certaines communautés microbiennes.

En outre, certains échantillonneurs sont complexes à manipuler et sensibles aux conditions expérimentales, ce qui peut impacter la récupération des microorganismes après l'échantillonnage et, par conséquent, la fiabilité des résultats obtenus (Mbareche et al., 2017; Mbareche et al., 2018). Ainsi, la sélection de l'échantillonneur doit être adaptée aux objectifs spécifiques de l'étude, en tenant compte de la performance de capture en fonction du type de microorganismes ciblés, des conditions environnementales d'échantillonnage et de la méthode prévue pour la quantification des microorganismes (Mbareche et al., 2018).

Le choix de l'emplacement de l'échantillonneur est également un facteur pouvant influencer les résultats. Les concentrations des bactéries aérosolisées diminuent significativement à mesure que la hauteur d'échantillonnage s'éloigne de la source (Sawyer et al., 1993). Une réduction du nombre total de bactéries hétérotrophes et du dénombrement de coliformes totaux a été observée lorsque la hauteur d'échantillonnage est passée de 7,6 cm à 318 cm au-dessus de la surface du bassin d'aération (Sawyer et al., 1993). Des résultats similaires ont été rapportés par Wang et al. (2018a), qui ont constaté qu'une augmentation de la hauteur d'échantillonnage de 0,1 m à 3,0 m entraînait une diminution de 24 % de la concentration en microorganismes et de 39 % du nombre total de particules en suspension (Wang, Yanjie, Lan, et al., 2018a). L'étude de (Yang, K., Li, et al., 2019) a également confirmé cette tendance en montrant une diminution de la concentration bactérienne de 53,8 % et 90,0 % lorsque la hauteur d'échantillonnage est passée de 0,1 m au-dessus du niveau de l'eau à 1,5 m et à 3,0 m, respectivement. Ces résultats mettent en évidence l'importance du choix de la hauteur d'échantillonnage dans les études sur les bioaérosols, car elle influence directement les concentrations détectées et, par conséquent, l'estimation du risque d'exposition aux microorganismes dans l'air.

2.4.2 Détection des bioaérosols

Une fois les bioaérosols collectés, diverses techniques analytiques sont employées pour leur identification et leur caractérisation. Les méthodes basées sur la culture microbiologique sont couramment utilisées pour l'analyse des bioaérosols. Ghosh et al. (2015) mettent en avant l'approche classique de culture sur gélose, où les bioaérosols collectés sont incubés sur des milieux

nutritifs, permettant ainsi le dénombrement et l'identification des colonies selon la méthode des unités formant colonies (UFC) (Ghosh et al., 2015).

Bien que cette méthode soit utile pour quantifier les microorganismes, elle présente des limites en raison de son incapacité à détecter les espèces non cultivables. Les approches moléculaires offrent une alternative efficace aux méthodes traditionnelles. Yoo et al. (2017) ont combiné un enrichissement par culture avec des analyses génétiques, notamment l'amplification PCR du gène de l'ARN ribosomal 16S, suivie d'un clonage et d'un séquençage, permettant ainsi une identification plus précise des bactéries en les comparant à des bases de données génétiques (Yoo et al., 2017). An et al. (2024) ont quant à eux employé une approche métagénomique basée sur le séquençage ADN à haut débit, permettant de caractériser la diversité microbienne des bioaérosols sans nécessiter d'étape de culture (An et al., 2024). Les techniques de détection en temps réel permettent une analyse rapide et continue des bioaérosols de façon moins spécifique. Huffman et al. (2020) se concentrent sur les technologies optiques pour l'identification immédiate des particules biologiques (Huffman et al., 2020).

Parmi ces techniques, on retrouve la spectroscopie de fluorescence induite par laser, qui détecte l'autofluorescence des biomolécules, et la cytométrie en flux, permettant d'analyser les propriétés physiques et biologiques des particules en suspension.

Huang et al. (2024) complètent cette analyse en comparant ces méthodes modernes aux approches traditionnelles comme la culture sur gélose et l'analyse microscopique (Huang et al., 2024).

Chaque méthode de détection présente des avantages et des inconvénients ainsi que différents principes de détection (Tableau 2.3).

Tableau 2.3 Résumé des méthodes de détection des bioaérosols. Tiré, adapté, modifié et traduit de (Huang et al., 2024).

Méthode de détection	Principe de détection	Éléments mesurés	Avantages	Inconvénients	Références
Milieu de culture	Formation de colonies sur des boîtes de Pétri	Nombre et diversité des espèces microbiennes	Permet de prouver l'activité microbienne, méthode simple	Ne permet d'identifier que les microorganismes viables et cultivables, conditions de culture limitant la croissance microbienne	(Delort & Amato, 2017), (Kepner & Pratt, 1994; Palmgren et al., 1986)
Microscopie à fluorescence	Coloration fluorescente	Nombre de microorganismes viables/non viables	Méthode simple, faible coût	Identification des particules hautement subjective	(Lange et al., 1997; Liu, T. et al., 2023)
Cytométrie en flux	Diffusion de la lumière, fluorescence induite par laser	Diffusion avant et latérale de la lumière, multiples paramètres fluorescents	Détection rapide, détection d'une seule cellule, fournit une grande quantité d'informations	Les particules abiotiques de la même taille peuvent interférer avec la détection, nécessite d'un comptage sur un grand volume d'air	(Adan et al., 2017; Chen, P.-S. & Li, 2005; Manohar et al., 2021)
qPCR	Extraction d'ADN, amplification et analyse	Signal de fluorescence	Sensibilité et spécificité élevées, détection rapide, suivi en temps réel de l'amplification	Extraction d'ADN complexe, conception des sondes difficile et coûteuse, colorants fluorescents pouvant générer des faux positifs, ne distingue pas les cellules vivantes des mortes	(Harshitha & Arunraj, 2021; Higuchi et al., 1992; Kralik & Ricchi, 2017; Taylor et al., 2019)

La méthode de culture permet de dénombrer et d'isoler les microorganismes cultivables sur un milieu nutritif spécifique. Cette méthode est souvent utilisée pour estimer la concentration des bactéries dans un environnement particulier (Rinsoz et al., 2008). Cependant, les microorganismes ne sont pas nécessairement cultivables sur milieu même s'ils sont viables. Ce phénomène, connu sous le nom de VBNC (Viable But Non-Culturable), entraîne une sous-estimation de la concentration réelle des microorganismes présents dans l'échantillon (Carducci et al., 2000; Korzeniewska, E. & Harnisz, 2012; Pascual et al., 2003a; Tian et al., 2022). Les méthodes de culture sont hautement sélectives et aucune condition n'est universelle. En raison de la diversité des besoins nutritifs et des conditions de croissance des microorganismes, il n'existe pas un seul milieu ou protocole de culture capable de faire croître tous les microorganismes (Zhang et al., 2021). Les différentes approches de culture en milieu artificiel présentent un biais en ne capturant qu'une portion limitée de la diversité microbienne (Zengler et al., 2002).

Par ailleurs, certaines conditions d'échantillonnage peuvent induire un stress physiologique chez les microorganismes, réduisant ainsi leur capacité à croître sur milieu de culture (Ferguson et al., 2019; Tian et al., 2022). Cela peut limiter l'efficacité de la méthode pour refléter fidèlement la diversité microbienne d'un environnement donné.

Les méthodes de détection basées sur la biologie moléculaire sont largement utilisées pour la caractérisation des bioaérosols (Blais-Lecours et al., 2015; Huang et al., 2024; Yoo et al., 2017). Parmi ces techniques, la PCR quantitative en temps réel (qPCR) est une approche de référence permettant d'estimer la concentration de microorganismes spécifiques dans des échantillons environnementaux (Harshitha & Arunraj, 2021; Huang et al., 2024; Lee, S.-H. et al., 2010; Li, M., Wang, et al., 2021; Taylor et al., 2019).

Après avoir extrait et purifié l'ADN des échantillons, l'amplification de l'ADN peut être suivie en temps réel grâce à un signal de fluorescence émis à chaque cycle d'amplification (Higuchi et al., 1992; Holland et al., 1991; Kralik & Ricchi, 2017). La concentration bactérienne des microorganismes ciblés peut ainsi être quantifiée (Duchaine et al., 2019). L'étape de quantification est réalisée en exploitant la relation linéaire entre la quantité initiale d'ADN et le logarithme de la quantité de produit PCR durant la phase exponentielle de croissance du signal fluorescent. La

concentration des microorganismes dans l'air est exprimée en nombre de copies de gène par mètre cube d'air (CG/m^3) (Tignat-Perrier et al., 2020).

Deux principaux systèmes de fluorescence sont couramment utilisés pour détecter l'amplification de l'ADN (Huang et al., 2024):

- Le colorant intercalant SYBR Green I, qui présente une faible fluorescence à l'état libre mais dont l'intensité est fortement augmentée lorsqu'il se lie à l'ADN double brin.
- Les sondes TaqMan, qui sont dégradées lors de la formation du brin d'ADN, libérant ainsi des molécules fluorescentes. L'intensité du signal est proportionnelle à la quantité d'ADN amplifié et au nombre de sondes coupées, permettant un suivi en temps réel de l'amplification.

L'extraction permet d'isoler l'ADN à partir d'un échantillon environnemental ou biologique (Mbareche et al., 2017). La méthode d'extraction influence les résultats des analyses moléculaires notamment au niveau du rendement (Gendron et al., 2010) et de l'abondance relative des microorganismes détectés dans un échantillon (Morgan et al., 2010). L'efficacité de l'extraction varie selon le type d'organisme et sa structure cellulaire. Les échantillons d'air sont généralement fortement dilués par rapport aux échantillons d'autres environnements, ce qui peut révéler des événements rares mais aussi introduire des biais analytiques (Luhung et al., 2021; Salter et al., 2014). Par ailleurs, la préparation des échantillons joue un rôle crucial dans la précision des analyses. Il est essentiel d'optimiser l'extraction et la concentration du matériel biologique à partir des échantillons aéroportés avant d'effectuer l'analyse moléculaire, afin d'améliorer la sensibilité des résultats (Bonifait et al., 2014). L'utilisation de contrôles négatifs est indispensable pour distinguer le matériel biologique réel des contaminants issus des trousseaux d'extraction (Salter et al., 2014). La compétition entre les microorganismes ciblés et les contaminants présents dans les échantillons à faible biomasse représente un défi pour la fiabilité des résultats (Hou et al., 2023; Jurasz et al., 2021). Certains biais peuvent être normalisés afin de compenser des performances de détection qPCR moins efficaces. Il est crucial d'adapter le protocole d'extraction en fonction du type d'organisme étudié, et d'être prudent lors de la comparaison d'études utilisant des méthodes différentes.

Bien que la qPCR soit une technique présentant une grande sensibilité et spécificité, et qu'elle permet de réduire considérablement le temps d'analyse, elle présente certaines limites qui doivent être prises en compte dans son application (Mbareche et al., 2017). La mise au point d'un processus d'amplification de l'ADN est complexe et nécessite une expertise technique avancée, notamment pour la conception des amorces et des sondes fluorescentes. De plus, les colorants fluorescents, tels que SYBR Green I, peuvent se fixer à l'ADN double brin non spécifique, entraînant ainsi des faux positifs (Harshitha & Arunraj, 2021). De plus, un inconvénient majeur de la qPCR est qu'elle ne permet pas de différencier les cellules vivantes des cellules mortes (Kralik & Ricchi, 2017). En outre, ces méthodes ne permettent pas d'évaluer directement la viabilité ou l'intégrité des organismes détectés. Par ailleurs, lorsque la qPCR repose sur la détection du gène codant l'ARN ribosomique 16S, ce gène peut être présent en plusieurs copies dans le génome bactérien avec des nombres variables entre les espèces (Větrovský & Baldrian, 2013). Par conséquent, l'interprétation directe des résultats en termes de concentration cellulaire peut être biaisée, car le nombre de copies génomiques détecté ne reflète pas nécessairement le nombre réel de cellules (Kembel et al., 2012). L'utilisation de la coloration au propidium monoazide (PMA) permet une amplification spécifique par PCR en ciblant uniquement l'ADN provenant de cellules intactes, garantissant ainsi une meilleure représentation des microorganismes viables (Bonifait et al., 2014).

Les protocoles de détection moléculaire doivent être adaptés à chaque étude, en fonction des objectifs de recherche et des microorganismes ciblés. En effet, l'identification des organismes repose généralement sur l'amplification d'une région génomique spécifique, et chaque microorganisme ne possède qu'une seule région unique d'identification. De plus, toutes les régions spécifiques d'identification des microorganismes ne sont pas encore bien connues, ce qui peut limiter l'efficacité de la détection moléculaire pour certaines cibles (Mbareche et al., 2017).

Bien que les méthodes de quantification moléculaire ne fournissent pas d'informations directes sur la transmission des maladies, elles peuvent apporter néanmoins des données essentielles sur la relation entre les bioaérosols et leurs sources. Elles permettent ainsi d'évaluer la qualité de l'air, de caractériser la contamination microbiologique et d'orienter les stratégies de gestion des risques sanitaires (Mbareche et al., 2017).

Lors d'une étude en STEU, les résultats obtenus par qPCR étaient 290 fois supérieurs à ceux obtenus par méthode de culture, mettant l'accent sur la possible sous-estimation par la méthode de

culture (Rinsoz et al., 2008). Bien que la qPCR soit largement utilisée pour la quantification spécifique de certains microorganismes dans les environnements de travail (Madsen et al., 2023; Rinsoz et al., 2008), elle peut également être appliquée à une quantification totale des bactéries en ciblant des gènes universels comme le gène de l'ARNr 16S. Toutefois, cette approche peut ne pas refléter fidèlement la diversité des bactéries présentes. En parallèle, certaines études ont montré que les méthodes de culture permettaient d'isoler des bactéries qui sont peu abondantes ou difficilement détectables par les approches moléculaires, en particulier celles ciblant les séquences majoritaires (Shade et al., 2012). Ainsi, les bactéries identifiées par culture peuvent parfois échapper à la détection par qPCR, surtout lorsqu'elles représentent une fraction minoritaire de la communauté microbienne. Ces observations suggèrent que, pour obtenir une représentation fidèle de la diversité microbienne, il peut parfois être nécessaire de combiner les méthodes de culture avec les méthodes moléculaires.

2.5 Bactéries d'intérêt et émergentes dans les bioaérosols des STEU

Le choix des méthodes d'échantillonnage et de quantification devrait également tenir compte des bactéries ciblées. Grâce à des cibles qPCR mettant en évidence des séquences universelles, il est possible d'estimer le nombre de bactéries totales. Bien qu'il existe des biais à toutes les étapes, ceci est un bon compromis. Il est également possible de quantifier les concentrations de certaines bactéries opportunistes qui sont d'intérêts en raison de leur présence rapportée dans les stations d'épuration des eaux usées, comme les *mycobactéries non-tuberculeuses* (Han, Li, et al., 2020; Lou, M. et al., 2021a), *Legionella spp.* (Blatny et al., 2008; Mirzaee et al., 2015) et *Pseudomonas aeruginosa* (Fykse et al., 2013).

Le gène de l'ARN ribosomal 16S est souvent utilisé pour la classification et l'identification des bactéries. Il représente un marqueur génétique conservé chez les procaryotes permettant l'établissement des liens entre les différentes espèces. Il est considéré un bon marqueur pour quantifier les bactéries présentes en raison de son abondance dans toutes les bactéries et de sa stabilité dans le temps (Janda & Abbott Sharon, 2007).

Le gène de l'ARNr 16S possède des régions variables et des régions conservées, ce qui permet de développer des protocoles qPCR généraux ou spécifiques. D'autres gènes peuvent aussi être utilisés comme cible pour des protocoles spécifiques, dépendamment des espèces bactériennes (Fuks et al., 2018; Liu, Y. et al., 2022).

Les *mycobactéries non tuberculeuses* (*NTM*), également appelées *mycobactéries* environnementales, *mycobactéries* atypiques ou encore *mycobactéries* autres que *Mycobacterium tuberculosis*, regroupent un ensemble de *mycobactéries* distinctes de *M. tuberculosis* (Haworth et al., 2017; Sharma & Upadhyay, 2020). Ces microorganismes sont largement répandus dans l'environnement et peuvent être isolés à partir de l'air et de l'eau (Falkinham, Joseph O, 2015; Honda et al., 2018). Sur le plan taxonomique, le genre *Mycobacterium* comprend environ 200 espèces et 13 sous-espèces (Fedrizzi et al., 2017; Parte, 2018; Tortoli et al., 2017). Les *NTM* possèdent une paroi cellulaire composée d'une fine couche de peptidoglycane, entourée d'une épaisse enveloppe lipidique. Cette structure particulière leur confère une capacité d'adhésion aux surfaces rugueuses et une résistance accrue aux désinfectants, facilitant ainsi leur survie dans des conditions environnementales hostiles (Falkinham III, 2018). Grâce à ces propriétés, ces bactéries sont capables de persister dans des milieux pauvres en oxygène et en carbone, ainsi que dans d'autres environnements défavorables (Falkinham III, 2018).

Bien que les *NTM* soient généralement considérées comme moins virulentes que *Mycobacterium tuberculosis*, elles peuvent causer des infections chez l'humain, touchant aussi bien les personnes immunodéprimées que les individus immunocompétents. La gravité des infections dépend de plusieurs facteurs, notamment l'état immunitaire du patient et l'espèce de *NTM* impliquée (Sharma & Upadhyay, 2020).

Les bactéries du genre *Legionella* sont des bacilles à Gram-négatif et regroupent 66 espèces (Gattuso et al., 2022). Certaines espèces constituent un enjeu de santé publique, particulièrement pour les populations vulnérables et les environnements où les conditions favorisent la prolifération bactérienne et l'aérosolisation (Canada, P. H. A. o., 2019b). La stagnation (Pereira et al., 2021), les températures et la présence de biofilms (Abdel-Nour et al., 2013) et de sédiments (Stout et al., 1985) sont des facteurs qui favorisent la prolifération des bactéries qui servent de niches écologiques aux bactéries (WHO, 2022). Le risque d'infection dépend principalement de la concentration bactérienne présente dans l'eau et de sa dispersion sous forme d'aérosols (WHO, 2022).

La transmission se fait principalement par l'inhalation d'aérosols contaminés (Abdel-Nour et al., 2013; Winn, 1996). Les stations d'épuration des eaux usées offrent un environnement favorable à la croissance de ces bactéries et des conditions d'exposition pour les travailleurs. Une fois inhalée,

Legionella se multiplie intracellulairement au sein des macrophages alvéolaires, ce qui favorise leur persistance et leur virulence (Winn, 1996). Les bactéries *Legionella spp.* sont responsables de deux formes principales d'infection chez l'humain : la légionellose (maladie du légionnaire) et la fièvre de Pontiac (Canada, P. H. A. o., 2019b). La légionellose est une infection respiratoire sévère qui évolue vers une pneumonie. La fièvre de Pontiac, quant à elle, est une forme bénigne de l'infection, se manifestant par des symptômes pseudo-grippaux, mais sans pneumonie. Certaines populations sont plus vulnérables aux infections à *Legionella*, notamment les personnes de plus de 40 ans, avec une prédominance chez les hommes. Les fumeurs et les personnes alcooliques présentent également un risque accru en raison de la fragilité de leurs voies respiratoires. De même, les individus souffrant de maladies pulmonaires ou rénales chroniques ainsi que les patients atteints de diabète sont particulièrement sensibles aux infections par *Legionella*. Enfin, les personnes immunodéprimées, qu'il s'agisse de patients atteints de cancer, de receveurs de greffe d'organe ou de personnes sous traitements immunosuppresseurs, sont exposées à un risque plus élevé de développer des formes sévères de la maladie (Canada, A. d. l. s. p. d., 2019a).

Les bactéries *Escherichia coli* sont généralement abondantes dans les eaux usées et couramment utilisées comme indicateur de contamination fécale en raison de sa présence caractéristique dans les excréments (Chahal et al., 2016). *E. coli* ne se multiplie généralement pas dans les eaux usées, ce qui en fait un indicateur fiable de la présence de pathogènes d'origine bactérienne lors de l'évaluation de l'efficacité des procédés de traitement des eaux usées (Chahal et al., 2016). *E. coli* est une bactérie à Gram-négatif de forme bacillaire, mesurant environ 1,8 µm de long et 0,8 µm de diamètre (Berg & Berry, 2005). Ce sont des bactéries génétiquement diversifiées et majoritairement inoffensives pour la santé (Chahal et al., 2016). Elles présentent une forte capacité à être aérosolisées (Teltsch et al., 1980).

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie à Gram-négatif, aérobie et motile, de forme bacillaire et vivant librement dans divers environnements (Canada, A. d. l. s. p. d., 2010). Sa capacité d'aérosolisation en fait une cible de choix dans les stations d'épuration (Perrott et al., 2017). Elle est responsable de multiples infections chez l'humain, pouvant entraîner des complications graves. Elle est à l'origine d'infections aiguës et chroniques sévères, touchant aussi bien les individus immunocompétents que les patients immunodéprimés. Elle peut causer des pneumonies et chocs septiques, des infections urinaires et gastro-intestinales ainsi que des infections cutanées et des tissus mous (Canada, A. d. l. s. p. d., 2010).

Les infections causées par *P. aeruginosa* sont souvent invasives, toxinogènes et multi-résistantes aux antibiotiques (MDR : Multi Drug Resistant), ce qui en fait un agent majeur des infections nosocomiales. Ces infections peuvent être secondaires à d'autres pathologies aiguës ou chroniques, compliquant ainsi la prise en charge des patients.

2.5.1 Aérosolisation des bactéries d'intérêt

D'après (Wang, H. X. et al., 2004), les bactéries hydrophobes sont plus facilement aérosolisées que les bactéries hydrophiles. Les *mycobactéries non tuberculeuses* ont une paroi très riche en lipide ce que les rendent hydrophobes et favorisant leur aérosolisation de l'eau vers l'air et par conséquent, elles représentent une cible intéressante pour des études d'aérosolisation pour l'évaluation du risque d'exposition. Pour *Legionella*, *E. coli* et *P. aeruginosa*, elles sont des bactéries à Gram-négatif et qui sont, d'après (Perrott et al., 2017), plus aérosolisables que les bactéries à Gram-positif.

2.6 Les facteurs qui influencent les concentrations des bioaérosols dans l'air

La quantité de bioaérosols et leur charge en microorganismes émis dans l'air des stations d'épuration des eaux usées dépend de plusieurs facteurs.

2.6.1 Facteurs environnementaux

Parmi les facteurs environnementaux, la température, l'humidité relative, ainsi que la vitesse et la direction du vent jouent un rôle déterminant dans la concentration des bioaérosols (Kataki et al., 2022)

Plusieurs études ont rapporté que les variations de températures saisonnières avaient une influence sur l'aérosolisation des microorganismes dans les stations d'épuration des eaux usées. La majorité de ces études ont montré que les concentrations des bioaérosols émises sont plus importantes en été qu'en hiver (Duchaine et al., 2019; Fathi et al., 2017; Ghosh et al., 2015; Grisolí et al., 2009; Mbareche et al., 2022; Niazi et al., 2015; Vítězová et al., 2012). Une étude a révélé que l'indice de contamination microbienne, le "Global Index of Microbial Contamination" qui est la somme des concentrations de bactéries mésophiles, bactéries psychrophiles et microchampignons mesurées dans les échantillons d'air, était significativement plus élevé en été (4059) qu'en hiver (440). Cette augmentation marquée de la charge microbienne pendant l'été est attribuée à l'augmentation des température (Grisoli et al., 2009). Les mêmes tendances sont observées à l'échelle des procédés.

En été, la concentration en bioaérosols bactériens était de 1973 UFC m⁻³ dans le bassin d'aération et 1301 UFC m⁻³ dans l'unité de déshydratation des boues, tandis qu'en hiver, ces valeurs ont diminué à 1016 et 602 UFC m⁻³, respectivement (Niazi et al., 2015). L'étude de Dehghani et al. (2018) a mis en évidence une influence saisonnière sur la formation des bioaérosols en fonction des sites d'échantillonnage. Ainsi, les plus fortes concentrations de bactéries ont été rencontrées au niveau de la pompe à vis au printemps (1738 UFC m⁻³), du bassin d'aération en hiver (1363 UFC m⁻³) et du bassin de sélection en automne (2581 UFC m⁻³)(Dehghani et al., 2018). Une étude menée par Fracchia et al. (2006) a montré que l'impact saisonnier sur la concentration des bioaérosols varie selon le type de contaminant microbien, sans toutefois permettre d'établir un modèle saisonnier clair (Fracchia et al., 2006).

L'humidité relative (HR) figure parmi les principaux facteurs qui influencent les concentrations des bioaérosols dans l'air (Karra & Katsivela, 2007). Les concentrations des bioaérosols et l'humidité relative ont été corrélées dans une étude menée par (Mbareche et al., 2022). Karra et al. ont expliqué cette corrélation par la protection des microorganismes en suspension dans l'air lorsque l'humidité relative est élevée (supérieure à 50 %). Dans ces conditions, les microorganismes absorbent l'eau présente dans l'atmosphère, ce qui contribue à leur protection contre l'inactivation, notamment face aux effets des rayons UV (Karra & Katsivela, 2007; Perrott et al., 2017).

La vitesse et la direction du vent sont également des facteurs déterminants influençant directement la dispersion des bioaérosols autour des stations d'épuration des eaux usées (Fathi et al., 2017; Wang, Yanjie, Lan, et al., 2018a). Les concentrations en bioaérosols dans l'air ambiant sont souvent plus élevées dans la direction du vent à partir de la station (Renee & Mark, 2008), mettant ainsi en évidence les stations d'épuration des eaux usées comme des sources des bioaérosols. L'étude de Cronholm (1980) a mis en évidence la dispersion à longue distance des bactéries aerosolées, pouvant être récupérées jusqu'à 930 m sous le vent (Cronholm Lois, 1980). Cette observation suggère que les bactéries peuvent être transportés sur de grandes distances, augmentant ainsi le risque d'exposition dans les zones avoisinantes.

La distance par rapport à la source d'émission engendre également une décroissance de la concentration des bioaérosols (Kataki et al., 2022). En effet, lorsque la distance double, la concentration des bioaérosols diminue exponentiellement d'un facteur de 3 log, traduisant une

réduction significative de la charge microbienne en suspension dans l'air (Kataki et al., 2022). Cette atténuation s'explique par plusieurs mécanismes, notamment la sédimentation gravitationnelle des particules, la dilution par dispersion atmosphérique, ainsi que l'inactivation des microorganismes sous l'effet des conditions environnementales.

2.6.2 Effet des composants chimiques sur les bioaérosols

Les bioaérosols contiennent divers composés chimiques qui ont un impact significatif sur la dynamique des communautés microbiennes en suspension (Kataki et al., 2022; Xu, P. et al., 2020). Parmi ces composants, les plus couramment retrouvés incluent le carbone total (CT), le carbone organique total (COT) et plusieurs ions hydrosolubles tels que NH_4^+ , K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NO_3^- , SO_4^{2-} et Cl^- , ainsi que d'autres éléments traces comme Fe, P, Al, K, Ti, V, Zn, Rb, S, Si, Li et U. La proportion de ces composants varie en fonction de la source d'émission des bioaérosols (Yang, T., Han, et al., 2019). La présence de carbone organique total (COT), d'ammonium (NH_4^+), de chlorure (Cl^-) et de calcium (Ca^{2+}) dans l'aérosol peut influencer la survie et la dispersion des microorganismes aéroportés (Han, Yang, Xu, et al., 2020). Ces facteurs combinés contribuent à la détermination des concentrations des bioaérosols, leur potentiel de dispersion atmosphérique et, par conséquent, leur impact sur la santé humaine et l'environnement. L'étude de Han et al. (2018) a mis en évidence des corrélations entre certaines compositions chimiques des bioaérosols et la présence de pathogènes potentiels (Han et al., 2018). Une corrélation positive a notamment été observée entre la concentration en Cl^- et la présence des genres bactériens *Arcobacter*, *Aeromonas*, *Bacteroides* et *Prevotella*. De même, une association positive a été identifiée entre le carbone organique total (COT) et vingt-six isolats bactériens des genres *Arcobacter*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Bacteroides* et *Prevotella* ainsi qu'une corrélation significative avec NH_4^+ et Ca^{2+} (Han, Yang, Xu, et al., 2020).

2.7 Mesures de contrôle des bioaérosols dans les stations d'épuration des eaux usées

Les mesures de contrôle des bioaérosols mises en place dans les stations d'épuration des eaux usées reposent principalement sur des recommandations générales par des organismes et ministères (Exemple au Québec : Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST), Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques

(MELCC)) (APSAM, 2023; MELCCFP, 2023d). L'optimisation de ces stratégies est importante afin de limiter la dispersion aéroportée des agents pathogènes présents dans l'environnement des stations d'épuration pour protéger les travailleurs et les zones avoisinantes.

2.7.1 Optimisation des systèmes d'aération

Les équipements mécaniques utilisés dans le traitement des eaux usées sont une source majeure de production et de dispersion de bioaérosols dans l'air environnant (Fathi et al., 2017). L'aération étant une étape essentielle du traitement des eaux usées, le choix du mode d'aération et du type d'aérateur joue un rôle clé dans la réduction des émissions de bioaérosols (Brandi et al., 2000; Chen, Y.-h. et al., 2021; Han, Yang, Yan, et al., 2020; Sanchez-Monedero et al., 2008).

L'aération submergée (ou en profondeur) est recommandée dans les stations d'épuration, car elle génère moins de bioaérosols que l'aération de surface (Korzeniewska, Ewa, 2011). Une réduction de 99 % de la charge microbienne aéroportée a été observée après le passage d'un système d'aération à grosses bulles à un procédé d'élimination biologique des nutriments utilisant l'aération à fines bulles (Fernando & Fedorak, 2005). Les concentrations en microorganismes dans l'air ont chuté de 1000-1800 UFC m^{-3} à 24-37 UFC m^{-3} près des bassins d'aération. Cette réduction est due à la formation de grosses gouttelettes épaisse et adhérente dans l'aération à grosses bulles (bulles de 8 à 10 mm) par rapport à l'aération à fines bulles (bulles de 1 à 2 mm), qui génère moins de turbulence à la surface de l'eau et, par conséquent, moins d'émission de bioaérosols (Fernando & Fedorak, 2005). Dans une autre étude, l'émission de bioaérosols est passée de 450- 4580 UFC m^{-3} avec les systèmes mécaniques, à 22-57 UFC m^{-3} avec les diffuseurs d'air, des niveaux comparables à ceux enregistrés dans des zones de référence éloignées des sources d'émission (Sanchez-Monedero et al., 2008). Des concentrations plus élevées de bactéries, de champignons, de coliformes et de staphylocoques ont également été observées lorsque les boues étaient oxygénées mécaniquement, en comparaison à un système d'aération à fines bulles (Brandi et al., 2000). Enfin, les résultats de Heinonen-Tanski et al. (2009) indiquent que l'aération avec un aérateur à brosse ou un système de stripping d'air génère davantage de bioaérosols qu'un diffuseur à bulles fines (Heinonen-Tanski, Helvi et al., 2009b). Cependant, Carducci et al. (2000) ont constaté que l'aération par bulles sous pression dans une station d'épuration ne produisait pas d'augmentation significative de la contamination microbienne de l'air autour des bassins

d'aération, démontrant ainsi l'impact des conditions spécifiques de chaque installation sur la génération de bioaérosols (Carducci et al., 2000).

2.7.2 Ventilation

L'échange d'air dans un bâtiment correspond au renouvellement de l'air intérieur par l'air extérieur. Ce processus est essentiel pour limiter l'accumulation de dioxyde de carbone (CO_2) et d'autres contaminants biologiques (Canada, S., 2023b). Il permet également de réduire la concentration des polluants émis par des sources inertes à l'intérieur du bâtiment. Lorsque l'air extérieur est exempt de contaminants, une augmentation du taux de renouvellement de l'air améliore la qualité de l'air intérieur. Toutefois, dans des conditions climatiques défavorables, le taux d'échange d'air est souvent réduit afin de limiter la consommation excessive d'énergie (Canada, S., 2023b).

Dans certaines situations, l'air extérieur contient des polluants dont les concentrations sont élevées, ce qui peut engendrer une contamination de l'air intérieur. Ainsi, l'échange d'air peut devenir une source de pollution intérieure, introduisant des polluants issus de l'environnement extérieur (Canada, S., 2023b).

L'échange d'air dans les bâtiments peut se produire selon trois mécanismes principaux (Canada, S., 2018):

1. L'infiltration : Il s'agit d'une pénétration incontrôlée de l'air extérieur à travers l'enveloppe du bâtiment (fuites au niveau des portes, fenêtres, murs, etc.).
2. La ventilation naturelle : Elle se fait par l'ouverture intentionnelle de fenêtres ou d'autres ouvertures conçues pour la circulation de l'air.
3. La ventilation mécanique : Elle est assurée par des ventilateurs ou des systèmes de traitement de l'air, permettant de forcer l'évacuation et l'apport d'air.

Le taux d'échange d'air est un indicateur clé pour évaluer la qualité de l'air intérieur d'un bâtiment. Il correspond au rapport entre le volume d'air renouvelé et le volume total du bâtiment (Canada, S., 2018). Le taux d'échange d'air définit l'échelle de temps caractéristique pour l'élimination des impuretés présentes dans l'air intérieur (Nazaroff, 2016). Toutefois, l'élimination suit une décroissance exponentielle, et non linéaire. Ainsi, l'optimisation du taux de renouvellement de

l'air est une stratégie clé pour maintenir une bonne qualité d'air intérieur, en particulier dans les environnements où les sources de polluants sont significatives (Nazaroff, 2016).

L'optimisation de la ventilation dans les stations d'épuration des eaux usées (STEU) est une mesure essentielle pour limiter la dispersion des bioaérosols et assurer un environnement de travail sain. Un système de ventilation efficace, garantissant un apport suffisant en air extérieur propre et réduisant la recirculation de l'air intérieur, permet de limiter l'exposition des travailleurs aux microorganismes pathogènes en suspension (Guo et al., 2014; Heinonen-Tanski, Helvi et al., 2009b). L'augmentation du taux de renouvellement d'air par des systèmes de ventilation mécanique ou naturelle constitue une solution efficace pour diluer les bioaérosols et améliorer la qualité de l'air ambiant (Cox et al., 2020; Ghosh et al., 2015).

Les recherches menées par Oppliger et al. (2005) ont mis en évidence une concentration nettement plus élevée de bactéries aéroportées dans les zones fermées que dans les espaces ouverts d'une station d'épuration (Oppliger, 2005). En particulier, les concentrations mesurées à proximité des grilles de filtration de l'eau brute dans un espace fermé étaient significativement plus élevées que celles relevées au niveau des bassins d'aération exposés à l'air libre (en moyenne 10 268 UFC/m³ vs 2 218,5 UFC/m³, respectivement, pour les valeurs combinées des campagnes d'été et d'hiver). Ces résultats soulignent l'importance de ventiler correctement les zones à l'intérieur afin d'éviter une accumulation excessive de bioaérosols (Oppliger, 2005). Dans une autre étude, une aération prolongée de quatre heures a permis une réduction de plus de 60 % de la concentration en microorganismes en suspension par rapport aux valeurs initiales dans une station d'épuration avec bassins d'oxydation (Guo et al., 2014). Ces résultats montrent que l'absence de ventilation adéquate (mal conçue ou un système sous-performant) dans une station d'épuration favorise l'accumulation des contaminants microbiens, augmentant ainsi les risques sanitaires pour les travailleurs.

Une approche intégrée combinant la réduction des émissions à la source, l'amélioration des systèmes de ventilation et l'évaluation des risques microbiologiques permettrait d'atténuer les effets des bioaérosols pathogènes sur la santé humaine (Singh et al., 2021).

2.7.3 Confinement des unités de traitement et autres stratégies de contrôle

Les stations d'épuration des eaux usées (STEU) comportent généralement des bassins et réservoirs ouverts, ce qui favorise la dispersion aérienne des microorganismes issus des eaux usées. Pour

réduire cette dispersion, plusieurs stratégies sont suggérées, notamment la couverture des clarificateurs primaires, la protection des zones de déversoir contre le vent, ainsi que l'usage de collecteurs d'effluent submergés (Brown, 1997; Fathi et al., 2017).

Des solutions complémentaires permettent également de limiter l'aérosolisation des gouttelettes au-dessus de la surface de l'eau. Brown (1997) recommande l'utilisation de grilles en maille simple ou tressée, de couches de fibres, de mousses ou de granulés, ainsi que de plaques plates ou de pulvérisation d'eau sur les gouttelettes pour réduire l'exposition aux microorganismes en suspension. Une étude réalisée par Korzeniewska et al. (2009) a observé une diminution marquée de la formation de bioaérosols et de la charge microbienne aéroportée après la couverture des bassins d'aération dans une station d'épuration utilisant un système fermé de traitement BIO-PAK. Cependant, pour les bassins d'aération, les couvertures doivent être légères ou articulées, afin de permettre un entretien régulier et éviter une réduction du flux d'oxygène, ce qui pourrait altérer l'efficacité du procédé d'aération (Fernando & Fedorak, 2005). Duchaine et al. en 2019 ont indiqué aussi que le confinement ou l'extraction de l'air à la source sont des méthodes efficaces à réduire significativement les concentrations des bioaérosols.

Le confinement des procédés n'étant pas toujours possible, d'autres techniques peuvent être utilisée. L'utilisation de balles flottantes à la surface de l'eau permet de limiter la formation de bioaérosols lors du processus d'aération. Une étude menée par Hung et al. (2010) a démontré que des balles d'un diamètre de 1,9 cm couvrant l'intégralité de la surface des bassins d'aération permettaient de réduire la formation de bioaérosols de plus de 90 %. Toutefois, cette stratégie présente certaines limites, notamment le risque de déplacement des balles sous l'effet de l'aération, l'obstruction possible des systèmes d'aération mécanique, et la nécessité d'un remplacement fréquent des balles flottantes (Hung et al., 2010). Bauer et al. (2002) suggèrent également de réduire la surface d'eau libre afin de minimiser la libération de microorganismes aéroportés dans l'environnement des stations d'épuration.

2.7.4 Technologies de filtration et de purification de l'air

L'intégration de technologies avancées de filtration et de désinfection de l'air permettrait de renforcer l'efficacité de la ventilation générale. Morawska et Milton (2020) recommandent notamment l'adoption de systèmes d'extraction localisée qui capturent les bioaérosols directement à la source, l'installation de filtres HEPA (High Efficiency Particulate Air) pour éliminer

efficacement les particules en suspension, ainsi que l'usage de lampes UV germicides, capables d'inactiver les microorganismes aéroportés (Morawska & Milton, 2020). L'intégration de technologies de filtration et de désinfection par UV germicides ou oxydation photocatalytique est une approche en plein développement (Han et al., 2018).

L'irradiation UV est l'une des méthodes les plus largement utilisées pour réguler les bioaérosols en intérieur (Kataki et al., 2022). Son efficacité dépend de plusieurs paramètres, dont la dose d'UV administrée, l'humidité de l'environnement, la circulation de l'air et la taille de l'espace traité (Lee, B. U., 2011). Cette technologie est particulièrement intéressante en raison de son faible coût énergétique et de ses propriétés respectueuses de l'environnement. Par ailleurs, plusieurs autres technologies peuvent être employées pour capturer et éliminer les bioaérosols (Brown, 1997) : sédimentation des gouttelettes, séparateurs cycloniques multiples , laveurs d'air (scrubbers) (Liu, J., Kang, et al., 2020), précipitateurs électrostatiques et filtres en tissu (Han, Li, et al., 2020). Enfin, l'adsorption par le charbon actif a été identifiée comme une solution efficace pour réduire les concentrations de bioaérosols. Li et al. (2011) ont démontré que le charbon actif permettait d'adsorber plus de 85 % des bactéries et champignons aéroportés issus des bassins d'oxydation après 80 heures d'opération (Kataki et al., 2022).

2.8 Normes et réglementations

Plusieurs des mesures et interventions décrites ont été implantées dans les STEU au Québec pour limiter le risque d'exposition des travailleurs aux bioaérosols : confinement des équipements et procédés, sectionnement des espaces, utilisation d'équipement de protection personnelle, ventilation et changements d'air, filtration de l'air, traitement des gaz et odeurs. Ces mesures visent la réduction des émissions à la source, la dilution des concentrations dans l'air et la protection individuelle des opérateurs (MELCCFP, 2023b).

Au Québec, le Règlement sur la santé et la sécurité du travail (S-2.1, r.13) établit des exigences minimales en matière de renouvellement d'air, définies en fonction de l'usage des bâtiments et des salles. Toutefois, aucune norme spécifique n'est précisée pour les stations d'épuration des eaux usées. Pour cette raison, il est important de déterminer des indicateurs de risque d'exposition aux bioaérosols ainsi que les facteurs influençant la dilution des concentrations de bioaérosols dans l'air au sein des stations d'épuration des eaux usées, afin d'identifier les risques associés et d'explorer des moyens efficaces de les réduire.

À l'échelle internationale, des organismes tels que l'American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) préconisent un taux minimal de quatre renouvellements d'air par heure (Hygienists, 1998). Cette recommandation vise à garantir une ventilation efficace, essentielle pour limiter l'exposition des travailleurs aux contaminants aéroportés et assurer un environnement de travail sécuritaire.

La mise en place de mesures appropriées peut réduire remarquablement les effets et le risque liés à l'exposition (Heng et al., 1994). Des études ont montré que lorsque des conditions et environnements de travail appropriés étaient mis en place, il n'y avait pas de différence par rapport à l'incidence des expositions respiratoires entre les personnes exposées et les personnes non exposées (Kataki et al., 2022).

CHAPITRE 3 MÉTHODOLOGIES SUIVIES POUR L'ENSEMBLE DU MÉMOIRE DE RECHERCHE

Ce chapitre présente les différentes étapes réalisées tout au long du projet, en détaillant les stratégies, les protocoles, la méthodologie et le matériel utilisés.

3.1 Déroulement du projet

Ce projet s'est déroulé sur une période de deux ans et a été structuré en deux phases principales. Il repose sur les hypothèses suivantes :

- Les stations d'épuration des eaux usées représentent des sources de bioaérosols
- Ces bioaérosols sont générés lors des procédés de traitement des eaux ou des boues
- Différents facteurs environnementaux et d'opération influencent les concentrations des bioaérosols, notamment :
 - Les facteurs d'aérosolisation
 - Les facteurs de dilution
- Il est possible d'identifier des indicateurs des concentrations bactériennes dans l'eau et dans l'air

3.1.1 Phase I : Échantillonnage des bioaérosols dans quinze stations d'épuration des eaux usées au Québec

La première phase de ce projet visait à :

- Sélectionner les stations pour l'échantillonnage en fonction d'une série de critères
- Caractériser les stations sélectionnées afin d'identifier les procédés à échantillonner et les facteurs pouvant influencer les résultats
- Procéder à l'échantillonnage et à l'analyse des résultats pour sélectionner les stations en vue de la deuxième phase
- Identifier les indicateurs permettant d'évaluer le niveau de risque d'exposition aux bioaérosols, y compris ceux liés aux concentrations bactériennes dans les eaux usées et dans l'air, à l'aérosolisation, à la dilution des concentrations bactériennes, ainsi que les facteurs environnementaux influençant ces concentrations dans l'air, et ce, à différentes étapes des procédés de traitement, tant à l'intérieur qu'à l'extérieur des installations

Mise en place et organisation

Lors de la première étape, une vingtaine de stations ont été identifiées en tenant compte de critères tels que leur localisation, le type de traitement, la répartition des procédés en intérieur ou en extérieur et le débit journalier traité. Parmi ces 22 stations ciblées, 15 ont été sélectionnées selon un ordre de priorité. Leur participation a été confirmée après prise de contact avec les responsables concernés.

Des visites exploratoires ont été réalisées par l'équipe de recherche dans quatre de ces stations et des présentations sur site ont également été organisées pour trois autres stations afin de leur exposer en détail les objectifs de l'étude. En parallèle, une revue de la littérature sur les thématiques liées au projet a été réalisée afin d'affiner les approches méthodologiques et d'optimiser les stratégies d'échantillonnage.

Préparation et déroulement de l'échantillonnage

En début de cette phase, une étape préliminaire a été réalisée en collaboration avec l'équipe de l'Université Laval (partenaire du projet), au cours de laquelle l'échantillonnage de l'air et de l'eau a été testé et adapté aux procédés de traitement. Cette démarche visait à assurer la conformité des méthodes d'échantillonnage avec les critères établis préalablement et à optimiser les procédures expérimentales avant le démarrage officiel des campagnes d'échantillonnage. L'organisation avec les 15 stations participantes a permis d'établir un calendrier d'échantillonnage. Les prélèvements ont été effectués du 5 juillet au 3 août 2023, aboutissant à la collecte de 83 échantillons d'air et 84 échantillons d'eau, de boues, de filtrat de boues ou de médias de biofiltres. Une caractérisation physico-chimique de tous les échantillons d'eaux usées a été réalisée selon la méthodologie décrite dans la section 3.2.3 et une analyse microbiologique a été effectuée pour tous les échantillons d'air et d'eau selon les méthodes décrites en 3.2.4.

Sélection des points d'échantillonnage

Avant de commencer l'échantillonnage, une visite a été effectuée dans chaque station afin d'identifier les procédés susceptibles de générer des bioaérosols en collaboration avec un opérateur. Les procédés échantillonnés (Tableau 3.1) ont été sélectionnés s'ils répondaient à un ou plusieurs des critères suivants :

- Traitement des eaux usées ou des boues

- Présence d'une agitation de surface, des chutes d'eau, de boues ou de déchets, des vapeurs visibles ou des microgouttelettes perceptibles sur la peau
- Aération du procédé
- Configuration spatiale du processus, environnements intérieurs vs extérieurs et ouverts vs confinés
- Passages fréquents ou tâches effectuées par les travailleurs

Tableau 3.1 Caractéristiques des 15 stations d'épurations étudiées

No. STEU	Taille	Type du traitement	Débit d'affluent (m ³)	Température (°C)	Pluviométrie (mm)	Procédés ou points échantillonnées	Localisation des procédés
1	Très grande	Boues activées	54678	24,8	0	Dégrilleur, Benne à déchets, dessableur, bassin de boues activées, décanteur	Intérieur et Extérieur
2	Grande	Physico-chimique	22242	26	0	Dégrilleur, dessableur, spray contrôlant les écumes, bassin de flocculation, décanteur	Intérieur
3	Grande	Biofiltration	20710	24,4	DM	Dessableur, décanteur, UV, biofiltre en fonction normal, dégrilleur	Intérieur
4	Très grande	Boues activées	46555	21	DM	Dégrilleur, bassin de pré-mélange, dégrilleur d'effluents industriels, bassin de boues activées	Intérieur et Extérieur
5	Grande	Biofiltration	32473	23	DM	Dégrilleur, dessableur, mélangeur rapide, biofiltre en lavage, biofiltre en fonction normal, pressoir à boues	Intérieur
6	Grande	Biofiltration	36732	21,25	DM	Dégrilleur, dessableur, biofiltre en fonction normal, biofiltre en lavage, UV, vis d'Archimède	Intérieur et Extérieur
7	Très grande	Physico-chimique	DM	21,25	0	Dégrilleur, puits de relèvement, pressoir à boues, UV, séchoirs à boues	Intérieur
8	Grande	Physico-chimique	18500	22,3	0	Dégrilleur, dessableur, mélangeur rapide, UV	Intérieur
9	Moyenne	Boues activées	12480	22,05	3,1	Dégrilleur, boues activées, canal Parshall, vis d'Archimède, décanteur	Intérieur et Extérieur
10	Grande	Boues activées	19212	21,5	0	Dégrilleur, dessableur, réacteur de boues actives en phase de sédimentation, réacteur de boues activées en phase d'aération, flottateur à air dissous, pressoir à boues	Intérieur et Extérieur
11	Très grande	Biofiltration	187320	23,6	1	Vis d'Archimède, biofiltre en fonction normal, biofiltre en lavage, dessableur, dégrilleur, décanteur primaire	Intérieur
12	Très grande	Physico-chimique	3120339	18,5	2,1	Canal d'aménée d'affluent, dessableur, spray contrôlant les écumes, pressoir à boues par débattement, convoyeur de boues vers l'incinérateur	Intérieur et Extérieur
13	Grande	Biofiltration	43379	15,6	0	Dessableur, biofiltre en fonction normal, biofiltre en lavage, UV, épaisseur circulaire à boues, digesteur à boues, canal Parshall-Dessableur	Intérieur et Extérieur
14	Grande	Physico-chimiques	37093	17,8	0	Dégrilleur, mélangeur rapide, dessableur, UV, pressoir à boues, benne à boues	Intérieur et Extérieur
15	Très grande	Physico-chimique	282726	19,5	DM	Dessableur, pressoir rotatif à boues, convoyeur des eaux usées vers le dégrilleur, épaisseur circulaire à boues, décanteur	Intérieur

Pluviométrie : quantité de précipitation (mm) enregistrée par la station météorologique la plus proche de chaque station d'épuration des eaux usées correspondante pendant la journée de l'échantillonnage.

DM : Données manquantes

La classification des stations d'épuration a été établie en fonction du débit moyen annuel (Q) (MELCC, 2022) :

- Très petite station : $10 \text{ m}^3/\text{j} < Q < 500 \text{ m}^3/\text{j}$
- Petite station : $500 \text{ m}^3/\text{j} < Q < 2\,500 \text{ m}^3/\text{j}$
- Station de taille moyenne : $2\,500 \text{ m}^3/\text{j} < Q < 17\,500 \text{ m}^3/\text{j}$
- Grande station : $17\,500 \text{ m}^3/\text{j} < Q < 50\,000 \text{ m}^3/\text{j}$
- Très grande station : $Q > 50\,000 \text{ m}^3/\text{j}$

Les 15 stations sélectionnées présentent des différences en ce qui concerne les types de traitement employés (physico-chimique, biofiltration ou boues activées), les procédés spécifiques présents dans chaque station, leur répartition spatiale (à l'intérieur ou en extérieur à l'air libre), ainsi que leur taille, définie selon le débit journalier moyen d'affluent (MELCC, 2019a).

La température extérieure ambiante et les millimètres de pluie reçus la journée de l'échantillonnage ont également été documentés (Tableau 3.1).

Les vitesses des vents lors de l'échantillonnage des procédés extérieurs de chaque station ont été enregistrées à partir des stations météorologiques les plus proches disposant de ces données (Environnement et ressources naturelles, 2025).

Deux stagiaires d'été ont participé à cette première phase et leur contribution a été précieuse, notamment pour l'échantillonnage et les différentes manipulations en laboratoire. Leur implication a constitué une réelle valeur ajoutée à la réussite de cette première phase. Enfin, cette phase s'est conclue par une série de présentations des résultats aux partenaires, offrant une première analyse des tendances observées et facilitant la préparation de la deuxième phase du projet.

3.1.2 Phase 2: Suivi temporel de six stations d'épuration

Lors de cette seconde phase, les procédés sélectionnés dans les stations retenues ont fait l'objet de cinq campagnes d'échantillonnage, portant sur l'air et sur les eaux usées, les boues, les filtrats de boues ou encore les médias des biofiltres en automne 2023 (1x), en hiver 2024 (2x) et en été 2024 (2x). L'analyse des échantillons et résultats générés lors de cette seconde phase se poursuivent pour les deux doctorants travaillant sur le même projet. Bien que les résultats issus de cette phase ne soient ni présentés ni discutés dans ce mémoire, ils ont contribué à une meilleure compréhension et à une analyse plus approfondie des résultats de la première phase. Cette seconde phase permettra

d'approfondir l'analyse des facteurs influençant les concentrations bactériennes en suspension dans l'air et d'identifier les processus les plus susceptibles de générer des bioaérosols.

3.2 Échantillonnage de l'air et de l'eau

Au niveau de chaque site d'échantillonnage, des prélèvements d'air et d'eau ont été réalisés simultanément.

3.2.1 Échantillonnage de l'air

Le SASS 3100 a été utilisé pour réaliser l'échantillonnage de l'air. Cet échantilleur électrostatique à sec est conçu pour capturer efficacement les bioaérosols et s'est révélé plus performant que les échantilleurs cycloniques liquides comme le SASS 2300 et le Coriolis pour obtenir une meilleure représentativité des microorganismes présents dans l'air (Bøifot, Kari Oline et al., 2020; Cayouette et al., 2022; Mbareche et al., 2018; Ouradou et al., 2023). Son débit plus élevé (300 L/min) permet de capturer un large spectre d'unités taxonomiques opérationnelles (OTUs), jusqu'à 200 OTUs bactériens de plus dans les stations d'épuration que les échantilleurs liquides (Mbareche et al., 2018). Cette caractéristique en fait une alternative efficace pour l'étude de l'exposition aux bioaérosols dans les stations de traitement des eaux usées, où les concentrations microbiennes peuvent être faibles (Bøifot, Kari Oline et al., 2020; Cayouette et al., 2022; Ouradou et al., 2023). Cependant, la méthode de collecte et d'extraction des particules collectées sur le filtre électrostatique ne permet pas de maintenir la viabilité et l'intégrité des microorganismes récupérés, rendant impossible une quantification par méthode de culture. Une optimisation rigoureuse des protocoles de récupération et d'analyse est nécessaire afin d'assurer une quantification fiable et représentative des microorganismes collectés (Bøifot, K. O. et al., 2024; Dybwad et al., 2014). Un volume de 18 m³ d'air a été collecté à chaque point d'échantillonnage à l'aide du SASS 3100 (Static Dry Air Sampler SASS Particle Extractor, Research International, Inc., Monroe, WA, USA) pendant une heure. L'échantilleur était placé sur un trépied à une hauteur de 120 à 150 cm, correspondant à la zone respiratoire des opérateurs. Le SASS était pré-programmé pour maintenir un temps et un débit d'échantillonnage constants. Le SASS a été placé le plus près possible de la région qui génère les bioaérosols.

Lors de l'échantillonnage de l'air, des précautions particulières ont été prises afin d'éviter toute contamination et de tenir compte des conditions environnementales.

Un contrôle terrain a été effectué pour chaque station afin d'évaluer toute contamination potentielle liée à l'échantillonneur ou survenant durant le transport des échantillons d'air. Ce contrôle correspond à un blanc constitué d'un filtre électrostatique placé sur l'échantillonneur SASS avant le début de l'échantillonnage pour chaque station, puis manipulé comme les autres échantillons. Les concentrations microbiennes mesurées sur ces filtres blancs ont ensuite été soustraites des concentrations obtenues dans les échantillons réels.

Les contrôles intérieurs ont été effectués dans des zones non exposées aux processus de traitement, telles que la salle de commande et un atelier mécanique au sein des stations.

En parallèle de l'échantillonnage d'air, des mesures d'humidité relative ont été prises à proximité des sites d'échantillonnage pour assurer une meilleure représentativité. Un psychomètre (modèle Psychro-dyne, Novalynx Corporation) a été utilisé pour ces mesures.

3.2.2 Échantillonnage des eaux usées

Un échantillon d'eau a été prélevé sur chaque site sélectionné, au même moment que l'échantillonnage de l'air. Le point d'échantillonnage a été choisi dans la zone la plus agitée du bassin ou à l'endroit où l'eau présentait le plus fort potentiel de génération de bactéries, tout en restant à proximité de l'échantillonneur d'air afin d'assurer une meilleure représentativité des prélèvements.

Les échantillons ont été collectés à l'aide d'une chaudière ou d'une perche nettoyée. Lorsque plusieurs zones d'un même procédé présentaient un potentiel élevé d'aérosolisation, et que l'échantillonneur d'air était positionné entre ces points, un échantillon composite de 1 litre d'eaux usées a été prélevé à partir de ces sites.

Concernant les procédés de traitement des boues, environ 100 g de boues ont été prélevés, en complément de 1 litre de filtrat. Lorsque l'accès au procédé le permettait, les deux types d'échantillons (filtrat et boues) étaient collectés afin d'évaluer leur contribution potentielle à la contamination microbienne de l'air.

3.2.3 Caractérisation physico-chimique des eaux usées

Des analyses physico-chimiques ont été réalisées sur les échantillons d'eaux usées afin de mesurer les matières en suspension (MES), les matières volatiles en suspension (MVES), le pH et la

turbidité. Ces mesures ont été réalisées au laboratoire immédiatement après l'échantillonnage, le jour même.

Les concentrations en MES et en MVES ont été déterminées conformément aux méthodes recommandées par le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (Québec, 2015).

Le pH des échantillons d'eau a été mesuré à l'aide du pH-mètre SevenCompact de Mettler Toledo, en suivant les instructions du fabricant.

La turbidité a été mesurée dans les échantillons d'eaux usées et de filtrat de boues à l'aide d'un turbidimètre de laboratoire 2100N (EPA 180.1, 230 V).

Les échantillons de boues n'ont pas été soumis à une caractérisation physico-chimique.

3.2.4 Traitement des échantillons d'air et d'eaux usées : Concentration et quantification

Les échantillons d'air (les filtres électrostatiques) ont été élués dans un volume de 10 mL du tampon d'élution (PBS, Triton-X-100 et eaux MilliQ). Ils ont ensuite été placés dans un vortex multitubes réglé à vitesse maximale pendant 10 minutes (HT-200 Multi-tube Vortex Digital Display Mixer T15, spécifications 50*15 mm). Par la suite, le liquide a été centrifugé à 20 000 g pendant 10 minutes, sur deux cycles. Après chaque cycle, le surnageant a été éliminé. À l'issue de cette concentration, seul le concentré a été conservé dans un congélateur à -80°C en attente de l'étape d'extraction d'ADN. Un blanc de laboratoire et le contrôle terrain ont été manipulés de la même manière que les autres échantillons.

Les échantillons d'eaux usées ou de filtrats de boues ont été concentrés par centrifugation à 15 000 g durant deux cycles à partir du volume initial collecté. Seulement 250 mg du concentré final ont été conservés, en raison de la limite maximale de masse imposée par la trousse d'extraction d'ADN.

L'extraction de l'ADN des échantillons d'air et d'eau a été réalisée à l'aide de trousse DNeasy PowerSoil Pro Kit, selon les instructions du fabricant, avec une modification à la première étape qui consiste au transfert de 800 µL de la première solution en deux étapes successives (400 µL chacune) afin d'optimiser la récupération du concentré. L'extraction consiste à commencer par la lyse des échantillons dans un tube PowerBead Pro avec un tampon d'extraction, suivie d'une agitation vigoureuse sur vortex pour briser les cellules. Après une centrifugation initiale pour éliminer les débris solides, le surnageant est récupéré et purifié à l'aide de solutions de précipitation

et de lavage spécifiques en plusieurs étapes. L'ADN est ensuite fixé sur une colonne de purification par filtration, lavé avec des tampons appropriés et finalement élué dans une solution sans EDTA.

Il est à noter que les compositions chimiques de ces solutions ne sont pas connues (le fabricant ne dévoilant pas les compositions chimiques des solutions d'extraction). Après extraction, l'ADN était stocké à -80°C. Les concentrations des différentes bactéries ont été quantifiées par qPCR (Tableau 3.2). La concentration totale en bactéries a été déterminée en ciblant le gène de l'ARNr 16S suivant le protocole de (Bach, H.-J. et al., 2002a). Les *mycobactéries non tuberculeuses* (NTM) ont été estimées selon le protocole développé par Haig et al. (Haig, S.-J., Kotlarz, LiPuma John, et al., 2018). Les concentrations d'*Escherichia coli* ont été déterminées selon Shannon et al. (Shannon et al., 2007). La quantification de *Pseudomonas aeruginosa* a suivi le protocole adapté de Malinen et al. (Malinen et al., 2003). Les espèces de *Legionella* ont été quantifiées à l'aide de trousse Microproof® *Legionella* Quantification LyoKit - 5'Nuclease (Biotecon Diagnostics®, Potsdam, Allemagne) selon les instructions du fabricant (Ouradou et al., 2023). Les informations sur les qPCR sont présentées dans le Tableau 3.2.

Tableau 3.2 Caractéristiques et informations sur les qPCR des différentes cibles microbiologiques

Cible	Gène	Informations sur les qPCR
<i>Bactéries totales</i>	16S rRNA (Bach, H. J. et al., 2002b)	<u>Séquence amorce Sens (F)</u> : GAC ARC CAT GCA SCA CCT G <u>Séquence amorce Anti-sens (R)</u> : GGT AGT CYA YGC MST AAA CG Sonde : FAM/TKC GCG TTG/ZEN/CDT CGA ATT AAW CCA C/3IABkFQ <u>Mix-réactionnel</u> : 1000nM sens + anti-sens amores, 100nM sonde, 12,5µL 2X BioRad iQ™ supermix (BioRad Laboratoires®, Hercules, California, USA), 6,75µL d'eau sans ADN et 5µL de l'ADN de l'échantillon dans 25µL au total <u>Thermoprotocole</u> : 95°C pour 3 minutes + 40 cycles de 95°C pour 20s et 62°C pour 60s avec lecture de fluorescence
<i>Mycobacéries non-tuberculoses</i>	rpoB (Haig, S. J., Kotlarz, LiPuma, et al., 2018)	<u>Séquence amorce Sens (F)</u> : CGG YGC CGG TAT CGG YGA <u>Séquence amorce Anti-sens (R)</u> : CGAA GAC GAA CAR SGC CAT <u>Mix-réactionnel</u> : 500nM sens+ anti-sens amorce, 0,5µL de BSA 20mg/mL (Thermo Fisher Scientific®, Waltham, Massachusetts, USA), 10µL of 2X BioRad EvaGreen MasterMix (BioRad Laboratories®, Hercules, California, USA), 5,5µL de l'eau sans ADN et 2µL de l'ADN de l'échantillon dans 20µL au total <u>Thermoprotocole</u> : 95°C pour 5 minutes + 40 cycles de 95°C pour 20 s, 57°C pour 30 s, et 72°C pour 30 s avec lecture de fluorescence

Tableau 3.2 Caractéristiques et informations sur les qPCR des différentes cibles microbiologiques (suite).

Cible	Gène	Informations sur les qPCR
<i>Legionella species</i>		<u>Kit commercial</u> : Microproof® <i>Legionella</i> Quantification LyoKit - 5'Nuclease (Biotecon Diagnostics®, Potsdam, Allemagne) <u>Thermoprotocole</u> : 37 °C durant 4 minutes, 95 °C pendant 5 minutes + 50 cycles d'amplification, 95 °C pendant 5 s, 60 °C pendant 60 s, 72 °C pendant 60 s, avec détection de la fluorescence 25µl par puits
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	regA (Malinen et al., 2003)	<u>Séquence amorce Sens (F)</u> : 5'-TGCTGGTGGCACAGGACAT-3' <u>Séquence amorce Anti-Sens (R)</u> : 5'-TTGTTGGTGCAGTCCTCATG-3' <u>Séquence Sonde</u> : 5'-CAGATGCTTGCCTCAA-3' <u>Mix-réactionnel</u> : Par réaction (20µl par puits) : iQ supermix (2×) 10 µl, Amorces F & R (solution mère : 50 µM, concentration finale à atteindre : 0,3 µM) 0,12 µl, Sonde (solution mère : 100 µM, concentration finale à atteindre : 0,06 µM) 0,012 µl, H2O Sigma (pour biologie moléculaire), 7,87 µl d'échantillon (ADN) <u>Thermoprotocole</u> : 95°C 3 min, 95°C pour 15s, 60°C pour 60 s, 40 cycles
<i>Escherichia coli</i>	ybbW (Shannon et al., 2007)	<u>Séquence amorce Sens (F)</u> : 5'- TGA TTG GCA AAA TCT GCC CG -3' <u>Séquence amorce Antisens (R)</u> : 5'- GAA ATC GCC CAA ATC GCC AT -3' <u>Sonde</u> : 5'- /56-FAM/ CCG CCG AAA /ZEN/ ACG ATA TAG ATG CAC GG /3IABkFQ/ -3' <u>Mix-réactionnel</u> : (Total par puits : 18µL) : iQ™ Supermix :10 µL, Amorces F + R : 0,1µL, Sonde 10 µm : 0,1µL, Eau Sigma :7,8µL 50 µm <u>Thermoprotocole</u> : 95°C pour 3 minutes + 40 cycles : 95°C pour 15 s, 62°C pour 1 minute, détection de la fluorescence.

Les informations sur les qPCR 16S et NTM ont été tirées de (Ouradou, 2023).

3.3 Analyse qualitative et semi-qualitative

Dans le cadre de cette étude, plusieurs critères jugés susceptibles de favoriser l'aérosolisation et le transfert des microorganismes de l'eau vers l'air ont été définis. Ces critères incluent l'agitation des eaux de surface (brassage, mélange, turbulence), l'aération des procédés, les chutes d'eau, de boues ou de déchets, ainsi que la présence visible de vapeur et/ou la perception de microgouttelettes sur la peau. Chaque critère a été évalué séparément sur une échelle de 0 à 5.

1. Agitation des eaux de surface : Ce critère prend en compte le mouvement des eaux induit par un brassage mécanique, un mélange ou une turbulence. Un score de 0 est attribué à un milieu calme sans agitation, tandis qu'un score de 5 correspond à une perturbation maximale du bassin.

2. Chutes d'eau ou de boues ou de déchets : Un score de 0 est attribué aux procédés sans chute, tandis qu'un score de 5 est réservé aux procédés présentant les chutes les plus importantes en nombre et/ou en taille.
3. Aération des procédés : Un score de 0 est attribué aux procédés non aérés, alors qu'un score de 5 est réservé aux procédés dont le fonctionnement repose sur une aération par insufflation d'air, succion ou brassage.
4. Vapeur/microgouttelettes : Un score de 0 est attribué aux procédés ne présentant aucune vapeur visible à l'œil nu ni de microgouttelettes ressenties sur la peau, tandis qu'un score de 5 correspond aux observations maximales de ces phénomènes.

Ces quatre facteurs combinés constituent le paramètre d'aérosolisation, défini comme la moyenne des scores attribués à chacun d'eux.

Deux facteurs jugés favorables à une réduction des concentrations de bioaérosols dans l'air ont également été évalués et notés sur une échelle de 0 à 5 :

1. Configuration spatiale : Ce facteur prend en compte la disposition de l'environnement autour du procédé et son potentiel à piéger ou à disperser les bioaérosols. 0 correspond à un espace très ouvert, soit une configuration spatiale maximale (par exemple, un espace extérieur à l'air libre). À l'opposé, 5 correspond à une configuration spatiale très restreinte.
2. Taux de ventilation : Ce critère évalue l'efficacité du renouvellement de l'air dans la zone où se trouvent les procédés investigués. 0 correspond à un taux maximal de ventilation (par exemple, ventilation naturelle en milieu extérieur à l'air libre), tandis que 5 correspond à l'extrême opposé, soit une absence complète ou quasi complète de ventilation.

La combinaison de ces deux critères constitue le paramètre de dilution, calculé comme la moyenne des scores de ces deux facteurs. Par ailleurs, la relation entre les taux de changement d'air et les concentrations bactériennes dans l'air a également été explorée.

Le potentiel d'exposition est défini comme la moyenne entre le paramètre d'aérosolisation et le paramètre de dilution. Ces trois paramètres (aérosolisation, dilution et potentiel d'exposition) sont également exprimés en pourcentage.

L'ensemble des scores a été attribué initialement par l'équipe d'échantillonnage, puis discuté et ajusté avec les opérateurs des stations, soit directement sur site, soit lors de rencontres et d'entretiens. Ces rencontres ont eu lieu avec les gestionnaires et opérateurs des stations, qui jouent un rôle central dans cette étude. L'activité d'évaluation qualitative des procédés a favorisé un dialogue enrichissant avec les opérateurs et gestionnaires des stations, qui pourra contribuer à la mise en place de mesures préventives adaptées pour réduire l'exposition aux bioaérosols dans les stations de traitement des eaux usées. Ces échanges ont permis de :

- Présenter les résultats préliminaires obtenus lors de la première phase.
- Favoriser une compréhension approfondie des procédés grâce à une grille d'évaluation contenant des critères notés de 0 à 5 pour mesurer leur potentiel d'aérosolisation et les facteurs de dilution associés. Ces scores ont été discutés et validés avec les gestionnaires et opérateurs.
- Expliquer des écarts de concentrations observés par rapport aux attentes, aux valeurs rapportées dans la littérature et aux différences entre les saisons.
- Analyser de façon détaillée du fonctionnement des procédés étudiés.
- Collecter des documents techniques sur la ventilation, le taux de renouvellement d'air, la superficie des bassins, les volumes des pièces, les cycles de fonctionnement des biofiltres, etc.
- Identifier les préoccupations des travailleurs concernant l'exploitation et la maintenance des procédés, ainsi que les risques liés aux activités à proximité de certaines zones (intérieur vs extérieur, zones mortes de ventilation, situations à risque, etc.).

Les résultats de l'évaluation qualitative ont ensuite été étudiés en lien avec les résultats microbiologiques afin d'approfondir la compréhension des mécanismes d'aérosolisation et de dilution des microorganismes. Toutes les analyses portant sur l'effet des eaux usées, des facteurs d'aérosolisation et de dilution sur les concentrations bactériennes dans l'air ont été restreintes aux procédés intérieurs et ouverts, afin de préserver l'hypothèse selon laquelle les concentrations

bactériennes dans l'air sont influencées par la présence des bactéries dans les eaux usées. Ainsi, les procédés extérieurs, fermés ou confinés ont été exclus de ces analyses.

3.4 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec GraphPad Prism 10.4.1. Un test de normalité de Shapiro-Wilk a été appliqué, révélant une distribution non normale ($p < 0,05$), justifiant l'utilisation de l'analyse de corrélation non paramétrique. Les relations entre variables ont été évaluées par le coefficient de corrélation de Spearman (ρ), avec un seuil de signification statistique $\alpha = 0,05$.

Pour les graphiques de type boîtes à moustaches, chaque boîte représente l'écart interquartile, c'est-à-dire l'intervalle entre le premier quartile (Q1, correspondant au 25 ème percentile) et le troisième quartile (Q3, correspondant au 75 ème percentile). La ligne horizontale au centre de chaque boîte indique la médiane. Les moustaches, quant à elles, représentent les valeurs minimales et maximales observées pour chaque type de microorganisme.

CHAPITRE 4 RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'étude des bactéries dans l'eau et dans l'air permet de mieux comprendre leur dynamique au sein des stations d'épuration des eaux usées et d'identifier les facteurs influençant leur aérosolisation et leur dispersion. Les sections suivantes portent sur l'analyse des concentrations bactériennes mesurées dans l'eau et dans l'air, ainsi que sur l'évaluation des paramètres physico-chimiques et des processus impliqués dans l'aérosolisation et la dilution des bioaérosols.

4.1 Bactéries dans les eaux usées

L'analyse des concentrations microbiennes dans les eaux et/ou dans les boues a été effectuée aux différentes étapes du traitement.

Les bactéries totales, les mycobactéries non tuberculeuses (NTM), Legionella spp., Escherichia coli et Pseudomonas aeruginosa ont été quantifiées dans les 84 échantillons d'eaux usées prélevés à différentes étapes du traitement (Figure 4.1).

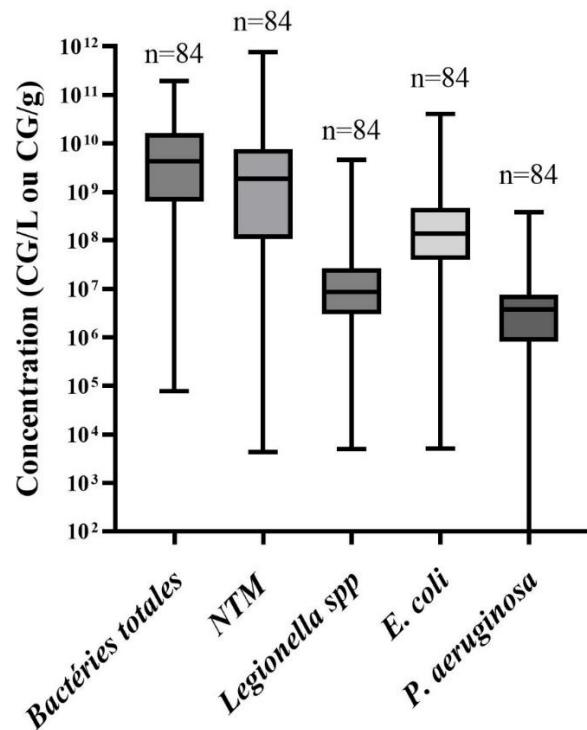


Figure 4.1 Concentrations des microorganismes ciblés dans les échantillons d'eaux usées, de boues, de filtrats de boues et/ou de média de biofiltres, prélevés à différents procédés des 15 stations étudiées

Dans cette figure, les variations des concentrations des différentes cibles sont présentées sous forme de boîtes à moustaches. Cependant, il convient de noter que cette analyse repose uniquement sur l'analyse descriptive des différences de concentrations, sans que des tests statistiques aient été réalisés pour évaluer la significativité de ces variations. Par conséquent, bien que des différences visibles entre les concentrations des cinq cibles soient perceptibles, il n'est pas possible de conclure que ces différences sont statistiquement significatives sans une analyse statistique plus approfondie.

La concentration la plus élevée parmi les microorganismes étudiés est observée pour les *bactéries totales*, avec une médiane d'environ 10^{10} CG/L ou CG/g et des valeurs s'étendant approximativement de 10^5 à près de 10^{11} CG/L ou CG/g. Les *mycobactéries non tuberculeuses* (NTM) présentent également des concentrations élevées, avec une médiane proche de 10^9 CG/L ou CG/g et une plage allant d'environ 10^4 à 10^{11} CG/L ou CG/g. La concentration médiane de *Legionella spp.* est d'environ 10^7 CG/L ou CG/g, avec une variabilité allant d'environ 10^4 à 10^{10} CG/L ou CG/g. Pour *E. coli*, la médiane est proche de 10^8 CG/L ou CG/g avec une étendue approximative de 10^4 à 10^{11} CG/L ou CG/g. Enfin, *Pseudomonas aeruginosa* montre les concentrations les plus faibles avec une médiane située autour de 10^6 CG/L ou CG/g et une plage étendue de 10^2 à environ 10^9 CG/L ou CG/g, indiquant une variabilité importante des concentrations mesurées.

Parmi les bactéries étudiées, NTM et *E. coli* se sont révélées abondantes dans les eaux usées, ce qui correspond aux résultats obtenus pour *E. coli* dans d'autres études (Chahal et al., 2016; Hendricks & Pool, 2012; Raven et al., 2019). *P. aeruginosa* et *Legionella spp.* sont détectées fréquemment à des concentrations faibles, ce qui limite leur efficacité en tant qu'indicateurs microbiens (Amha et al., 2017; Roulová et al., 2022; van den Berg et al., 2023).

Les résultats élevés observés pour les NTM comparativement aux résultats en bactéries totales suggèrent une possible surestimation. L'utilisation d'une qPCR SYBR Green est moins spécifique qu'une qPCR TaqMan, utilisant une sonde spécifique à l'amplicon ciblé. Si l'amplicon ciblé présente des similarités avec des séquences dans le génome d'autres bactéries, une amplification non spécifique est possible. Une qPCR utilisant une sonde TaqMan spécifique serait une première étape pour valider les résultats obtenus.

Afin d'évaluer si le suivi des *bactéries totales* pourrait être représentatif des bactéries opportunistes, un test de corrélation de Spearman a révélé des corrélations significatives (Figure 4.2).

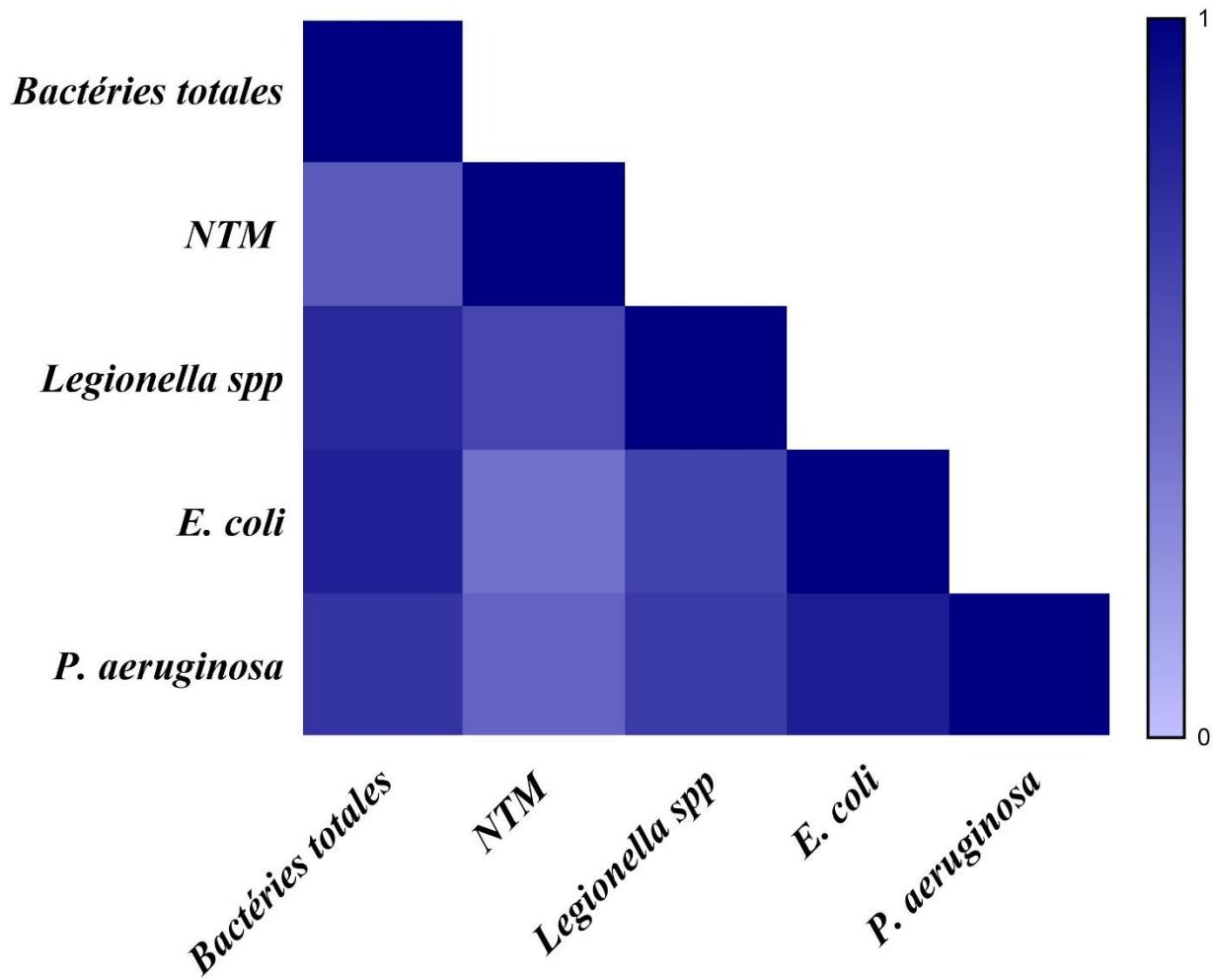


Figure 4.2 Heatmap des corrélations entre les *bactéries totales*, *mycobactéries non tuberculeuses* (*NTM*), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella spp.* dans les eaux usées des 15 stations d'épuration (n = 77)

La Figure 4.2 met en évidence les relations entre ces microorganismes dans les eaux usées.

Cette analyse des corrélations montre des liens significatifs entre les concentrations des *bactéries totales* et celles des autres cibles mesurées. La corrélation la plus élevée est observée entre les *bactéries totales* et *E. coli* ($r = 0,8270$), suivie par *Legionella spp.* ($r = 0,7853$) et *P. aeruginosa* (r

= 0,7254). La corrélation est plus modérée, mais demeure significative, entre les *bactéries totales* et les *mycobactéries non tuberculeuses (NTM)* avec un coefficient $r = 0,5296$. Ces résultats suggèrent une tendance générale selon laquelle une augmentation des concentrations en *bactéries totales* est associée à une augmentation des concentrations des autres microorganismes ciblés.

La corrélation entre ces bactéries dans les eaux usées (Figure 4.2) suggère que les *bactéries totales* peuvent servir d'indicateurs pour les bactéries opportunistes et pathogènes, simplifiant la surveillance microbiologique sans nécessiter d'analyses systématiques sur plusieurs cibles.

La grande variabilité observée pour la concentration de chacune des cibles est liée à l'évolution des concentrations entre les différentes stations et à travers les étapes de traitement qui vise à réduire la charge bactérienne avant le rejet vers le milieu récepteur (Amha et al., 2017; Makuwa et al., 2023; Pallares-Vega et al., 2019; Shannon et al., 2007).

Une analyse des résultats a été réalisée en fonction des étapes de traitement des eaux usées, à savoir la Vis d'Archimède, qui représente les eaux brutes entrant dans la station d'épuration, le prétraitement, le traitement primaire et secondaire (combinés), le traitement tertiaire et enfin les étapes de traitement des boues (Figure 4.3). Cette analyse a été réalisée pour les 9 stations disposant d'un traitement secondaire afin d'assurer une représentation à travers les différentes étapes du traitement.

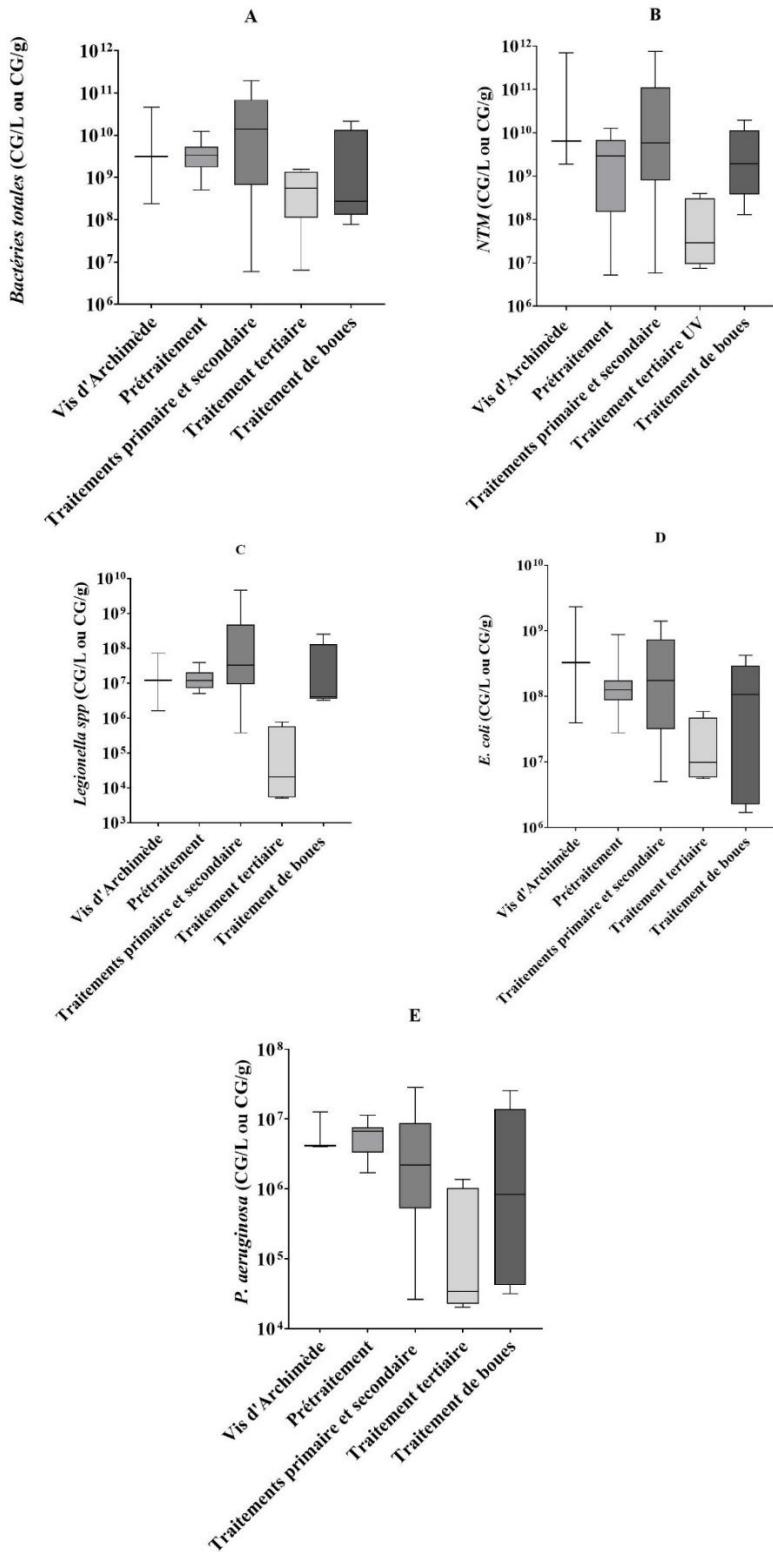


Figure 4.3 Évolution des concentrations microbiennes aux différentes étapes du traitement des eaux usées de 9 STEU. Les cibles analysées comprennent *bactéries totales* (16S rRNA) (A), les

mycobactéries non tuberculeuses (NTM) (B), *Legionella spp.* (C), *Escherichia coli* (*E. coli*) (D) et *Pseudomonas aeruginosa* (E). Pour l'ensemble des cinq cibles étudiées, les nombres d'échantillons analysés étaient les suivants : vis d'Archimède (n = 3), prétraitement (n = 14), traitement primaire et secondaire (n = 13), traitement tertiaire (n = 4) et traitement des boues (n = 5)

Dans la Figure 4.3, les variations des concentrations des *bactéries totales*, des *mycobactéries non tuberculeuses (NTM)*, des *Legionella spp.*, des *E. coli* et des *P. aeruginosa* entre les différentes étapes de traitement sont présentées sous forme de boîtes à moustaches. Cependant, il convient de noter que cette analyse repose uniquement sur l'analyse descriptive des différences de concentrations, sans que des tests statistiques aient été réalisés pour évaluer la significativité de ces variations. Par conséquent, bien que des différences visibles entre les étapes de traitement soient perceptibles, il n'est pas possible de conclure que ces différences sont statistiquement significatives sans une analyse statistique plus approfondie.

Les tendances observées sont similaires entre les différentes cibles. Au niveau de la Vis d'Archimède, qui correspond aux eaux brutes entrant dans la station d'épuration, les concentrations en *bactéries totales* sont très élevées, ce qui est attendu étant donné la diversité bactérienne présente dans les eaux usées domestiques et industrielles. De plus, ces eaux n'ont pas encore été soumises à des étapes de traitement. Une forte dispersion des valeurs est également observée, témoignant des variations des charges bactériennes entre les différentes stations. Le prétraitement, bien qu'il n'ait pas pour objectif premier l'élimination des bactéries, entraîne une légère diminution de la médiane des concentrations. Cette réduction pourrait être attribuée à la sédimentation de certaines bactéries attachées aux particules solides éliminées. La variabilité des concentrations demeure élevée, indiquant une hétérogénéité importante des charges microbiennes. Le traitement primaire et secondaire combinés montrent une augmentation de la médiane des *bactéries totales*, ce qui peut être expliqué par plusieurs facteurs : (1) la prolifération des bactéries hétérotrophes dans les bassins de traitement secondaire, qui dégradent la matière organique (Quach-Cu et al., 2018); (2) l'agrégation des bactéries en biofilms au sein des flocs biologiques, ce qui entraîne leur maintien dans l'effluent (Cydzik-Kwiatkowska & Zielińska, 2016) ; et (3) la lyse bactérienne qui libère des fragments de cellules détectés par la qPCR (Nocker & Camper, 2006). Une diminution marquée des concentrations est observée après le traitement tertiaire, accompagnée d'une réduction

importante de la variabilité. Cela traduit l'efficacité des étapes précédentes dans l'élimination des bactéries avant le rejet final des eaux.

Le traitement des boues montre une augmentation des concentrations bactériennes, ce qui était attendu, puisque les boues concentrent les bactéries éliminées au cours des traitements précédents. (Chen, Y. C. et al., 2011; Miguel et al., 2020) ont indiqué les boues d'épuration contiennent de fortes densités bactériennes par rapport à toutes les étapes de traitement. Les étapes d'épaississement et de déshydratation sont aussi connues pour avoir de fortes concentrations de bactéries (S. Fane, 2020). Les procédés de traitement des boues constituent un milieu propice à la survie et à la prolifération des bactéries ainsi qu'une source de nutriments (S. Fane, 2020). Ces résultats soulignent l'importance d'un traitement adapté des boues pour limiter les risques sanitaires liés à leur gestion.

4.1.1 Corrélation entre les bactéries et les paramètres physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques qui ont été évalués sont les matières en suspension (MES), les matières volatiles en suspension (MVES), la turbidité et le pH (Tableau B.1). Ces paramètres sont connus pour influencer la dynamique des microorganismes dans les eaux usées en jouant un rôle dans leur transport, leur sédimentation et leur persistance. La quantification des MES et des MVES dans les échantillons d'eaux usées à faible charge a été rendue possible en augmentant le volume analysé. Pour les échantillons à forte charge, la turbidité a pu être mesurée grâce à l'extension de la courbe d'étalonnage jusqu'à 2106 NTU, complétée par une dilution préalable des échantillons fortement concentrés.

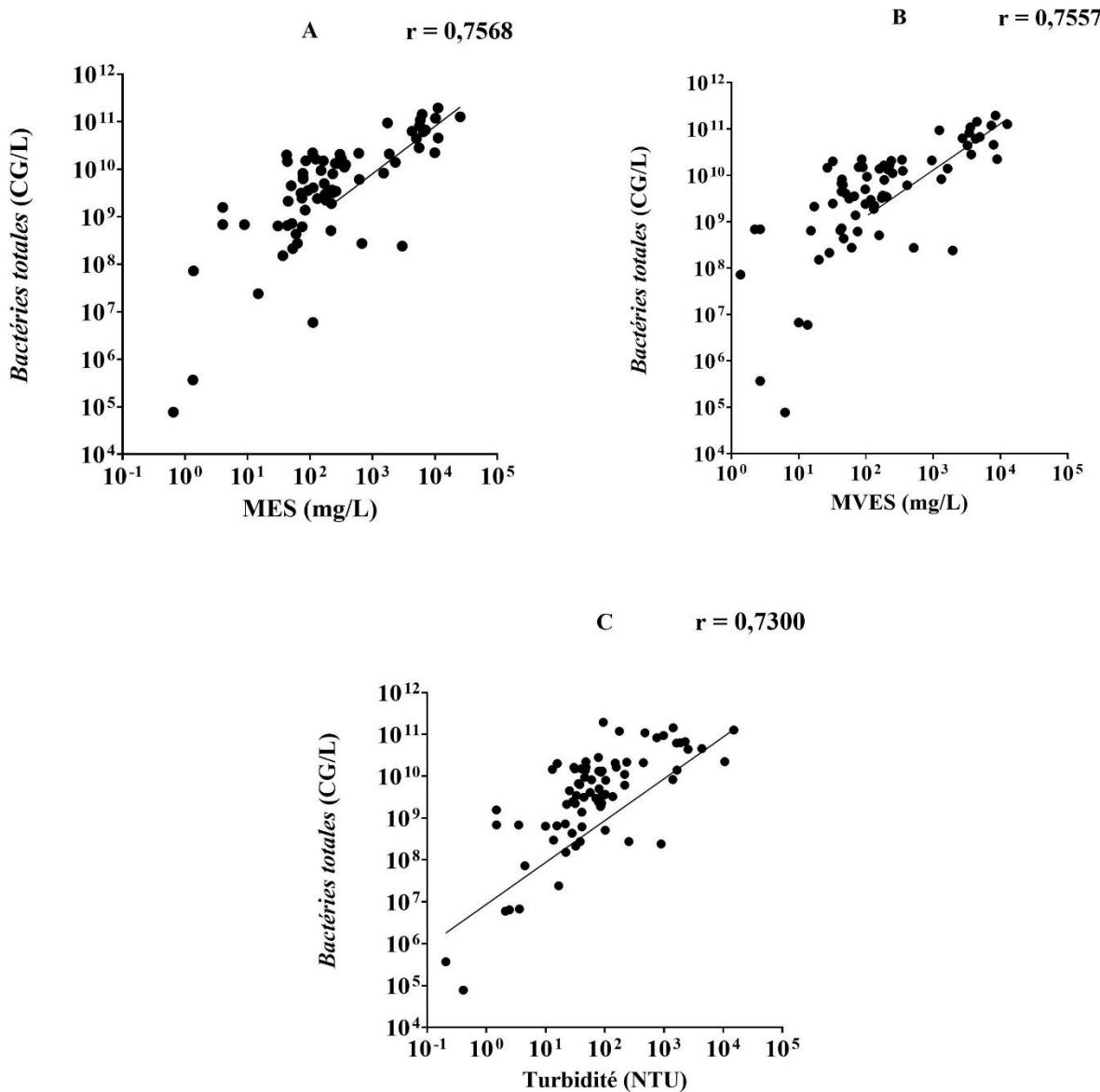


Figure 4.4 Corrélation entre les matières en suspension (MES) (A), les matières volatiles en suspension (MVES) (B), la turbidité (C) et le pH (D) dans les eaux usées et les *bactéries totales*

La Figure 4.4 révèle des corrélations significatives et positives entre les concentrations en *bactéries totales* et les trois paramètres physico-chimiques étudiés (MES, MVES et turbidité). Les matières en suspension (MES, $r = 0,7568$), les matières volatiles en suspension (MVES, $r = 0,7557$) et la turbidité ($r = 0,7300$). Ces résultats indiquent que l'augmentation des MES et des MVES est

fortement associée à une augmentation des concentrations bactériennes, ce qui souligne leur pertinence en tant qu'indicateurs fiables de la charge microbienne dans les eaux usées analysées. De même, la turbidité, malgré une corrélation légèrement plus faible, corrèle significativement avec la concentration bactérienne, confirmant son utilité comme indicateur indirect de la concentration microbiologique dans les eaux usées. La relation entre les MES et les bactéries dans les eaux usées concorde avec les résultats obtenus dans les eaux de ruissellement pluvial, où les MES sont corrélées avec les bactéries indicatrices de contamination (Galfi et al., 2013). Ce phénomène est cohérent avec les travaux de Nola et al. qui ont démontré que la rétention bactérienne dans le sol est influencée par les interactions électrostatiques et physico-chimiques avec les particules solides, indépendamment de leur nature organique ou minérale (Nola, Moïse et al., 2004; Nola, M. et al., 2006). Ces résultats concordent avec ceux d'Irvine et al. (2002), qui ont mis en évidence une forte corrélation entre les concentrations des matières en suspension (MES), la turbidité et les coliformes fécaux, avec des coefficients de corrélation variant entre 0,46 et 1,0. Par ailleurs, Yücesoy et al. (2012) ont également rapporté que les matières volatiles en suspension (MVES) constituent un bon indicateur de la biomasse bactérienne dans les eaux usées (Irvine et al., 2002; Yücesoy et al., 2012).

Un traitement efficace des eaux usées permettant de réduire les MES, les MVES et la turbidité pourrait être une solution efficace pour diminuer à la source la concentration en bactéries (Chahal et al., 2016; Fernandes et al., 2024; Jover-Smet et al., 2017). Les mêmes tendances ont été observées pour *NTM*, *Legionella spp.*, *E. coli* et *P. aeruginosa* (Annexe B).

4.2 Bactéries dans l'air

Les *bactéries totales*, les *NTM*, *Legionella spp.*, *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ont été quantifiées dans les échantillons d'air prélevés aux différentes étapes des procédés des stations de traitement des eaux usées (STEU) (Figure 4.5).

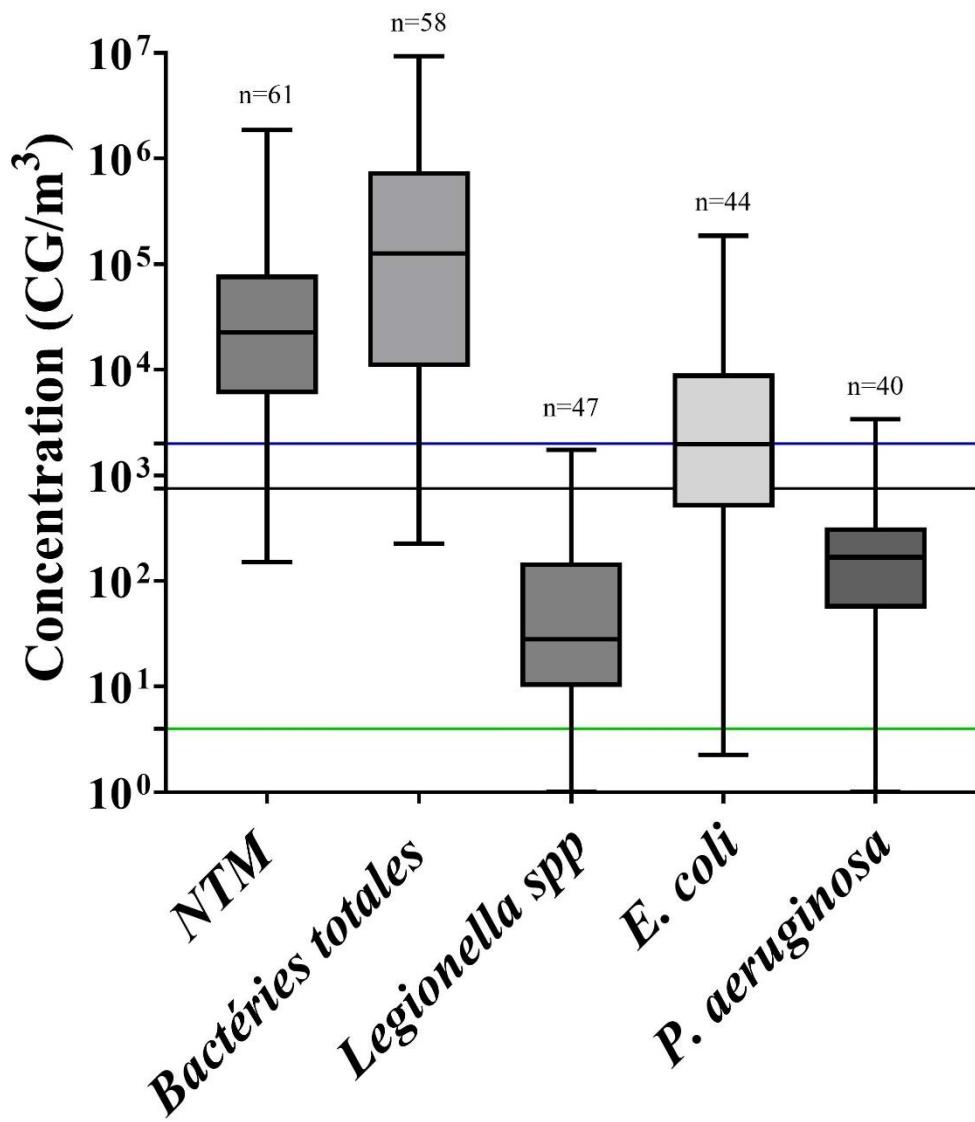


Figure 4.5 Comparaison des concentrations de *bactéries totales*, de *mycobactéries non tuberculeuses* (*NTM*), de *Legionella spp.*, d'*Escherichia coli* et de *Pseudomonas aeruginosa* dans les échantillons d'air prélevés. Les lignes horizontales indiquent les concentrations des cibles microbiologiques dans les contrôles intérieurs : la ligne noire correspond aux *bactéries totales*, la ligne bleue aux *NTM* et la ligne verte à *E. coli*. *Legionella spp* et *P. aeruginosa* n'ont pas été détectées dans l'air des contrôles intérieurs.

Dans cette figure, les variations des concentrations des différentes cibles sont présentées sous forme de boîtes à moustaches. Cependant, il convient de noter que cette analyse repose uniquement sur l'analyse descriptive des différences de concentrations, sans que des tests statistiques aient été

réalisés pour évaluer la significativité de ces variations. Par conséquent, bien que des différences visibles entre les concentrations des cinq cibles soient perceptibles, il n'est pas possible de conclure que ces différences sont statistiquement significatives sans une analyse statistique plus approfondie.

Les concentrations bactériennes mesurées dans l'air au niveau des procédés de traitement étaient significativement plus élevées que celles observées dans les échantillons de contrôle en intérieur. Ces contrôles ont été réalisés dans des pièces isolées des zones de traitement, telles que la salle de contrôle des opérateurs et l'atelier mécanique. Ces résultats confirment que les concentrations élevées proviennent effectivement des procédés de traitement.

Les concentrations moyennes des *NTM* dans l'air étaient de l'ordre de 10^4 CG/m³, avec une plage de variation allant de 10^2 à 10^6 CG/m³. Les *bactéries totales* présentaient les concentrations les plus élevées, avoisinant 10^5 CG/m³ en moyenne, avec une dispersion importante comprise entre 10^2 et 10^7 CG/m³. *Legionella spp.* affichaient les concentrations les plus faibles, autour de 10^1 CG/m³, avec des valeurs extrêmes allant de 2 CG/m³ (soit environ la moitié de la limite basse de détection) jusqu'à 10^3 CG/m³. Les concentrations moyennes de *E. coli* étaient de l'ordre de 10^3 CG/m³, avec des variations comprises entre des niveaux très faibles proches de 0 (comparables à ceux observés pour *Legionella spp.*) et un maximum de 10^5 CG/m³. Enfin, *P. aeruginosa* présentait une concentration moyenne de l'ordre de 10^2 CG/m³, avec une plage relativement étroite, allant de valeurs très faibles proches de 0 à un maximum de 10^3 CG/m³.

4.2.1 Corrélations entre les bactéries dans l'air

La corrélation entre les différentes cibles dans l'air a été évaluée par le test de corrélation de Spearman, avec un seuil de signification de 0,05 et un intervalle de confiance de 95 %. Les résultats ont révélé des corrélations positives significatives entre ces bactéries (Figure 4.6).

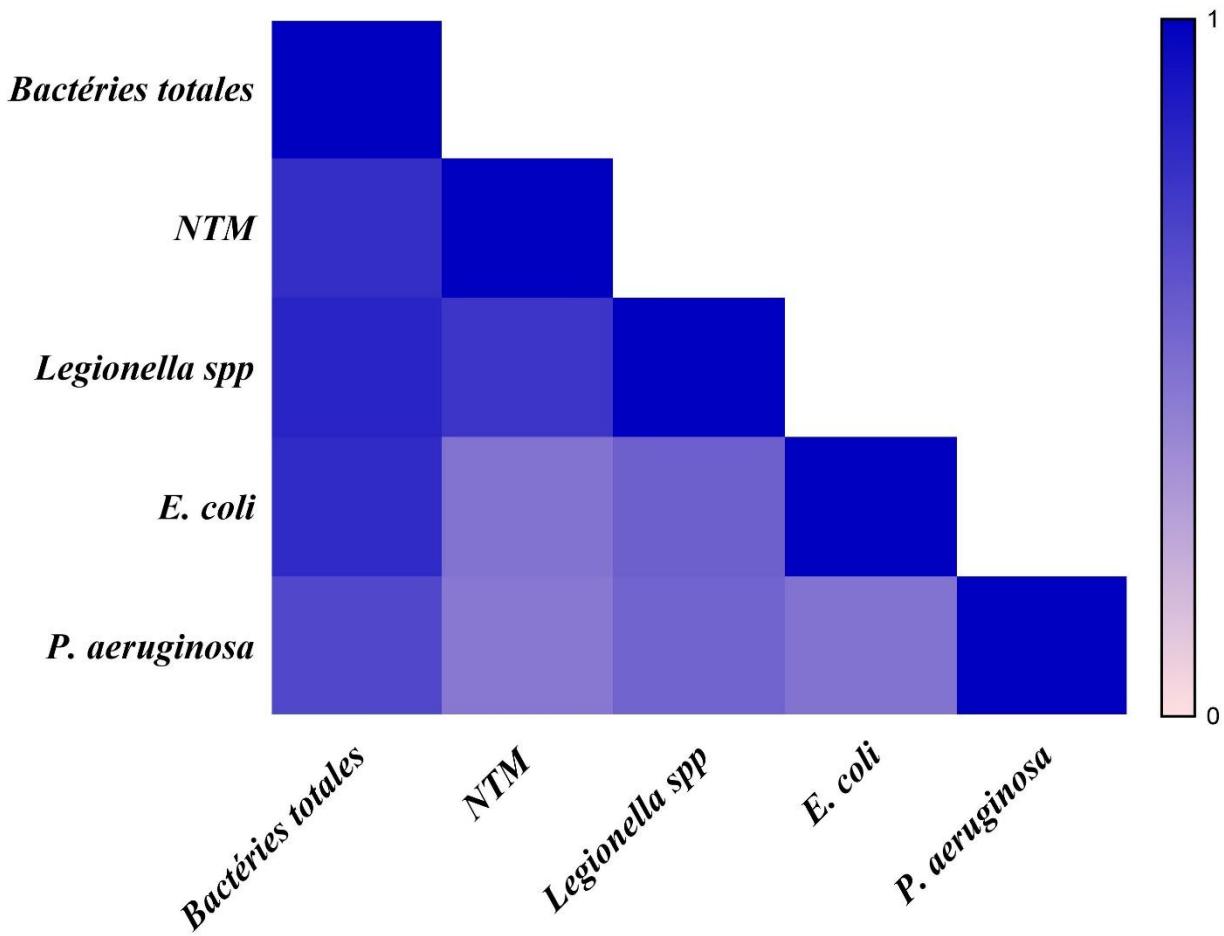


Figure 4.6 Heatmap des corrélations entre les *bactéries totales*, *mycobactéries non tuberculeuses* (*NTM*), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella spp.* dans l'air des 15 stations d'épuration

Comme observé dans l'eau, *E. coli* s'est révélé être un bon indicateur des concentrations de *bactéries totales* dans l'air, avec une forte corrélation ($r = 0,8116$). *Legionella spp.* a également montré une bonne corrélation avec les *bactéries totales* ($r = 0,8392$). Les *NTM* et *P. aeruginosa* étaient également corrélés aux *bactéries totales* dans l'air, mais avec des coefficients de corrélation légèrement plus faibles ($r = 0,7941$ et $r = 0,6815$, respectivement).

4.2.2 Analyse des concentrations des *bactéries totales* et des *mycobactéries non tuberculeuses (NTM)* dans l'air aux différentes étapes du traitement

Cette analyse a été réalisée uniquement sur les stations disposant d'un traitement biologique afin d'assurer une représentation plus précise des résultats à travers les différentes étapes du traitement. De plus, la représentation des autres cibles n'a pas été possible en raison du faible nombre d'échantillons positifs.

La Figure 4.7 illustre l'évolution des concentrations des *bactéries totales* (16S rRNA) et des *mycobactéries non tuberculeuses (NTM)* dans l'air à différentes étapes du traitement des eaux usées. Les étapes considérées comprennent la vis d'Archimède (représentant les eaux brutes entrant dans la station), le prétraitement, le traitement primaire et secondaire (combinés), le traitement tertiaire et le traitement des boues. Ces résultats permettent d'évaluer l'impact des différents procédés de traitement sur la génération et la dispersion des bioaérosols microbiologiques.

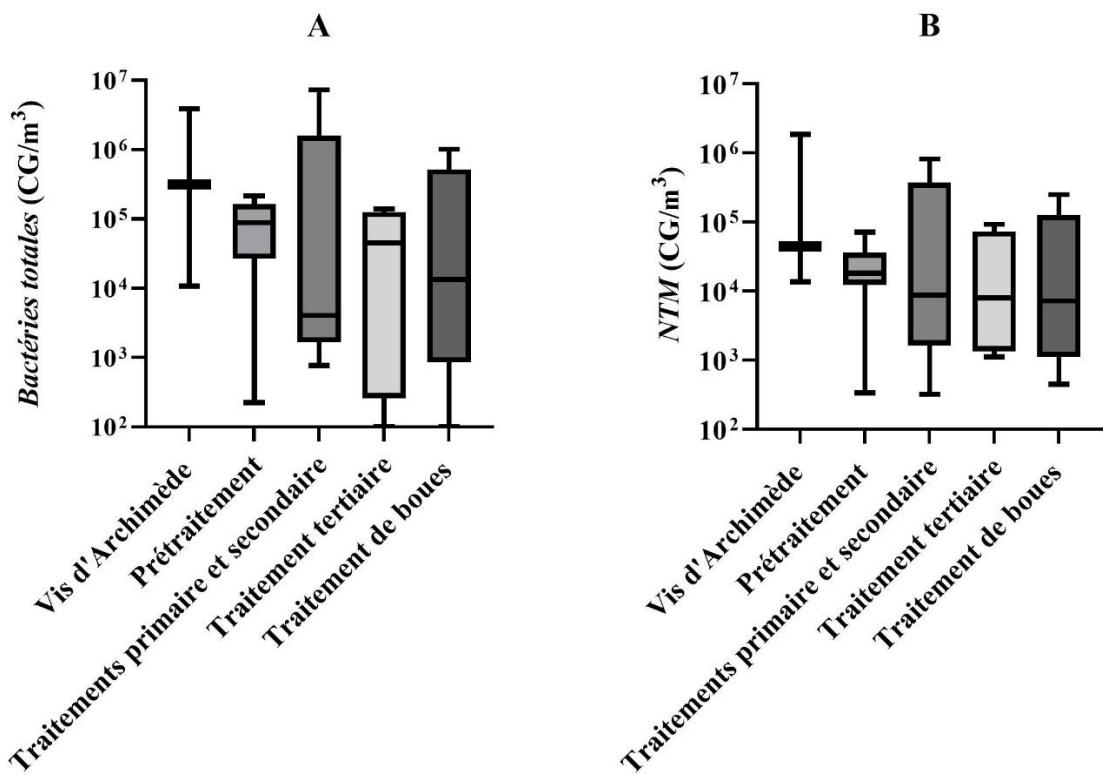


Figure 4.7 Évolution des concentrations des *bactéries totales* (A) et des *mycobactéries non tuberculeuses (NTM)* (B) dans l'air aux différentes étapes du traitement des eaux usées

Dans la Figure 4.7, les variations des concentrations des *bactéries totales* et des *mycobactéries non tuberculeuses (NTM)* entre les différentes étapes de traitement sont présentées sous forme de boîtes à moustaches. Cependant, il convient de noter que cette analyse repose uniquement sur l'analyse descriptive des différences de concentrations, sans que des tests statistiques aient été réalisés pour évaluer la significativité de ces variations. Par conséquent, bien que des différences visibles entre les étapes de traitement soient perceptibles, il n'est pas possible de conclure que ces différences sont statistiquement significatives sans une analyse statistique plus approfondie.

La Figure 4.7 présente la dynamique des concentrations des *bactéries totales* (16S rRNA) et des *mycobactéries non tuberculeuses (NTM)* dans l'air en fonction des principales étapes de traitement des eaux usées. Les concentrations les plus élevées sont observées au niveau de la vis d'Archimède pour les *bactéries totales* et les *NTM* (Figure 4.7). Cette présence importante de bioaérosols peut s'expliquer par l'impact mécanique du transport des eaux, notamment le mouvement des vis d'Archimède qui favorise la mise en suspension des microorganismes (Carducci et al., 2000). De plus fortes concentrations microbiennes ont également été mesurés aux points de pompage équipés de vis d'Archimède dans l'étude de Michałkiewicz et al. (Michałkiewicz, 2019). L'agitation induite par le système de relevage des eaux contribue également à la génération d'aérosols bactériens.

Au niveau du prétraitement, bien qu'une légère diminution soit observée, les concentrations restent élevées. Les turbulences générées par l'écoulement des eaux à travers les grilles des dégrilleurs et les bassins de dessablage ainsi que l'aérations (particulièrement le dessableur) favorisent l'émission de bioaérosols. De précédentes études ont également observé des concentrations élevées de bioaérosols au niveau des étapes de prétraitement (Jabeen et al., 2023; Mbareche et al., 2022; Pascual et al., 2003a; Szyłak-Szydłowski et al., 2016). Mbareche et al. ont mesuré, en été, des concentrations de *bactéries totales* atteignant 10^8 CG/m³ au niveau du dégrilleur et des valeurs similaires au niveau du dessableur. Pascual et al. (2003), quant à eux, ont rapporté des concentrations de bactéries hétérotrophes totales de 89,75 UFC/m³ au niveau des procédés de prétraitement (hors période estivale). Les *mycobactéries* du complexe *Mycobacterium tuberculosis* n'ont été détectées ni par la méthode de culture ni par PCR dans la même étude de Pascual et al. (2003).

Les traitements primaire et secondaire combinés montrent une médiane de concentrations faible (Figure 4.7), principalement influencée par les faibles concentrations mesurées au niveau des

décanteurs. Toutefois, les valeurs ponctuellement élevées observées peuvent être expliquées par les fortes concentrations enregistrées au niveau des procédés biologiques. À l'inverse, le traitement tertiaire affiche une médiane plus élevée. Cela s'expliquerait par les fortes concentrations relevées à certains points du traitement UV dans quelques stations échantillonnées. Cette augmentation des concentrations pourrait également être influencée par les procédés situés en amont du traitement tertiaire, installés dans la même pièce, et susceptibles de générer davantage de bioaérosols (Tian et al., 2022; Upadhyay et al., 2013). L'exiguïté et la température élevée des salles où sont installés ces équipements intensifient également ce phénomène (Tian et al., 2022). De plus, le positionnement des échantilleurs dans des zones mal ventilées (zones mortes à proximité des murs) pourrait aussi contribuer à l'augmentation de ces concentrations. Des concentrations élevées sont constatées au niveau du traitement des boues, liée au brassage généré lors de l'épaississement et la déshydratation, qui génèrent une forte dispersion des bactéries dans l'air. Les chutes de boues et les turbulences créées dans les bassins favorisent également l'aérosolisation des bactéries, augmentant ainsi le risque d'exposition. Plusieurs études ont également relevé d'importantes émissions de bioaérosols lors des différentes étapes du traitement des boues (épaississement, déshydratation, bassins de boues et autres opérations de gestion) (Carducci et al., 2000; Karra & Katsivela, 2007; Mbareche et al., 2022; Szyłak-Szydłowski et al., 2016).

La comparaison des concentrations des différentes cibles entre la filière solide et la filière liquide met également en évidence l'importance des procédés contenant des boues en tant que sources majeures de génération de bioaérosols (Figure 4.8).

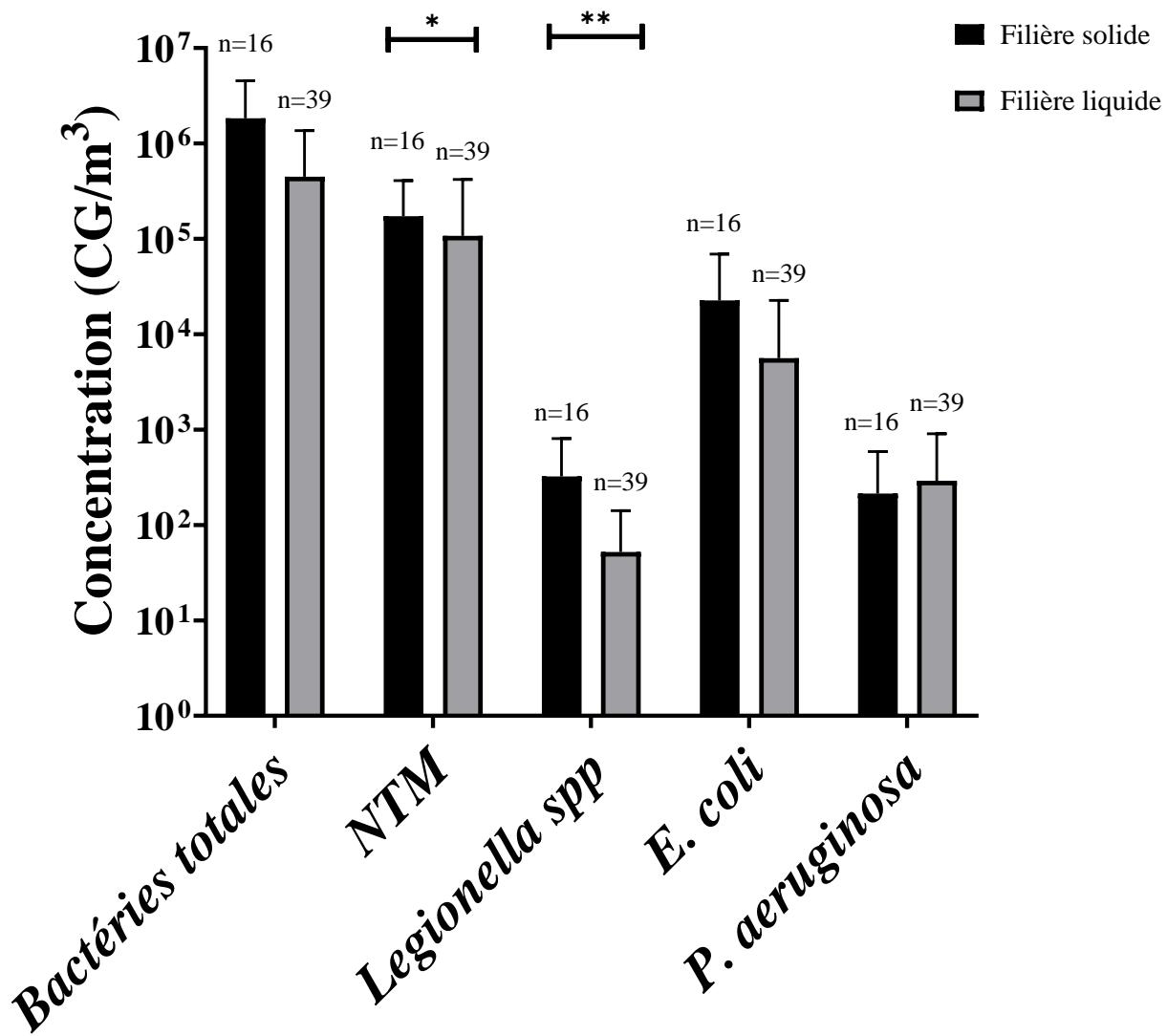


Figure 4.8 Histogrammes comparant les concentrations des différentes cibles microbiologiques, dans l'air, entre la filière solide et la filière liquide (* : $0,01 < p \leq 0,05$; ** : $0,001 < p \leq 0,01$)

L'augmentation significative des concentrations de *NTM* et de *Legionella spp* dans la filière solide par rapport à la filière liquide souligne le risque accru d'exposition associé aux procédés de traitement des boues. Ce résultat met en évidence la nécessité de mettre en place des mesures spécifiques de prévention contre l'exposition aux bioaérosols dans la filière solide.

L'analyse des concentrations des *bactéries totales* et des *NTM* dans l'air tout au long du traitement des eaux usées met en évidence l'impact des facteurs d'aérosolisation sur la génération de bioaérosols. Ces étapes de traitement présentent des conditions favorables à la dispersion des

microorganismes dans l'air. Ces résultats soulignent l'importance de stratégies d'atténuation visant à limiter l'aérosolisation et à réduire le risque d'exposition dans ces environnements.

4.2.3 Impact des facteurs environnementaux sur les concentrations dans l'air

L'humidité relative, l'ensoleillement, la superficie des bassins et les vitesses des vents (pour les procédés à l'extérieur) ont été investigués pour évaluer l'impact de ces facteurs sur les concentrations de bactéries dans l'air.

Les *bactéries totales*, *NTM*, *Legionella spp.* et *Pseudomonas aeruginosa* ont montré des corrélations positives significatives avec l'humidité relative (Figure 4.9).

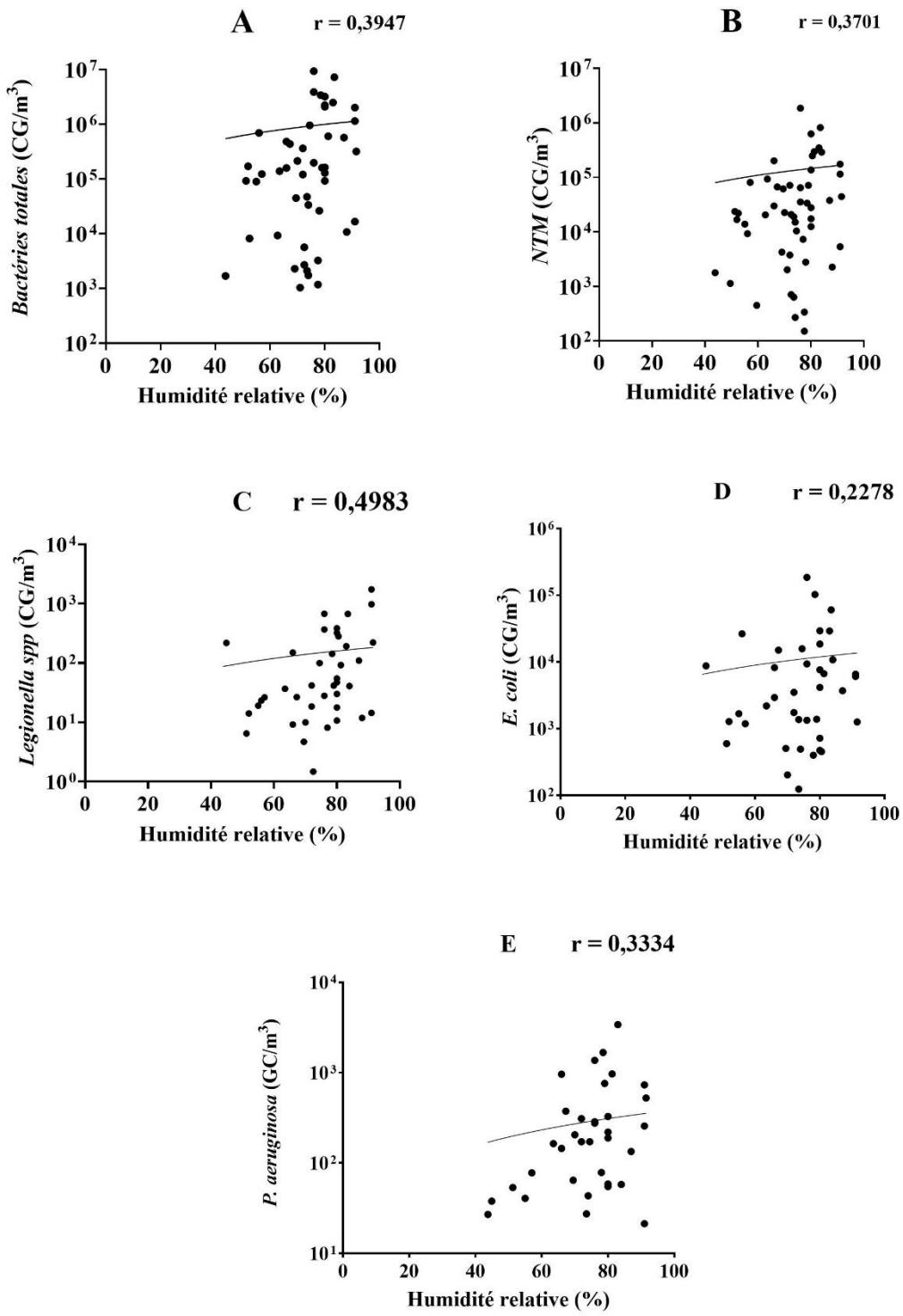


Figure 4.9 Corrélation entre l'humidité relative et les *bactéries totales* (A), *NTM* (B), *Legionella spp.* (C), *E. coli* (D) et *P. aeruginosa* (E)

La Figure 4.9 montre des corrélations statistiquement significatives entre l'humidité relative et les concentrations des bactéries étudiées (*bactéries totales*, *NTM*, *Legionella spp.*, *E. coli* et *P. aeruginosa*). Malgré des coefficients modérés (variant de 0,2278 à 0,4983), l'humidité relative peut constituer un indicateur utile pour estimer les concentrations microbiennes dans l'air des stations d'épuration, en particulier pour *Legionella spp.* ($r = 0,4983$) et les *bactéries totales* ($r = 0,3947$). Une augmentation de l'humidité relative pourrait indiquer un environnement plus propice à la présence de bioaérosols, signalant ainsi un risque d'exposition accru (Mbareche et al., 2022).

Bien que l'humidité relative présente une corrélation significative avec les concentrations des cinq cibles microbiologiques dans l'air, il demeure essentiel de confirmer la source de l'humidité mesurée, la concentration bactérienne à la source ainsi que le taux d'aérosolisation, afin de valider la relation entre les mesures d'humidité relative et les concentrations bactériennes quantifiées. Ainsi, la prise en considération d'autres facteurs environnementaux demeure importante afin d'améliorer la prédition de ces concentrations.

L'impact de l'ensoleillement a été analysé uniquement pour les 20 procédés situés à l'extérieur. Les radiations mesurées sont comprises entre 513,9 Wh/m² et 900,49 Wh/m². Aucune corrélation significative n'a été observée entre les concentrations des cibles microbiologiques et le taux de radiation solaire, contrairement aux résultats de (Karra & Katsivela, 2007) qui a montré que les concentrations des bioaérosols augmentent avec la diminution des radiations solaires. Cette absence de corrélation pourrait s'expliquer par la prédominance des facteurs d'aérosolisation et des facteurs de dilution qui semblent exercer une influence plus marquée que la radiation solaire sur la dispersion des bioaérosols.

L'évaluation de la relation entre les concentrations des cibles microbiologiques et la superficie des différents bassins a révélé une corrélation significative avec les *bactéries totales*, les *NTM*, *Legionella spp.* et *P. aeruginosa* (Figure 4.10).

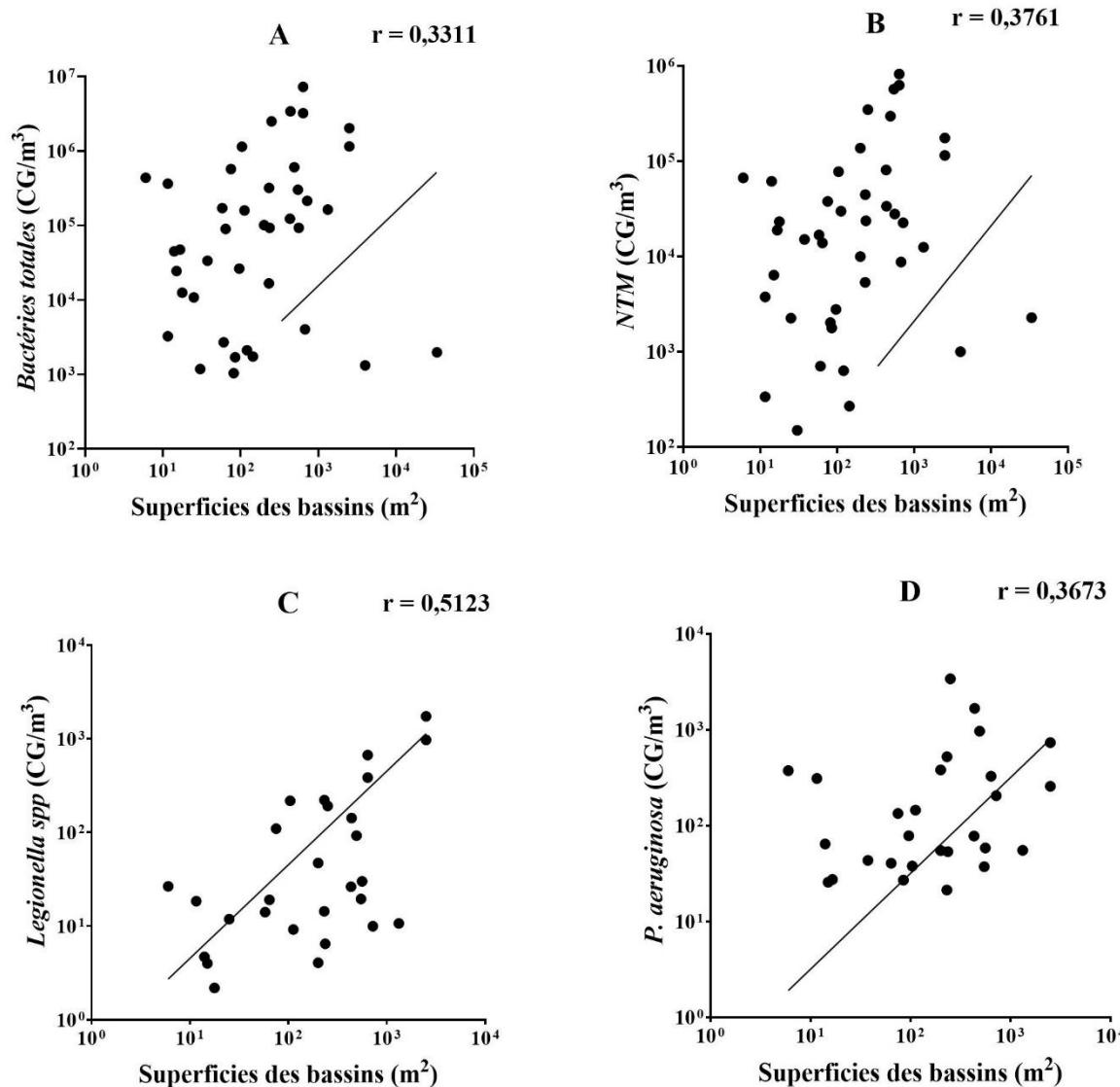


Figure 4.10 Relations entre les superficies des bassins et les concentrations des (A) *bactéries totales* ($n = 41$), (B) *mycobactéries non tuberculeuses (NTM)* ($n = 42$), (C) *Legionella spp* (D) ($n = 29$) et *Pseudomonas aeruginosa* ($n = 47$) dans l'air

Ces résultats indiquent qu'une augmentation de la superficie des bassins pourrait faciliter le transfert des bactéries de l'eau vers l'air, augmentant ainsi le risque potentiel d'exposition. Ceci est confirmé par la comparaison des concentrations de *NTM* entre les procédés ouverts et fermés, qui

révèle des concentrations significativement plus élevées au niveau des procédés ouverts ($1,70 \times 10^5$ CG/m³) par rapport aux procédés fermés ($1,08 \times 10^4$ CG/m³).

Plusieurs études indiquent que le confinement ou la couverture de certains procédés de traitement, ainsi que la réduction de la surface d'eau libre par confinement total ou couvert partiel ou des unités fermées, contribuent à limiter la propagation des bioaérosols dans l'air et le risque d'exposition (Kataki et al., 2022; Tchobanoglous et al., 2011).

L'effet de l'emplacement des procédés à l'intérieur dans des pièces fermées ou à l'extérieur à l'air libre a été aussi investigué (Figure 4.11).

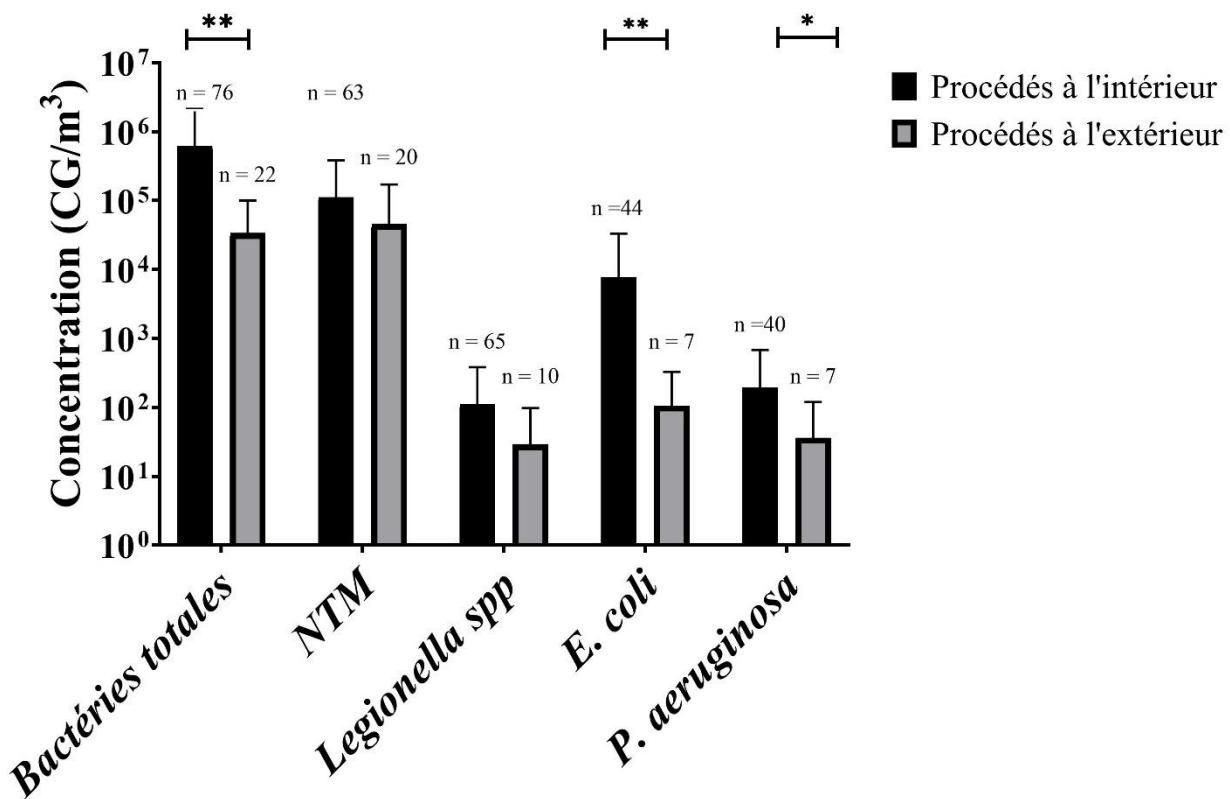


Figure 4.11 Comparaison des concentrations des cibles microbiologiques dans l'air entre les procédés situés à l'intérieur et à l'extérieur des stations d'épuration des eaux usées (* : $0,01 < p \leq 0,05$; ** : $0,001 < p \leq 0,01$)

La Figure 4.11 révèle une différence notable entre les concentrations des différentes cibles microbiologiques mesurées dans l'air au niveau des procédés situés à l'intérieur et à l'extérieur. Il

est toutefois difficile de comparer ces deux milieux en raison des différences d'environnement (facteurs environnementaux), de dilution et de ventilation. Les concentrations étaient globalement plus faibles à l'extérieur qu'à l'intérieur, particulièrement pour les *bactéries totales*, *E. coli* et *P. aeruginosa*, pour lesquelles les différences étaient statistiquement significatives. Ces résultats indiquent que les procédés situés à l'extérieur présentent un moindre risque d'exposition aux bioaérosols que les procédés intérieurs, ce qui peut être expliqué par une dilution plus efficace liée au vent et à l'espace ouvert. Ces observations soulignent l'importance des conditions optimales de dilution, notamment une bonne ventilation et une configuration spatiale appropriée.

L'influence de la vitesse du vent sur les concentrations de ces bactéries a également été étudiée au niveau des procédés situés à l'extérieur. Seules les *bactéries totales* ($n = 40$) et *Legionella spp* ($n = 26$) ont montré une corrélation négative et significative avec cette variable ($r = -0,3530$ et $r = -0,4272$, respectivement). Pour chaque station d'épuration incluse dans l'analyse, les vitesses moyennes du vent ont été obtenues auprès de la station météorologique la plus proche disposant de ces données, et correspondent à la période d'échantillonnage de chaque point concerné. Une augmentation de la vitesse du vent favorise la dispersion des bioaérosols et entraîne une diminution de leur concentration locale. Un vent plus fort disperse les microorganismes dans l'atmosphère, ce qui réduit la charge bactérienne mesurée à proximité immédiate des sources d'émission (Wang, Y., Lan, et al., 2018b). Jabeen et al ont indiqué qu'à 50 m sous le vent d'une station, la concentration de bactéries viables dans l'air peut être jusqu'à 10 fois inférieure à celle relevée au niveau de la source (Jabeen et al., 2023). Le vent peut remettre en suspension des microorganismes déposés sur des surfaces humides telles que l'eau ou les boues, mais cet effet est rapidement atténué par leur dilution dans l'air ambiant (Tian et al., 2022).

4.3 Corrélation entre les concentrations dans l'eau et dans l'air

Pour évaluer la relation entre les concentrations des bactéries dans l'eau et dans l'air, seuls les échantillons collectés aux procédés non-couverts et en intérieur ont été considérés ($n = 47$). Les concentrations de cibles microbiologiques mesurées dans l'eau ne montrent pas de corrélation significative avec celles relevées dans l'air (coefficients allant de 0,09248 pour les *NTM* à 0,2588 pour les *bactéries totales*) (Figure 4.12).

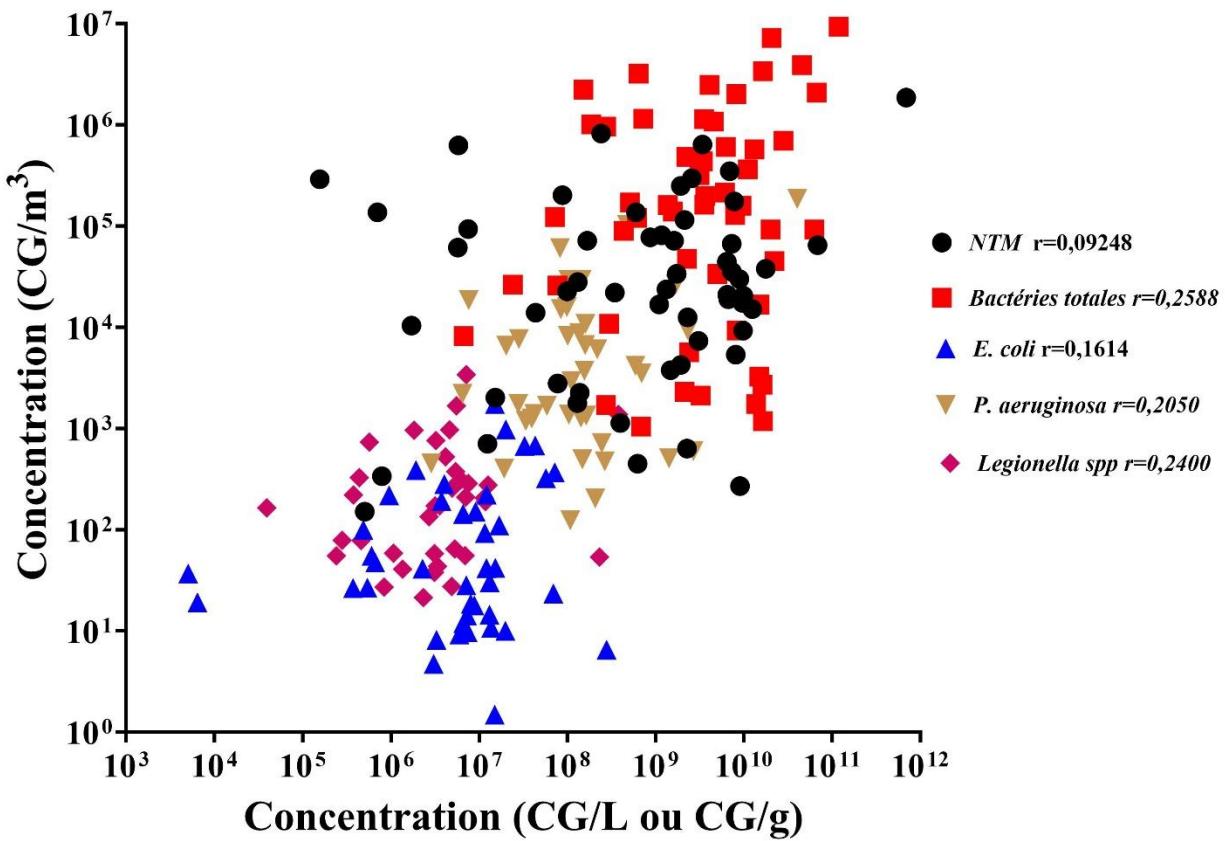


Figure 4.12 Corrélation entre les différentes cibles dans l'air et l'eau

Les concentrations des cibles microbiologiques présentes dans les eaux usées ne montrent aucune corrélation avec celles mesurées dans l'air. Ce résultat souligne la complexité des interactions entre les phénomènes d'aérosolisation et de dilution, et leur influence respective sur les concentrations des bioaérosols. Il met également en évidence l'impact variable (poids relatif) de chaque facteur impliqué sur les concentrations observées dans l'air, ainsi que l'influence de divers paramètres environnementaux sur ces concentrations.

4.4 Adéquation entre les concentrations bactériennes mesurées dans l'air et les résultats de l'analyse qualitative

Une analyse qualitative a été réalisée sur site par l'équipe de recherche puis validée à travers des rencontres avec les opérateurs et les gestionnaires de chacune des stations. Pour rappel, deux grandes catégories de phénomènes ont été évaluées : les facteurs liés à l'aérosolisation des bactéries

vers l'air et les facteurs liés à la dilution. Les résultats de l'évaluation entre les 15 stations sont présentés à la Figure 4.13.

Stations	Moyenne par station									
	Configuration spatiale	Ventilation	Vapeur/Microgouttelettes	Brassage/Mélange	Aération	Chute (d'eau ou de déchets)	Aérosolisation	Dilution	Potentiel d'exposition	
1	1,70	1,20	2,00	2,70	2,20	1,50	2,10	1,45	1,78	
2	3,10	1,00	3,50	2,35	1,30	1,80	2,24	2,05	2,14	
3	4,10	3,20	0,80	2,80	2,00	1,80	1,85	3,65	2,75	
4	1,69	1,38	1,50	2,38	1,88	3,63	2,34	1,53	1,94	
5	2,67	2,92	2,92	3,50	1,67	1,67	2,44	2,79	2,61	
6	3,00	2,67	2,17	3,00	2,50	1,58	2,31	2,83	2,57	
7	1,40	2,20	1,30	2,00	0,10	1,90	1,33	1,80	1,56	
8	1,75	0,75	1,88	3,25	1,13	2,75	2,25	1,25	1,75	
9	2,40	2,20	2,60	3,35	1,10	2,50	2,39	2,30	2,34	
10	2,70	1,60	1,00	1,40	1,80	2,60	1,70	2,15	1,93	
11	1,88	3,38	3,88	3,50	2,88	3,38	3,41	2,63	3,02	
12	2,00	2,00	3,25	3,00	2,25	1,50	2,50	2,00	2,25	
13	0,40	0,70	1,60	2,60	2,00	2,20	2,10	0,55	1,33	
14	2,00	2,40	1,60	2,00	1,10	2,60	1,83	2,20	2,01	
15	2,10	2,60	2,20	2,30	1,40	3,00	2,23	2,35	2,29	
Moyenne entre les stations	2,19	2,01	2,15	2,68	1,69	2,29	2,20	2,10	2,15	

Figure 4.13 Heatmap des moyennes des notes de l'analyse qualitative au sein des 15 stations étudiées: paramètre aérosolisation (moyenne des quatre facteurs d'aérosolisation : vapeur/microgouttelettes, brassage/mélange, aération et chutes d'eaux ou de déchets ou de boues), paramètre dilution (moyenne des deux facteurs de dilution des bioaérosols : configuration spatiale, ventilation), et paramètre potentiel d'exposition (moyenne des paramètres aérosolisation et dilution).

L'analyse qualitative par station permet d'avoir une idée globale des conditions d'aérosolisation et de dilution des bioaérosols dans chaque station, offrant ainsi une vue d'ensemble et une prévision du degré de concentration en bioaérosols. La Figure 4.13 illustre cet aspect.

Les facteurs d'aérosolisation se rapprochant du score maximal (5) indiquent une génération importante de bioaérosols, alors qu'un score minimal (0) signifie une absence totale de génération. De même, pour les facteurs de dilution, un score élevé (5) indique une dilution faible, tandis qu'un

score minimal (0) correspond à une dilution maximale, typique des procédés réalisés à l'air libre. Cette notation permet d'évaluer et d'anticiper le risque d'exposition. L'état optimal correspond donc à une faible génération de bioaérosols combinée à une dilution maximale, réduisant ainsi considérablement les risques d'exposition pour les travailleurs. Inversement, un score élevé d'aérosolisation associé à une faible dilution représente un risque très élevé. Quelle que soit l'intensité de génération des bioaérosols, la dilution reste un facteur essentiel à investiguer afin de réduire significativement les concentrations dans l'air ambiant. Le taux de ventilation doit être ajusté en fonction de la configuration spatiale des installations pour optimiser le renouvellement d'air. Enfin, la ventilation doit être conçue et étudiée avec attention afin d'éviter tout effet inverse, c'est-à-dire une éventuelle génération supplémentaire de bioaérosols au lieu de leur dilution.

Une analyse plus détaillée par procédé est effectuée par la suite. Toutefois, l'interprétation par moyennes à l'échelle des stations est complexe en raison des différences entre les procédés échantillonnés dans chaque station, leurs conditions de fonctionnement, leur emplacement (intérieur ou extérieur), ainsi que des variations des facteurs d'aérosolisation et de dilution associés. L'analyse par procédé au sein des différentes stations permet de tirer des conclusions précises et des interprétations sur la prédiction des concentrations des bioaérosols, en fonction des conditions favorisant le transfert des microorganismes de l'eau vers l'air ainsi que des facteurs responsables de leur dilution, en déterminant notamment les relations entre ces différents paramètres. Cette approche permet ainsi d'établir des interprétations spécifiques à chaque procédé et d'évaluer rapidement le niveau de risque grâce à une méthode simple et pratique. Les informations relatives aux 15 stations incluses dans cette étude sont résumées dans le tableau 3.1.

Le potentiel d'exposition établi à partir de cette analyse qualitative a permis d'identifier les procédés présentant un risque élevé d'exposition aux bioaérosols (Figure 4.14).

Station	Potentiel d'exposition (%)									
	Dégrilleur	Dessableur	Bassin des boues activées	Décanteur	UV	Biofiltre en filtration	Biofiltre en lavage	Mélangeur rapide	Filtre presse à boues	Vis d'Archimède
1	28,8	33,8	35,0	20,0						
2	36,25	53,75		38,75						
3	47,5	66,25		47,5	58,75	55				
4.1	36,3		15,0		63,8					
4.2	46,3		37,5							
5	41,3	62,5				48,8	55,0	51,3	55,0	
6	55	52,5			42,5	45	70			43,75
7	42,5				18,75				35	
8	43,75	40			31,25			25		
9	52,5		48,8	0,0						76,3
10	46,875	49,375							41,25	
11	35,0			27,5		62,5	66,3			85,0
12		43,8							46,25	
13		35,0			33,8	21,3	40,0			
14	52,5	31,3			43,8			36,3	35,0	
15	38,8	48,8		20,0					57,5	
Moyenne (%)	43,08	46,99	34,06	25,63	41,79	46,50	57,81	37,50	45,00	68,33
Total (N)	13	11	4	6	7	5	4	3	6	3

Figure 4.14 Heatmap des potentiels d'exposition des différents procédés investiguées au sein des 15 stations étudiées. Seulement les procédés échantillonnés 3 fois ou plus ont été analysés dans cette section.

La vis d'Archimède présente le potentiel d'exposition le plus élevé, atteignant 68,33 %. Ce pourcentage élevé est principalement dû à la forte agitation des eaux induite par le mouvement mécanique de la vis, qui permet l'ascension des eaux usées vers les étapes suivantes du traitement. En plus de ce brassage intense, l'eau chute également à plusieurs reprises à différentes hauteurs lors de son ascension, provoquant des éclaboussures ressenties sur la peau et observées sur les surfaces adjacentes. Par ailleurs, deux des trois vis d'Archimède étudiées étaient situées dans des pièces étroites, ce qui augmente le score attribué à la configuration spatiale et contribue considérablement à ce potentiel d'aérosolisation élevé. De même, une ventilation insuffisante, relevée pour deux des trois installations étudiées, accentue davantage ce risque élevé d'exposition. Ce constat souligne un

risque sanitaire important pour les travailleurs opérant à proximité des vis d'Archimède et met en évidence la nécessité de mesures préventives spécifiques à ce type de procédé.

Les biofiltres en modes filtration et lavage présentent également des pourcentages élevés de potentiel d'exposition (46,50 % et 57,81 %, respectivement). La forte agitation observée dans les bassins des biofiltres, particulièrement marquée durant la phase de lavage, ainsi que les chutes d'eau aux points d'entrée ou de sortie des bassins, contribuent directement à ce potentiel élevé d'exposition. De plus, l'aération intense appliquée aux biofiltres participe fortement à ce pourcentage élevé de potentiel d'exposition. La perception fréquente de microgouttelettes sur la peau ou l'observation de vapeur amplifie également ce phénomène. Par ailleurs, les scores élevés obtenus pour les facteurs liés à la dilution accentuent davantage ce potentiel, notamment lorsque les biofiltres sont installés dans des espaces restreints ou lorsque la ventilation y est insuffisante. Ainsi, les biofiltres représentent une source de risque d'exposition aux bioaérosols pour les travailleurs des stations d'épuration, ce qui nécessite la mise en place de mesures préventives adaptées.

À l'inverse, le décanteur présente le pourcentage de potentiel d'exposition le plus faible (25,63 %). Ce procédé se caractérise par des conditions peu agitées, sans turbulence ou aération, avec seulement de faibles chutes d'eau, et sans perception de microgouttelettes ni observation de vapeur. Ces conditions expliquent principalement le faible niveau d'exposition observé pour ce type de procédé. Ainsi, le décanteur représente un risque d'exposition aux bioaérosols relativement faible pour les travailleurs.

4.4.1 Aérosolisation

Les *bactéries totales*, *NTM*, *Legionella spp*, *E. coli* et *P. aeruginosa* présentent une corrélation positive et significative avec le paramètre aérosolisation, défini comme la moyenne de quatre facteurs favorisant la mise en suspension (Figure 4.15). Le paramètre d'aérosolisation comporte quatre facteurs susceptibles de contribuer à la génération des bioaérosols : l'agitation des eaux de surface (brassage, mélange ou turbulence), les chutes d'eau, de boues ou de déchets, l'aération des procédés, ainsi que la présence visible de vapeur ou la perception de microgouttelettes sur la peau. Chacun de ces facteurs a été évalué individuellement selon une échelle allant de 0 à 5. Ainsi, l'agitation des eaux de surface obtient un score de 0 pour un milieu calme sans aucun mouvement, tandis qu'un score de 5 correspond à une agitation maximale du bassin. De même, les chutes d'eau

ou de boues reçoivent un score de 0 en absence totale de chutes et atteignent 5 lorsqu'elles sont nombreuses et/ou de grande ampleur. Concernant l'aération des procédés, un score nul (0) est attribué aux procédés sans aération, tandis que les procédés fortement aérés par insufflation, succion ou brassage obtiennent un score maximal de 5. Enfin, l'absence complète de vapeur visible ou de microgouttelettes ressenties sur la peau correspondent à un score de 0, alors que les observations maximales de ces phénomènes sont associées à un score de 5. Cette approche permet de caractériser précisément les conditions favorables à l'aérosolisation et de mieux anticiper les risques liés à l'exposition aux bioaérosols.

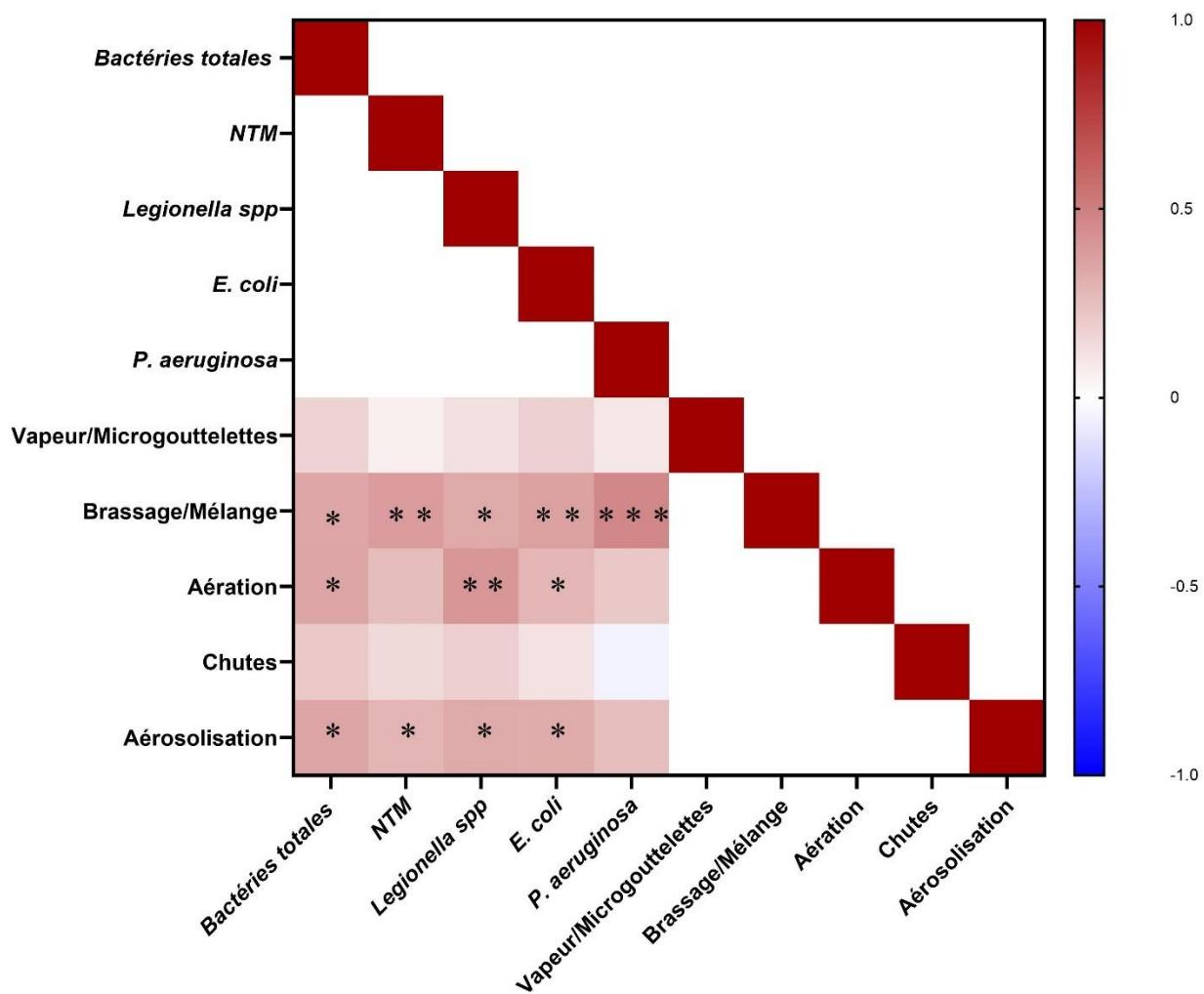


Figure 4.15 Heatmap des concentrations des cibles microbiologiques dans l'air et les notations des facteurs du paramètre d'aérosolisation : Vapeur/Microgouttelettes, Brassage/Mélange, Aération et Chutes (* : $0,01 < p \leq 0,05$; ** : $0,001 < p \leq 0,01$; *** : $p \leq 0,001$)

Les *bactéries totales*, *NTM*, *Legionella* spp. et *E. coli* montrent une corrélation significative et positive avec le paramètre d'aérosolisation (Figure 4.15). Les facteurs brassage/mélange et aération apparaissent comme les meilleurs indicateurs d'aérosolisation, en raison de leur corrélation significative avec ces cibles microbiologiques, tandis que le facteur chute est particulièrement corrélé avec *P. aeruginosa*. Ainsi, ces facteurs peuvent être considérés comme des outils pertinents et représentatifs pour évaluer le potentiel d'aérosolisation des bactéries étudiées. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Sánchez-Monedero et al. (2008) qui a démontré que les bassins de décantation génèrent moins d'aérosols en raison de leur fonctionnement basé sur la stabilisation de l'eau. L'étude a également confirmé que l'aération joue un rôle clé dans la production de bioaérosols. L'influence de l'agitation de l'eau sur l'aérosolisation a également été rapportée par l'étude de Brandi et al. (Brandi et al., 2000).

À l'inverse, les chutes d'eau et la présence de vapeur ou de microgouttelettes n'ont pas montré de corrélation avec les concentrations bactériennes dans l'air et ne constituent donc pas des facteurs déterminants. Cette absence de corrélation pourrait être due à l'écoulements en chute libre formant des gouttes relativement grosses, qui retombent rapidement dans l'eau avant de pouvoir être entraînées par l'air (Burdsall et al., 2021). De plus, les chutes des boues ou des déchets ou sont souvent brefs, intermittents et localisées. Les bioaérosols formés par ces chutes se diluent rapidement et ne persistent pas.

La condensation de la vapeur augmente la taille des gouttelettes, accélérant leur dépôt, réduisant ainsi leur temps de suspension dans l'air (Nazaroff, 2016; Wong et al., 2010).

Ces résultats suggèrent que l'agitation et l'aération influencent plus fortement la présence des bactéries dans l'air que les chutes d'eau ou la vapeur. Lorsque l'eau ou les boues chutent, de grosses gouttelettes avec des taux de sédimentation élevés sont générées, ce qui entraîne leur dépôt rapide au lieu de rester en suspension dans l'air (Yang, J. et al., 2025). En revanche, les procédés impliquant une aération ou une forte turbulence de surface génèrent de petites microgouttelettes capables de rester en suspension plus longtemps (Lhuissier & Villermaux, 2012). Ainsi, l'agitation de surface et l'aération constituent de meilleurs indicateurs d'aérosolisation, en plus d'être facilement observables et évaluables par les opérateurs.

4.4.2 Dilution des bioaérosols

L'influence de la configuration spatiale et de l'intensité de la ventilation dans les zones où se déroulent les processus de traitement a été examinée (Figure 4.16). Ces deux facteurs ont été évalués sur une échelle de 0 à 5. Pour la configuration spatiale, un score de 0 correspond aux salles les plus spacieuses, tandis qu'un score de 5 indique les espaces les plus restreints. Pour la ventilation, 0 représente une ventilation maximale, et 5 indique une ventilation minimale.

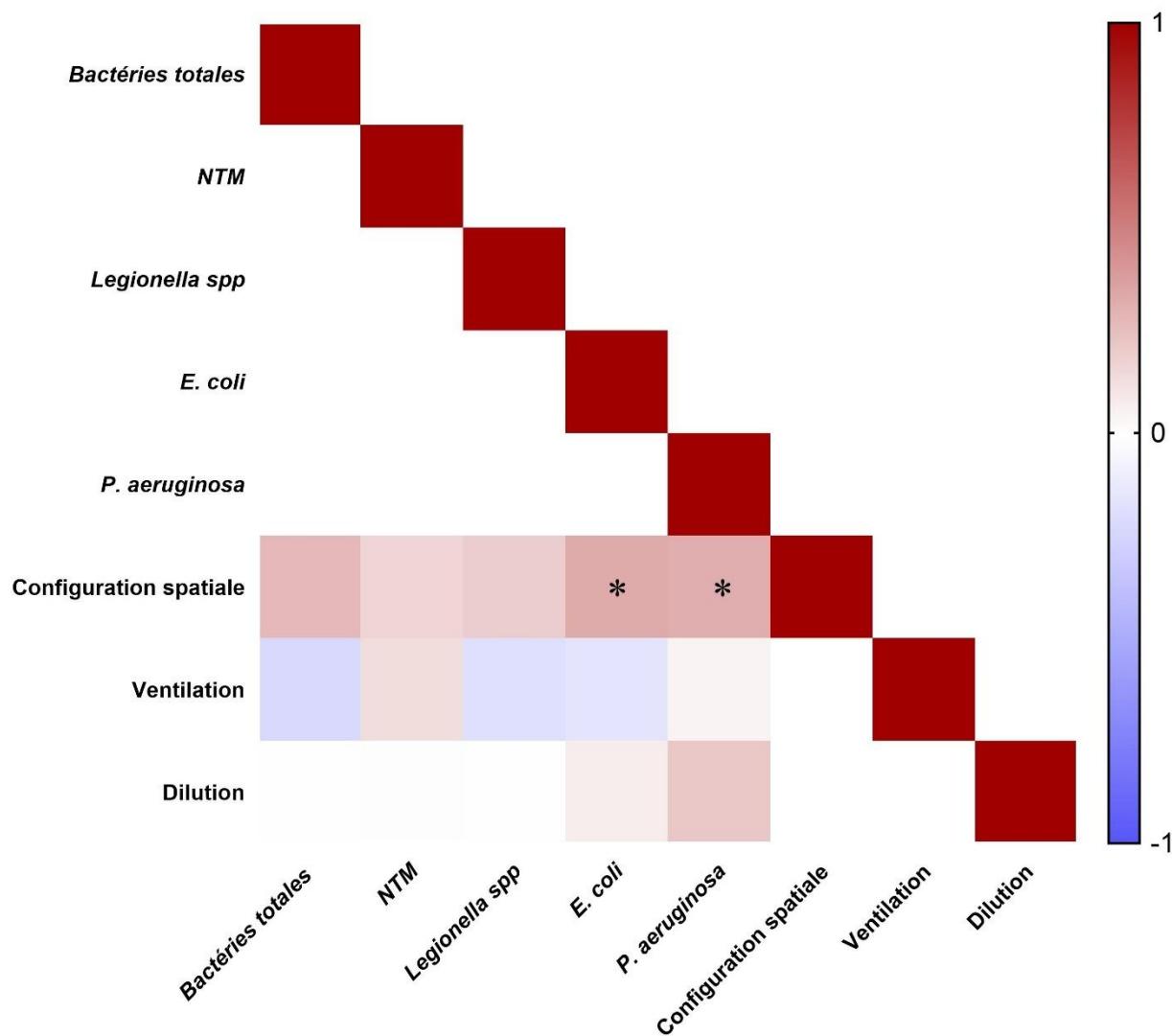


Figure 4.16 Heatmap des concentrations des cibles microbiologiques dans l'air et les notes attribuées pour les facteurs configuration spatiale de la pièce et ventilation, utilisés pour calculer le paramètre de dilution (* : $0,01 < p \leq 0,05$)

Les concentrations des différentes cibles microbiologiques n'ont pas montré de corrélation avec le paramètre de dilution, qui regroupe les deux facteurs censés contribuer à la réduction des concentrations de bioaérosols. Ce résultat suggère que ce paramètre n'a pas été suffisamment efficace pour diminuer les concentrations de bactéries dans l'air générées par les procédés de traitement. Cette inefficacité peut s'expliquer par la complexité de l'évaluation des facteurs de dilution ainsi que par les interactions potentiellement non linéaires avec les facteurs d'aérosolisation. Pour qu'un effet de dilution soit réellement efficace, il doit dominer l'influence des facteurs d'aérosolisation. Le taux de ventilation, en particulier, doit être adapté au volume de la pièce pour garantir un renouvellement d'air optimal. Il est également essentiel que la ventilation soit bien conçue et correctement dirigée, afin d'éviter un effet inverse, c'est-à-dire la remise en suspension des microorganismes dans l'air au lieu de favoriser leur élimination. Par ailleurs, l'analyse de la relation entre le taux de renouvellement d'air (calculé) et les concentrations des cibles microbiologiques dans l'air n'a révélé aucune corrélation significative. Cela suggère que, dans les procédés pour lesquels le taux de ventilation a pu être estimé (*Bactéries totales* : n = 31 ; *NTM* : n = 33 ; *Legionella spp.* : n = 24 ; *E. coli* : n = 24 ; *P. aeruginosa* : n = 23), ce paramètre ne s'est pas avéré efficace pour diluer les concentrations de bioaérosols. Le taux de renouvellement d'air dans les stations d'épuration des eaux usées doit être rigoureusement évalué et maintenu de manière régulière.

4.5 Analyse en composantes principales (ACP) :

L'analyse en composantes principales (ACP) réalisée a permis d'étudier les relations entre les bactéries ciblées (*bactéries totales*, *NTM*, *Legionella spp.*, *E. coli* et *P. aeruginosa*) et les paramètres influençant leur présence dans l'air, soit l'aérosolisation (moyenne des facteurs vapeur/microgouttelettes, chutes, brassage/mélange et aération) et la dilution (moyenne des facteurs configuration spatiale et ventilation) (Figure 4.17).

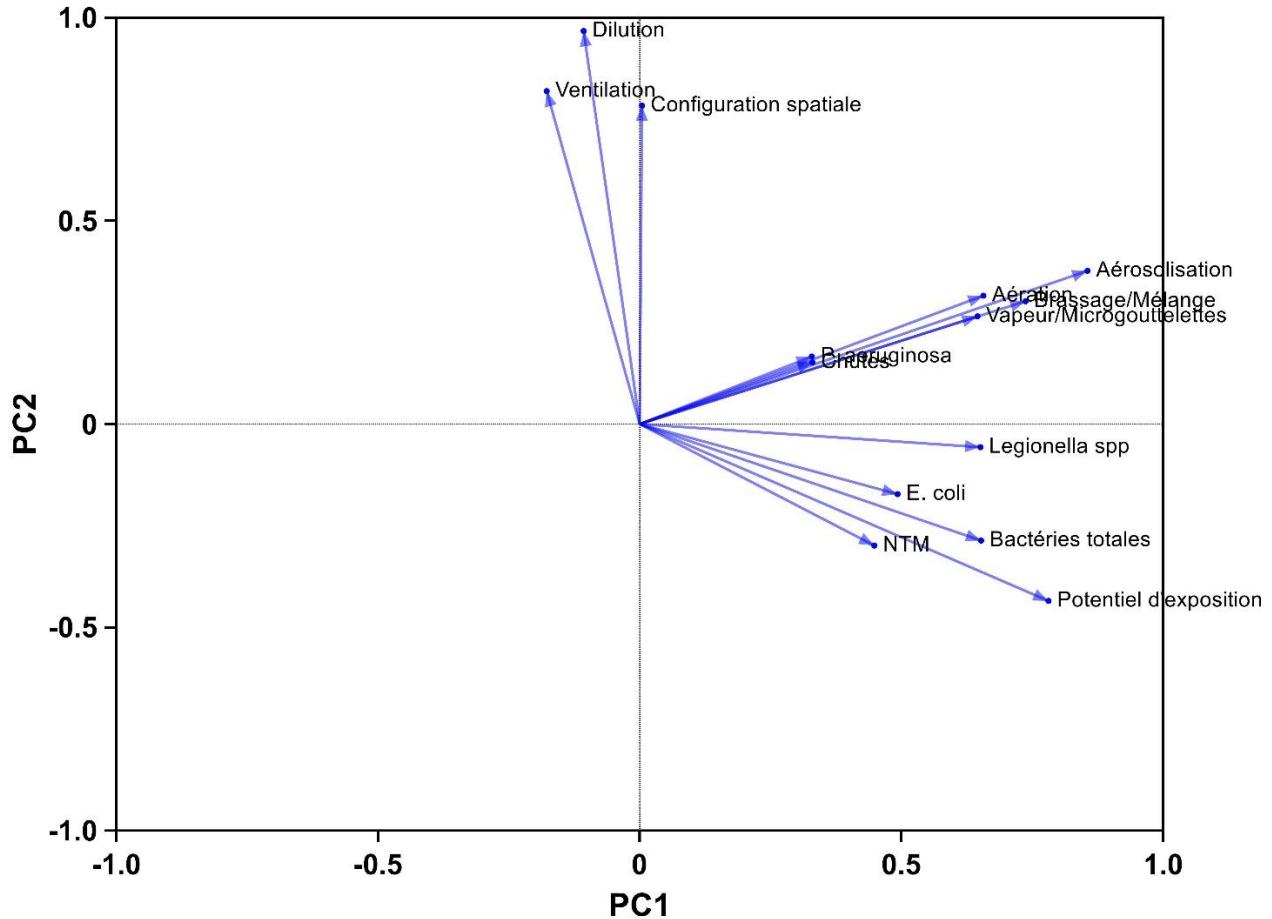


Figure 4.17 Analyse en composantes principales (ACP) entre les différents facteurs qui influencent les concentrations des différentes cibles microbiologiques dans l'air ($n = 55$). Pour cette analyse, seulement les procédés à l'intérieur et ouvert ont été étudiés.

Cette analyse en composantes principales (PCA) a sélectionné trois axes principaux (PC1, PC2 et PC3) qui, à eux seuls, expliquent 66,64 % de la variance totale des données, représentant ainsi les principaux phénomènes observés. La distribution des variables sur les deux premiers axes (PC1 et PC2) révèle une structuration autour de deux phénomènes majeurs : l'aérosolisation et la dilution. Le premier axe (PC1) est dominé par le paramètre d'aérosolisation et ses facteurs associés, à savoir le brassage/mélange, l'aération, les chutes et la présence de vapeur ou de microgouttelettes. Le second axe (PC2) est quant à lui structuré autour du paramètre de dilution, intégrant la ventilation et la configuration spatiale de la pièce. Parmi les cibles microbiologiques, *Pseudomonas*

aeruginosa présente une corrélation avec les facteurs d'aérosolisation, ce qui suggère une influence marquée des conditions favorables à la génération de bioaérosols sur cette bactérie. Suivent dans l'ordre *Legionella spp.*, *E. coli*, les *bactéries totales*, puis les *NTM*, qui montrent une corrélation positive décroissante avec l'aérosolisation. À l'inverse, *E. coli*, les *bactéries totales*, *Legionella spp.* et les *NTM* sont orientées à l'opposé des vecteurs de dilution, ce qui indique qu'une dilution efficace (à travers une bonne ventilation et une configuration spatiale favorable) tend à réduire leurs concentrations dans l'air, contrairement à *P. aeruginosa*, qui semble corrélée positivement avec la dilution. Parmi les facteurs d'aérosolisation, le brassage et l'aération apparaissent comme les contributeurs les plus marquants, tandis que les chutes et la vapeur/microgouttelettes ont un impact plus modéré sur le processus d'aérosolisation. En ce qui concerne la dilution, les deux facteurs évalués (ventilation et configuration spatiale) participent de manière cohérente et efficace au paramètre global. Enfin, le potentiel d'exposition montre une forte corrélation avec le paramètre d'aérosolisation, indiquant qu'une génération accrue de bioaérosols augmente le risque d'exposition pour les travailleurs. Ce même potentiel d'exposition est inversement corrélé au paramètre de dilution, soulignant que des conditions de dilution optimales sont essentielles pour atténuer ce risque.

4.6 Notes des facteurs et paramètres de la grille d'évaluation et concentrations de bactéries totales dans l'air

Dans cette section, les concentrations des *bactéries totales* ainsi que les scores attribués aux facteurs qualitatifs en collaboration avec les gestionnaires et les opérateurs des stations sont présentés et discutés pour le dégrilleur. L'analyse détaillée des notes des différents facteurs pour les autres procédés analysés est présentée dans l'annexe B ainsi qu'un résumé des observations.

Les concentrations des différentes cibles microbiologiques dans l'air ainsi que les scores (notations) attribués à chaque paramètre pour les dégrilleurs échantillonnés au sein des 13 différentes stations sont illustrées dans la Figure 4.18.

Procédé Station	Dégrilleur										Explication
	Bactéries totales (CG/m³)	Configuration spatiale	Ventilation	Vapeur/Microgouttelettes	Brassage/Mélange	Aération	Chute (d'eau ou de déchets)	Aérosolisation	Dilution	Potentiel d'exposition	
1	2,25E+02	3,5	2	0	0,5	0	0	0,1	2,8	1,4	Confiné et enterré
2	2,70E+03	3,5	1	3,5	2	0	0	1,375	2,25	1,8125	Fermé et dans une pièce séparé
3	1,25E+04	4,5	3	0,5	3	0,5	0	1	3,75	2,375	Dilution inefficace : petite pièce et faible ventilation
4.1	2,30E+03	3,5	1	1	1	0	3,5	1,4	2,3	1,8	Dilution efficace : porte ouverte
4.2	9,29E+03	2,5	2,5	2	2,5	0	4	2,1	2,5	2,3	Dilution efficace : porte ouverte
5	4,50E+04	3	3,5	1	1,5	0	1	0,9	3,3	2,1	Dilution inefficace
6	3,36E+04	4	3,5	1	3	0	3	1,75	3,75	2,75	Dilution inefficace
7	2,49E+06	1,5	3	2	3,5	0	2,5	2	2,25	2,125	Faible ventilation dans une salle très volumineuse
8	1,61E+05	2,5	0,5	3,5	3	0	5	2,875	1,5	2,1875	Influence des procédés adjacents/forte aérosolisation
9	5,66E+03	2,5	2,5	2,5	3,5	0	5	2,8	2,5	2,6	Dilution modérée mais efficace face à l'aérosolisation
10	1,98E+05	3,5	3	0	1,75	0	4	1,4375	3,25	2,34375	Dilution modérée mais efficace face à l'aérosolisation
11	2,11E+03	2,5	1,5	3	1	0	2	1,5	2,0	1,8	Dilution efficace
14	1,71E+05	2,5	3,5	2	2	1	4	2,3	3,0	2,6	Dilution inefficace
15	3,64E+05	1,5	1	2,5	3,5	0,5	4	2,6	1,3	1,9	Influence des procédés adjacents
Moyenne des procédés	2,50E+05	2,93	2,25	1,75	2,27	0,14	2,71	1,72	2,59	2,15	

Figure 4.18 Concentrations des *bactéries totales* et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les dégrilleurs échantillonnés dans les 13 stations. Deux dégrilleurs ont été étudiés à la station 4 : 4.1 - Dégrilleur de traitement des affluents réguliers ; 4.2 - dégrilleur de traitement des eaux industrielles.

L'analyse des différents dégrilleurs, fondée sur les concentrations de *bactéries totales* et les scores attribués aux facteurs qualitatifs, a permis de mieux comprendre les mécanismes d'aérosolisation et de dilution, ainsi que les situations spécifiques pouvant influencer les concentrations bactériennes dans l'air sous des conditions bien définies. Certaines situations ont été associées à une réduction du risque d'exposition, telles que le confinement des équipements, l'enfouissement des dégrilleurs, leur implantation dans des pièces séparées, l'ouverture des portes pour favoriser la ventilation, ou encore l'efficacité des systèmes de ventilation. À l'inverse, d'autres conditions ont contribué à une augmentation des concentrations de bioaérosols, notamment une ventilation inefficace, l'influence de procédés adjacents, ou un taux de renouvellement d'air insuffisant. Ces situations ont pu être identifiées et caractérisées grâce à l'approche qualitative basée sur la notation des facteurs d'aérosolisation et de dilution.

La même analyse a été effectuée pour les autres procédés étudiés dans l'annexe C.

CHAPITRE 5 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Les conclusions et les recommandations présentées dans ce mémoire ont été formulées à partir des résultats obtenus pour les microorganismes ciblés. Il convient de noter que ces conclusions et recommandations peuvent différer pour d'autres microorganismes, en fonction de leurs caractéristiques spécifiques, telles que leur pathogénicité, leur dangerosité, et d'autres facteurs influençant leur comportement.

Cette étude identifie les principaux indicateurs des concentrations bactériennes en suspension dans l'air au sein des stations d'épuration des eaux usées. Les *bactéries totales*, *NTM*, *Legionella spp.*, *E. coli* et *P. aeruginosa* ont été détectées dans les eaux usées et dans l'air. Les *bactéries totales* présentent les concentrations les plus élevées dans les eaux usées, avec une médiane proche de 10^{10} CG/L ou CG/g, et une plage s'étendant de 10^5 à près de 10^{11} CG/L ou CG/g. Les *mycobactéries non tuberculeuses* (*NTM*) affichent également des concentrations élevées, avec une médiane proche de 10^9 CG/L ou CG/g, comprise entre environ 10^4 et 10^{11} CG/L ou CG/g. *Legionella spp.* présentent une concentration médiane d'environ 10^7 CG/L ou g, avec une variabilité allant de 10^4 à 10^{10} CG/L ou CG/g. La médiane pour *E. coli* est estimée à 10^8 CG/L ou CG/g, avec une étendue de 10^4 à 10^{11} CG/L ou CG/g. Enfin, *Pseudomonas aeruginosa* montre les concentrations les plus faibles, avec une médiane autour de 10^6 CG/L ou CG/g et des valeurs allant de 10^2 à 10^9 CG/L ou CG/g, témoignant d'une grande variabilité selon les échantillons.

Des corrélations élevées et significatives ont été observées entre les *bactéries totales* et les autres microorganismes dans les eaux usées, notamment *E. coli* ($r = 0,8270$), *Legionella spp.* ($r = 0,7853$) et *P. aeruginosa* ($r = 0,7254$). La corrélation est plus modérée avec les *NTM* ($r = 0,5296$), mais reste significative. Ces résultats indiquent qu'une augmentation des concentrations en *bactéries totales* dans les eaux usées est généralement associée à une augmentation des autres cibles microbiologiques. Ainsi, les *bactéries totales* pourraient être utilisées comme indicateurs des autres bactéries, simplifiant la surveillance sans nécessiter d'analyses spécifiques sur chaque microorganisme à la source. Les concentrations varient néanmoins selon les étapes de traitement et la nature des procédés impliqués.

Les concentrations en *bactéries totales* dans l'eau présentent également des corrélations significatives avec les paramètres physico-chimiques tels que les MES ($r = 0,7568$), les MVES ($r = 0,7557$) et la turbidité ($r = 0,7300$). Les mêmes tendances sont observées pour les autres cibles

microbiologiques, ce qui suggère que ces paramètres peuvent servir de bons indicateurs indirects des charges bactériennes à la source. Un traitement efficace des eaux usées réduisant les matières en suspension, les matières volatiles en suspension et la turbidité devrait donc également contribuer à diminuer les concentrations microbiennes.

Dans l'air, les cinq cibles microbiologiques ont été détectées avec des concentrations moyennes pouvant atteindre 10^5 CG/m³ pour les *bactéries totales*. Ces cibles présentent des corrélations entre elles dans l'air, avec des coefficients de corrélation de Spearman variant entre 0,74 et 0,82, indiquant que la quantification d'une seule cible peut être une bonne estimation des autres. Cette observation ouvre la possibilité d'optimiser la surveillance en ciblant un seul indicateur représentatif, réduisant ainsi les coûts, le temps et les efforts requis. Les concentrations tendent à diminuer au fur et à mesure de l'avancée dans la chaîne de traitement, bien que certaines conditions puissent favoriser leur augmentation, notamment dans les étapes de traitement des boues, reconnues pour leur forte émission de bioaérosols. Les procédés de la filière solide présentent d'ailleurs des concentrations aériennes supérieures à ceux de la filière liquide.

L'humidité relative corrèle significativement avec les concentrations des cinq cibles microbiologiques dans l'air (r variant de 0,2278 à 0,4983). Cette variable simple à mesurer pourrait ainsi être utilisée comme indicateur indirect du niveau de bioaérosols dans l'air en présence de procédés générateurs de bioaérosols. Toutefois, l'humidité relative à elle seule n'est pas un indicateur de la concentration en bioaérosols dans l'air. La superficie des bassins a également une influence sur les concentrations des bioaérosols. Des corrélations significatives ont été observées entre cette variable et les concentrations de *bactéries totales* ($r = 0,3311$), *NTM* ($r = 0,3761$), *Legionella spp.* ($r = 0,5123$) et *P. aeruginosa* ($r = 0,3673$). Ces résultats suggèrent que la réduction des surfaces ou le confinement des bassins pourraient réduire efficacement les émissions de bioaérosols et donc les risques pour la santé des travailleurs.

Les procédés situés à l'intérieur présentent des concentrations de bioaérosols plus élevées que ceux installés à l'extérieur. Cela met en évidence l'importance d'un renouvellement d'air efficace, assuré notamment par la ventilation, et par une configuration spatiale favorisant la dilution des contaminants. La mise en extérieur des procédés constitue donc une stratégie efficace de réduction de l'exposition. Ce résultat est appuyé par des corrélations négatives et significatives entre les concentrations de *bactéries totales* et de *Legionella spp.* et la vitesse du vent ($r = -0,3530$ et $r = -$

0,4272, respectivement), confirmant que l'augmentation du vent favorise la dilution des bioaérosols localement.

L'absence de corrélation entre les concentrations bactériennes mesurées dans l'eau et dans l'air s'explique par la complexité des mécanismes d'aérosolisation, de dilution et de dispersion, ainsi que par leurs poids relatifs variables et l'influence des facteurs environnementaux. Ces dynamiques montrent que la seule concentration en eau n'est pas un bon prédicteur du risque aérien.

Un outil qualitatif a été développé dans cette étude, basé sur un système de notation des procédés selon leur potentiel d'aérosolisation (brassage, aération, chutes, microgouttelettes) et de dilution (ventilation, configuration spatiale), chacun évalué de 0 à 5. Ce système permet d'identifier les situations à risque et d'estimer un potentiel d'exposition. La vis d'Archimède présente le potentiel d'exposition le plus élevé (68,33 %), ce qui souligne la nécessité de mesures de prévention spécifiques à ce procédé. Le brassage et l'aération apparaissent comme des indicateurs fiables de l'aérosolisation dans les bassins. Les paramètres de dilution doivent également être pris en compte avec soin pour éviter l'effet inverse d'une ventilation mal conçue, qui pourrait remettre en suspension les microorganismes au lieu de les éliminer.

Cet outil qualitatif se distingue par sa simplicité d'application, sa lisibilité et son accessibilité aux opérateurs de terrain. Il constitue une méthode rapide, non coûteuse et facilement intégrable aux pratiques de gestion pour prévenir les risques d'exposition.

Recommandations :

Les conclusions tirées des résultats obtenus permettent de formuler un ensemble de recommandations concrètes.

- Les paramètres physico-chimiques doivent être interprétés, en plus de leur rôle habituel, comme des indicateurs potentiels de la charge microbienne. Cette approche peut améliorer la surveillance à la source
- La réduction des surfaces de bassin, le confinement des unités, ou leur installation en extérieur sont des stratégies efficaces pour limiter l'émission de bioaérosols
- L'implantation des procédés dans des salles séparées est recommandée pour éviter l'accumulation de bioaérosols dans une même pièce

- Les opérateurs doivent éviter de rester dans les zones mortes de ventilation, propices à l'accumulation des bioaérosols (comme les zones situées près des murs ou les espaces peu affectés par les flux de ventilation)
- La ventilation doit être vérifiée régulièrement et conçue en tenant compte de la configuration spatiale des locaux, afin de garantir un renouvellement d'air efficace, sans générer une remise en suspension indésirable des microorganismes
- Les technologies de traitement des eaux usées doivent intégrer la problématique de l'aérosolisation et être conçues de manière à limiter efficacement l'émission de microorganismes de l'eau vers l'air.

Impact de la recherche :

Les résultats préliminaires ont été communiqués aux stations ayant participé au projet, permettant ainsi d'informer les gestionnaires et opérateurs des concentrations bactériennes mesurées dans l'air des stations. Cette approche a favorisé une sensibilisation accrue aux risques d'exposition aux bioaérosols générés par les procédés de traitement, tout en répondant aux préoccupations des opérateurs en confirmant la faible concentration dans les locaux de contrôle et les ateliers de travail. Cette étude a permis d'initier la rédaction d'un article scientifique (en cours) et les résultats ont été présentés sous forme d'affiche à la conférence scientifique International Water Association (IWA 2024), à Toronto. Les travaux réalisés généreront des résultats qui seront également intégrés dans de futurs articles rédigés dans le cadre du projet de doctorat de deux étudiants travaillant sur le sujet.

Perspectives de recherche

Bien que cette étude ait permis d'identifier plusieurs facteurs influençant le risque d'exposition, elle n'évalue pas directement les niveaux réels d'exposition des travailleurs. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour analyser les marqueurs biologiques d'exposition dans le sang des travailleurs et pour utiliser des échantillonneurs d'air portables afin d'évaluer l'exposition en fonction des tâches effectuées, des procédés rencontrés et du temps passé au sein des stations de traitement.

Le taux réel d'émission des cibles microbiologiques de l'eau vers l'air n'a pas encore été clairement défini. Des essais en laboratoire, utilisant des solutions à concentrations connues dans les eaux usées et soumises à différents scénarios contrôlés d'aérosolisation et de dilution, seraient essentiels

pour mieux quantifier ce phénomène. Il serait également important de déterminer le poids relatif de chaque facteur d'aérosolisation et de dilution sur les concentrations mesurées dans l'air. Par ailleurs, la mise en place de tests précis sur les taux de renouvellement d'air, en lien avec l'efficacité de la dilution, constitue un autre axe de recherche à approfondir.

Enfin, l'évaluation de la viabilité des microorganismes permettrait de mieux comprendre leur potentiel infectieux, tandis que l'impact des variations saisonnières sur les concentrations de bioaérosols mérite d'être approfondi. Ces résultats pourraient également être intégrés aux études d'évaluation quantitative des risques microbiologiques (ÉQRM) afin de raffiner les stratégies de gestion des risques liés à l'exposition aux bioaérosols dans les environnements de traitement des eaux usées.

RÉFÉRENCES

- Abdel-Nour, M., Duncan, C., Low, D. E., & Guyard, C. (2013). Biofilms: the stronghold of *Legionella pneumophila*. *Int J Mol Sci*, 14(11), 21660-21675. <https://doi.org/10.3390/ijms141121660>
- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. A., & Ibraheem, I. B. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi J Biol Sci*, 19(3), 257-275. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>
- Adan, A., Alizada, G., Kiraz, Y., Baran, Y., & Nalbant, A. (2017). Flow cytometry: basic principles and applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37(2), 163-176. <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1128876>
- Adler, G., Flores, J. M., Abo Riziq, A., Borrman, S., & Rudich, Y. (2011). Chemical, physical, and optical evolution of biomass burning aerosols: a case study. *Atmos. Chem. Phys.*, 11(4), 1491-1503. <https://doi.org/10.5194/acp-11-1491-2011>
- Albatanony, M. A., & El-Shafie, M. K. (2011). Work-related health effects among wastewater treatment plants workers. *Int J Occup Environ Med*, 2(4), 237-244.
- Amha, Y. M., Anwar, M. Z., Kumaraswamy, R., Henschel, A., & Ahmad, F. (2017). Mycobacteria in Municipal Wastewater Treatment and Reuse: Microbial Diversity for Screening the Occurrence of Clinically and Environmentally Relevant Species in Arid Regions. *Environ Sci Technol*, 51(5), 3048-3056. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05580>
- Amoah, I. D., Kumari, S., & Bux, F. (2022). A probabilistic assessment of microbial infection risks due to occupational exposure to wastewater in a conventional activated sludge wastewater treatment plant. *Science of The Total Environment*, 843, 156849.
- An, T., Liang, Z., Chen, Z., & Li, G. (2024). Recent progress in online detection methods of bioaerosols. *Fundamental Research*, 4(3), 442-454. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fmre.2023.05.012>
- APSAM. (2023). *Risques-Risques biologiques*. <https://www.apsam.com/risques/risques-biologiques/bioaerosols>
- Arvanitidou, M., Constantinidis, T. C., Doutsos, J., Mandraveli, K., & Katsouyannopoulos, V. (1998). Occupational hepatitis B virus infection in sewage workers. *Med Lav*, 89(5), 437-444.
- Arvanitidou, M., Mamassi, P., & Vayona, A. (2004). Epidemiological evidence for vaccinating wastewater treatment plant workers against hepatitis A and hepatitis B virus. *Eur J Epidemiol*, 19(3), 259-262. <https://doi.org/10.1023/b:ejep.0000020444.64546.3b>
- Arvanitoyannis, I. S., & Kassaveti, A. (2008). 13 - Dairy Waste Management: Treatment Methods and Potential Uses of Treated Waste. Dans I. S. Arvanitoyannis (édit.), *Waste Management for the Food Industries* (p. 801-860). Academic Press.
- Azéma, N., Pouet, M.-F., Berho, C., & Thomas, O. (2002). Wastewater suspended solids study by optical methods. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 204(1-3), 131-140.
- Bach, H.-J., Tomanova, J., Schloter, M., & Munch, J. (2002a). 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.
- Bach, H. J., Tomanova, J., Schloter, M., & Munch, J. C. (2002b). Enumeration of total bacteria and bacteria with genes for proteolytic activity in pure cultures and in environmental samples by quantitative PCR mediated amplification. *Journal of Microbiological Methods*, 49(3), 235-245. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(01\)00370-0](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(01)00370-0)
- Bauer, H., Fuerhacker, M., Zibuschka, F., Schmid, H., & Puxbaum, H. (2002). Bacteria and fungi in aerosols generated by two different types of wastewater treatment plants. *Water Research*, 36(16), 3965-3970. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00121-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00121-5)
- Benami, M., Busgang, A., Gillor, O., & Gross, A. (2016). Quantification and risks associated with bacterial aerosols near domestic greywater-treatment systems. *Science of The Total Environment*, 562, 344-352. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.200](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.200)
- Bener, A., Lestringant, G. G., Dogan, M., Ibrahim, A., Pasha, M. A. H., Al-Shadli, A. M., & Islam, M. R. (1998). Respiratory symptoms and skin disorders in sewage workers. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 33(8), 1657-1674. <https://doi.org/10.1080/10934529809376810>
- Berg, H., & Berry, R. (2005). E. Coli in motion. *Physics Today*, 58, 64-65. <https://doi.org/10.1063/1.1897527>
- Berman, D., Rice, E. W., & Hoff, J. C. (1988). Inactivation of particle-associated coliforms by chlorine and monochloramine. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(2), 507-512.
- Blais-Lecours, P., Perrott, P., & Duchaine, C. (2015). Non-culturable bioaerosols in indoor settings: Impact on health and molecular approaches for detection. *Atmospheric Environment*, 110, 45-53. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.03.039>
- Blatny, J. M., Reif, B. A., Skogan, G., Andreassen, O., Høiby, E. A., Ask, E., . . . Caugant, D. A. (2008). Tracking airborne Legionella and Legionella pneumophila at a biological treatment plant. *Environ Sci Technol*, 42(19), 7360-7367. <https://doi.org/10.1021/es800306m>
- Bøifot, K. O., Gohli, J., Skogan, G., & Dybwad, M. (2020). Performance evaluation of high-volume electret filter air samplers in aerosol microbiome research. *Environmental Microbiome*, 15(1), 14. <https://doi.org/10.1186/s40793-020-00362-x>
- Bøifot, K. O., Skogan, G., & Dybwad, M. (2024). Sampling efficiency and nucleic acid stability during long-term sampling with different bioaerosol samplers. *Environ Monit Assess*, 196(6), 577. <https://doi.org/10.1007/s10661-024-12735-7>
- Bonifait, L., Veillette, M., Létourneau, V., Grenier, D., & Duchaine, C. (2014). Detection of *Streptococcus suis* in bioaerosols of swine confinement buildings. *Appl Environ Microbiol*, 80(11), 3296-3304. <https://doi.org/10.1128/aem.04167-13>
- Bourouiba, L. (2020). Turbulent Gas Clouds and Respiratory Pathogen Emissions Potential Implications for Reducing Transmission of COVID-19. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 323(18), 1837-1838. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.4756>
- Brągoszewska, E., & Pawlak, M. (2021). Health Risks Associated with Occupational Exposure to Biological Air Pollutants Occurring during the Processing of Biomass for Energy Purposes: A Case Study. *Energies*, 14(8). <https://doi.org/10.3390/en14082086>

- Brandi, G., Sisti, M., & Amagliani, G. (2000). Evaluation of the environmental impact of microbial aerosols generated by wastewater treatment plants utilizing different aeration systems. *J Appl Microbiol*, 88(5), 845-852. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01024.x>
- Brook, R. D., Franklin, B., Cascio, W., Hong, Y., Howard, G., Lipsett, M., . . . Tager, I. (2004). Air pollution and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association. *Circulation*, 109(21), 2655-2671. <https://doi.org/10.1161/01.Cir.0000128587.30041.C8>
- Brown, N. J. (1997). *Health Hazard Manual: Wastewater Treatment Plant and Sewer Workers*.
- Bruni, E., Simonetti, G., Bovone, B., Casagrande, C., Castellani, F., Riccardi, C., . . . Uccelletti, D. (2020). Evaluation of Bioaerosol Bacterial Components of a Wastewater Treatment Plant Through an Integrate Approach and In Vivo Assessment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(1). <https://doi.org/10.3390/ijerph17010273>
- Burdsall, A. C., Xing, Y., Cooper, C. W., & Harper, W. F., Jr. (2021). Bioaerosol emissions from activated sludge basins: Characterization, release, and attenuation. *Sci Total Environ*, 753, 141852. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141852>
- Cai, L., & Zhang, T. (2013). Detecting human bacterial pathogens in wastewater treatment plants by a high-throughput shotgun sequencing technique. *Environmental science & technology*, 47(10), 5433-5441.
- Caicedo, C., Rosenwinkel, K. H., Exner, M., Verstraete, W., Suchenwirth, R., Hartemann, P., & Nogueira, R. (2019). Legionella occurrence in municipal and industrial wastewater treatment plants and risks of reclaimed wastewater reuse: Review. *Water Research*, 149, 21-34. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.10.080](https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.10.080)
- Canada, A. d. l. s. p. d. (2010). *Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – Pseudomonas spp.* <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/pseudomonas.html>
- Canada, A. d. l. s. p. d. (2019a). *Legionella*. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/maladies-infectieuses/legionella.html>
- Canada, E. e. C. c. (2023a). *TRAITEMENT DES EAUX USÉES MUNICIPALES INDICATEURS CANADIENS DE DURABILITÉ DE L'ENVIRONNEMENT*. <https://www.canada.ca/content/dam/eccc/documents/pdf/cesindicators/municipal-wastewater-treatmenet/2023/traitement-eaux-usees-municipales-fr.pdf>
- Canada, P. H. A. o. (2019b). *Legionella*. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/infectious-diseases/legionella.html>
- Canada, S. (2018). *La ventilation et le milieu intérieur*. <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/publications/vie-saine/ventilation-milieu-interieur.html>
- Canada, S. (2023b). *Moisissure*. <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/qualite-air/contaminants-air-interieur/reduisez-humidite-et-moisissures.html>
- Carducci, A., Tozzi, E., Rubulotta, E., Casini, B., Cantiani, L., Rovini, E., . . . Pacini, R. (2000). Assessing airborne biological hazard from urban wastewater treatment. *Water Research*, 34(4), 1173-1178. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00264-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00264-X)

- Cayouette, A. B., Ouradou, A., Veillette, M., Turgeon, N., George, P. B. L., Corbin, S., . . . Bédard, E. (2022). Effect of Odor-Treatment Biofilter on Bioaerosols from an Indoor Wastewater Treatment Plant. *Atmosphere*, 13(10). <https://doi.org/10.3390/atmos13101723>
- Chahal, C., van den Akker, B., Young, F., Franco, C., Blackbeard, J., & Monis, P. (2016). Pathogen and Particle Associations in Wastewater: Significance and Implications for Treatment and Disinfection Processes. *Adv Appl Microbiol*, 97, 63-119. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2016.08.001>
- Chen, P.-S., & Li, C.-S. (2005). Bioaerosol characterization by flow cytometry with fluorochrome. *Journal of Environmental Monitoring*, 7(10), 950-959. 10.1039/B505224F. <https://doi.org/10.1039/B505224F>
- Chen, Y.-h., Yan, C., Yang, Y.-f., & Ma, J.-x. (2021). Quantitative microbial risk assessment and sensitivity analysis for workers exposed to pathogenic bacterial bioaerosols under various aeration modes in two wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, 755, 142615.
- Chen, Y. C., Murthy, S. N., Hendrickson, D., & Higgins, M. J. (2011). Do alternate bacterial indicators and pathogens increase after centrifuge dewatering of anaerobically digested biosolids? *Water Environ Res*, 83(11), 2057-2066. <https://doi.org/10.2175/106143010x12851009156763>
- Cieślik, B. M., Namieśnik, J., & Konieczka, P. (2015). Review of sewage sludge management: standards, regulations and analytical methods. *Journal of Cleaner Production*, 90, 1-15. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.11.031>
- Cox, J., Mbareche, H., Lindsley, W. G., & Duchaine, C. (2020). Field sampling of indoor bioaerosols. *Aerosol Science and Technology*, 54(5), 572-584. <https://doi.org/10.1080/02786826.2019.1688759>
- [#155 utilise un type de document non défini dans ce style].
- Cronholm Lois, S. (1980). Potential Health Hazards from Microbial Aerosols in Densely Populated Urban Regions. *Applied and Environmental Microbiology*, 39(1), 6-12. <https://doi.org/10.1128/aem.39.1.6-12.1980>
- Cydzik-Kwiatkowska, A., & Zielińska, M. (2016). Bacterial communities in full-scale wastewater treatment systems. *World J Microbiol Biotechnol*, 32(4), 66. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2012-9>
- Cyprowski, M., Stobnicka-Kupiec, A., Ławniczek-Wałczyk, A., Bakal-Kijek, A., Gołofit-Szymczak, M., & Górný, R. L. (2018). Anaerobic bacteria in wastewater treatment plant. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 91, 571-579.
- D. Sobsey, M., A. Khatib, L., R. Hill, V., Alocilja, E., & Pillai, S. (2006). *PATHOGENS IN ANIMAL WASTES AND THE IMPACTS OF WASTE MANAGEMENT PRACTICES ON THEIR SURVIVAL, TRANSPORT AND FATE*. ASABE.
- Dehghani, M., Sorooshian, A., Ghorbani, M., Fazlzadeh, M., Miri, M., Badiee, P., . . . Delikhoon, M. (2018). Seasonal variation in culturable bioaerosols in a wastewater treatment plant. *Aerosol and air quality research*, 18(11), 2826.
- Delort, A.-M., & Amato, P. (2017). *Microbiology of aerosols*. John Wiley & Sons.

- Dietrich, J. P., Başaǵaoǵlu, H., Loge, F. J., & Ginn, T. R. (2003). Preliminary assessment of transport processes influencing the penetration of chlorine into wastewater particles and the subsequent inactivation of particle-associated organisms. *Water Research*, 37(1), 139-149.
- Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N., & Heederik, D. (2003). Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *Ann Occup Hyg*, 47(3), 187-200. <https://doi.org/10.1093/annhyg/meg032>
- Duchaine, Veillette, M., Dupont, V. D., Mbareche, H., Brisebois, É., Lavoie, J., & Beaudet, Y. (2019). *Exposition aux bioaérosols dans les centres de traitement des eaux usées Application d'approches moléculaires et risque viral*. IRSST <https://pharesst.irsst.qc.ca/cgi/viewcontent.cgi?article=1089&context=rapports-scientifique>
- Duchaine, C., & Roy, C. J. (2022). Bioaerosols and airborne transmission: Integrating biological complexity into our perspective. *Science of the Total Environment*, 825. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154117>
- Dybwid, M., Skogan, G., & Blatny, J. M. (2014). Comparative Testing and Evaluation of Nine Different Air Samplers: End-to-End Sampling Efficiencies as Specific Performance Measurements for Bioaerosol Applications. *Aerosol Science and Technology*, 48(3), 282-295. <https://doi.org/10.1080/02786826.2013.871501>
- Environnement et ressources naturelles, G. d. C. (2025). *Données historiques*. https://climat.meteo.gc.ca/historical_data/search_historic_data_f.html
- Ethiraj, S., Samuel, M. S., & S.M, I. (2024). A comprehensive review of the challenges and opportunities in microalgae-based wastewater treatment for eliminating organic, inorganic, and emerging pollutants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 60, 103316. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103316>
- Falkinham III, J. O. (2018). Challenges of NTM drug development. *Frontiers in microbiology*, 9, 1613.
- Falkinham, J. O. (2003). Mycobacterial Aerosols and Respiratory Disease. *Emerging Infectious Disease journal*, 9(7), 763. <https://doi.org/10.3201/eid0907.020415>
- Falkinham, J. O. (2015). Environmental sources of nontuberculous mycobacteria. *Clin Chest Med*, 36(1), 35-41.
- Fathi, S., Hajizadeh, Y., Nikaeen, M., & Gorbani, M. (2017). Assessment of microbial aerosol emissions in an urban wastewater treatment plant operated with activated sludge process. *Aerobiologia*, 33(4), 507-515. <https://doi.org/10.1007/s10453-017-9486-2>
- Fedrizzi, T., Meehan, C. J., Grottola, A., Giacobazzi, E., Fregni Serpini, G., Tagliazucchi, S., . . . De Sanctis, V. (2017). Genomic characterization of nontuberculous mycobacteria. *Scientific reports*, 7(1), 45258.
- Ferguson, R. M. W., Garcia-Alcega, S., Coulon, F., Dumbrell, A. J., Whitby, C., & Colbeck, I. (2019). Bioaerosol biomonitoring: Sampling optimization for molecular microbial ecology. *Mol Ecol Resour*, 19(3), 672-690. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13002>

- Fernandes, J., Ramíso, P. J., & Puga, H. (2024). A Comprehensive Review on Various Phases of Wastewater Technologies: Trends and Future Perspectives. *Eng*, 5(4), 2633-2661. <https://www.mdpi.com/2673-4117/5/4/138>
- Fernando, N. L., & Fedorak, P. M. (2005). Changes at an activated sludge sewage treatment plant alter the numbers of airborne aerobic microorganisms. *Water Research*, 39(19), 4597-4608. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.08.010>
- Fracchia, L., Pietronave, S., Rinaldi, M., & Giovanna Martinotti, M. (2006). Site-related airborne biological hazard and seasonal variations in two wastewater treatment plants. *Water Research*, 40(10), 1985-1994. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.03.016>
- Fredricks, D. N., Smith, C., & Meier, A. (2005). Comparison of six DNA extraction methods for recovery of fungal DNA as assessed by quantitative PCR. *J Clin Microbiol*, 43(10), 5122-5128. <https://doi.org/10.1128/jcm.43.10.5122-5128.2005>
- Friis, L., Norbäck, D., & Edling, C. (1999). Self-Reported Asthma and Respiratory Symptoms in Sewage Workers. *Journal of Occupational Health*, 41(2), 87-90. <https://doi.org/10.1539/joh.41.87>
- Fuks, G., Elgart, M., Amir, A., Zeisel, A., Turnbaugh, P. J., Soen, Y., & Shental, N. (2018). Combining 16S rRNA gene variable regions enables high-resolution microbial community profiling. *Microbiome*, 6(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0396-x>
- Fykse, E. M., Aarskaug, T., Thrane, I., & Blatny, J. M. (2013). Legionella and non-Legionella bacteria in a biological treatment plant. *Can J Microbiol*, 59(2), 102-109. <https://doi.org/10.1139/cjm-2012-0166>
- Galfi, H., Haapala, J., Nordqvist, K., Westerlund, C., Blecken, G.-T., Marsalek, J., & Viklander, M. (2013). *Indicator bacteria variation in separate sewersystems in Östersund, Sweden - Preliminary results : [La variation des indicateurs bactériens et des flux de MES dans les systèmes séparatifs d'eaux pluviales à Östersund, en Suède - Résultats préliminaires]* Novatech 2013 : International Conference on Planning and Technologies for Sustainable Urban Water Management 23/06/2013 - 26/06/2013. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:ltu:diva-37578>
- Gangamma, S., Patil, R. S., & Mukherji, S. (2011). Characterization and proinflammatory response of airborne biological particles from wastewater treatment plants. *Environ Sci Technol*, 45(8), 3282-3287. <https://doi.org/10.1021/es103652z>
- Garcia-Mesa, J., Delgado-Ramos, F., Muñio, M., Hontoria, E., & Poyatos, J. (2012). Comparison of activated sludge technologies by particle size analysis. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223(7), 4319-4331.
- Gattuso, G., Rizzo, R., Lavoro, A., Spoto, V., Porciello, G., Montagnese, C., . . . Salmeri, M. (2022). Overview of the Clinical and Molecular Features of *Legionella pneumophila*: Focus on Novel Surveillance and Diagnostic Strategies. *Antibiotics (Basel)*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030370>
- Gaviria-Figueroa, A., Preisner, E. C., Hoque, S., Feigley, C. E., & Norman, R. S. (2019). Emission and dispersal of antibiotic resistance genes through bioaerosols generated during the treatment of municipal sewage. *Science of the Total Environment*, 686, 402-412.

- Gendron, L., Verreault, D., Veillette, M., Moineau, S., & Duchaine, C. (2010). Evaluation of Filters for the Sampling and Quantification of RNA Phage Aerosols. *Aerosol Science and Technology*, 44(10), 893-901. <https://doi.org/10.1080/02786826.2010.501351>
- Gholipour, S., Mohammadi, F., Nikaeen, M., Shamsizadeh, Z., Khazeni, A., Sahbaei, Z., . . . Mirhendi, H. (2021). COVID-19 infection risk from exposure to aerosols of wastewater treatment plants. *Chemosphere*, 273, 129701. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129701>
- Ghosh, B., Lal, H., & Srivastava, A. (2015). Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms. *Environment International*, 85, 254-272. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.09.018>
- Giusti, L. (2009). A review of waste management practices and their impact on human health. *Waste Management*, 29(8), 2227-2239. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.03.028>
- Grisoli, P., Albertoni, M., & Rodolfi, M. (2019). Application of Airborne Microorganism Indexes in Offices, Gyms, and Libraries. *Applied Sciences*, 9, 1101. <https://doi.org/10.3390/app9061101>
- Grisoli, P., Rodolfi, M., Villani, S., Grignani, E., Cottica, D., Berri, A., . . . Dacarro, C. (2009). Assessment of airborne microorganism contamination in an industrial area characterized by an open composting facility and a wastewater treatment plant. *Environmental Research*, 109(2), 135-142. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2008.11.001>
- Guo, X., Wu, P., Ding, W., Zhang, W., & Li, L. (2014). Reduction and characterization of bioaerosols in a wastewater treatment station via ventilation. *Journal of Environmental Sciences*, 26(8), 1575-1583. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jes.2014.06.001>
- Haig, S.-J., Kotlarz, N., LiPuma John, J., & Raskin, L. (2018). A High-Throughput Approach for Identification of Nontuberculous Mycobacteria in Drinking Water Reveals Relationship between Water Age and *Mycobacterium avium*. *mBio*, 9(1), 10.1128/mBio.02354-02317. <https://doi.org/10.1128/mBio.02354-17>
- Haig, S. J., Kotlarz, N., LiPuma, J. J., & Raskin, L. (2018). A High-Throughput Approach for Identification of Nontuberculous Mycobacteria in Drinking Water Reveals Relationship between Water Age and *Mycobacterium avium*. *mBio*, 9(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/mBio.02354-17>
- Hamoda, M. F. (2006). Air pollutants emissions from waste treatment and disposal facilities. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 41(1), 77-85. <https://doi.org/10.1080/10934520500298895>
- Han, Y., Li, L., Liu, J., & Zhang, M. (2012). Microbial structure and chemical components of aerosols caused by rotating brushes in a wastewater treatment plant. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(9), 4097-4108. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0885-1>
- Han, Y., Li, L., Wang, Y., Ma, J., Li, P., Han, C., & Liu, J. (2020). Composition, dispersion, and health risks of bioaerosols in wastewater treatment plants: A review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 15(3), 38. <https://doi.org/10.1007/s11783-020-1330-1>

- Han, Y., Wang, Y., Li, L., Xu, G., Liu, J., & Yang, K. (2018). Bacterial population and chemicals in bioaerosols from indoor environment: sludge dewatering houses in nine municipal wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, 618, 469-478.
- Han, Y., Yang, K., Yang, T., Zhang, M., & Li, L. (2019). Bioaerosols emission and exposure risk of a wastewater treatment plant with A2O treatment process. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169, 161-168. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.018>
- Han, Y., Yang, T., Xu, G., Li, L., & Liu, J. (2020). Characteristics and interactions of bioaerosol microorganisms from wastewater treatment plants. *Journal of Hazardous Materials*, 391, 122256. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122256>
- Han, Y., Yang, T., Yan, X., Li, L., & Liu, J. (2020). Effect of aeration mode on aerosol characteristics from the same wastewater treatment plant. *Water Research*, 170, 115324. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115324>
- Hannouche, A., Chebbo, G., Ruban, G., Tassin, B., Lemaire, B. J., & Joannis, C. (2011). Relationship between turbidity and total suspended solids concentration within a combined sewer system. *Water Science and Technology*, 64(12), 2445-2452.
- Harshitha, R., & Arunraj, D. R. (2021). Real-time quantitative PCR: A tool for absolute and relative quantification. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 49(5), 800-812. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/bmb.21552>
- Haworth, C. S., Banks, J., Capstick, T., Fisher, A. J., Gorsuch, T., Laurenson, I. F., . . . Nightingale, M. (2017). British Thoracic Society Guideline for the management of non-tuberculous mycobacterial pulmonary disease (NTM-PD). *BMJ open respiratory research*, 4(1).
- Heinonen-Tanski, H., Reponen, T., & Koivunen, J. (2009a). Airborne enteric coliphages and bacteria in sewage treatment plants. *Water Res*, 43(9), 2558-2566. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.03.006>
- Heinonen-Tanski, H., Reponen, T., & Koivunen, J. (2009b). Airborne enteric coliphages and bacteria in sewage treatment plants. *Water Research*, 43(9), 2558-2566. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.03.006>
- Hendricks, R., & Pool, E. J. (2012). The effectiveness of sewage treatment processes to remove faecal pathogens and antibiotic residues. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 47(2), 289-297. <https://doi.org/10.1080/10934529.2012.637432>
- Heng, B., Goh, K., Doraisingham, S., & Quek, G. (1994). Prevalence of hepatitis A virus infection among sewage workers in Singapore. *Epidemiology & Infection*, 113(1), 121-128.
- Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P. S., & Griffith, R. (1992). Simultaneous Amplification and Detection of Specific DNA Sequences. *Bio/Technology*, 10(4), 413-417. <https://doi.org/10.1038/nbt0492-413>
- Hinds, W. C. (1999). *Aerosol technology : properties, behavior, and measurement of airborne particles* (2nd^e éd.). Wiley.
- Hinds, W. C., & Zhu, Y. (2022). *Aerosol technology: properties, behavior, and measurement of airborne particles*. John Wiley & Sons.

- Holland, P. M., Abramson, R. D., Watson, R., & Gelfand, D. H. (1991). Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'----3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(16), 7276-7280. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.16.7276>
- Honda, J. R., Virdi, R., & Chan, E. D. (2018). Global environmental nontuberculous mycobacteria and their contemporaneous man-made and natural niches. *Frontiers in microbiology*, 9, 2029.
- Hotel, D. E. S. (2015). Evidence of Wastewater Treatment Plant Worker Biohazard Exposure and Health Symptom Responses.
- Hou, J., Fujiyoshi, S., Perera, I. U., Nishiuchi, Y., Nakajima, M., Ogura, D., . . . Maruyama, F. (2023). Perspectives on Sampling and New Generation Sequencing Methods for Low-Biomass Bioaerosols in Atmospheric Environments. *J Indian Inst Sci*, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s41745-023-00380-x>
- Huang, Z., Yu, X., Liu, Q., Maki, T., Alam, K., Wang, Y., . . . Huang, J. (2024). Bioaerosols in the atmosphere: A comprehensive review on detection methods, concentration and influencing factors. *Science of The Total Environment*, 912, 168818. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168818>
- Huffman, J. A., Perring, A. E., Savage, N. J., Clot, B., Crouzy, B., Tummon, F., . . . Pan, Y. (2020). Real-time sensing of bioaerosols: Review and current perspectives. *Aerosol Science and Technology*, 54(5), 465-495. <https://doi.org/10.1080/02786826.2019.1664724>
- Hung, H. F., Kuo, Y. M., Chien, C. C., & Chen, C. C. (2010). Use of floating balls for reducing bacterial aerosol emissions from aeration in wastewater treatment processes. *Journal of Hazardous Materials*, 175(1), 866-871. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.090>
- Hygienists, A. C. o. G. I. (1998). *Industrial ventilation* <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/001/acgih.manual.1998.pdf>
- INRS. (2019). *Les risques biologiques professionnels, états des lieux, des connaissances* file:///C:/Users/Salim%20Khaddouma/Downloads/cc31.pdf
- Irvine, K., Somogyi, E., & Pettibone, G. (2002). Turbidity, suspended solids, and bacteria relationships in the Buffalo River Watershed. *Middle States Geographer*, 35.
- Jabeen, R., Ahmed, M. E., Hamouda, M. A., & Aly Hassan, A. (2023). Bioaerosols in Wastewater Treatment Plants: Trends, Recent Advances, and the Influence of SARS-CoV-2 Outbreak. *Water*, 15(24), 4208. <https://www.mdpi.com/2073-4441/15/24/4208>
- Jahangiri, M., Neghab, M., Nasiri, G., Aghabeigi, M., Khademian, V., Rostami, R., . . . Rasooli, J. (2015). Respiratory disorders associated with occupational inhalational exposure to bioaerosols among wastewater treatment workers of petrochemical complexes. *Int J Occup Environ Med*, 6(1), 41-49. <https://doi.org/10.15171/ijoem.2015.458>
- Jahne, M., Rogers, S., Holsen, T., & Grimberg, S. (2014). Quantitative microbial risk assessment of bioaerosols from a manure application site. *Aerobiologia*, 31, 1-15. <https://doi.org/10.1007/s10453-014-9348-0>

- Janda, J. M., & Abbott Sharon, L. (2007). 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2761-2764. <https://doi.org/10.1128/jcm.01228-07>
- Joannis, C., Ruban, G., Gromaire, M.-C., Bertrand-Krajewski, J.-L., & Chebbo, G. (2008). Reproducibility and uncertainty of wastewater turbidity measurements. *Water Science and Technology*, 57(10), 1667-1673.
- Jover-Smet, M., Martín-Pascual, J., & Trapote, A. (2017). Model of Suspended Solids Removal in the Primary Sedimentation Tanks for the Treatment of Urban Wastewater. *Water*, 9(6), 448. <https://www.mdpi.com/2073-4441/9/6/448>
- Jurasz, H., Pawłowski, T., & Perlejewski, K. (2021). Contamination Issue in Viral Metagenomics: Problems, Solutions, and Clinical Perspectives. *Front Microbiol*, 12, 745076. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.745076>
- Karra, S., & Katsivela, E. (2007). Microorganisms in bioaerosol emissions from wastewater treatment plants during summer at a Mediterranean site. *Water Research*, 41(6), 1355-1365. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.12.014>
- Kataki, S., Patowary, R., Chatterjee, S., Vairale, M. G., Sharma, S., Dwivedi, S. K., & Kamboj, D. V. (2022). Bioaerosolization and pathogen transmission in wastewater treatment plants: Microbial composition, emission rate, factors affecting and control measures. *Chemosphere*, 287. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132180>
- Katsivela, E., Latos, E., Raisi, L., Aleksandropoulou, V., & Lazaridis, M. (2017). Particle size distribution of cultivable airborne microbes and inhalable particulate matter in a wastewater treatment plant facility. *Aerobiologia*, 33. <https://doi.org/10.1007/s10453-016-9470-2>
- Kembel, S. W., Wu, M., Eisen, J. A., & Green, J. L. (2012). Incorporating 16S Gene Copy Number Information Improves Estimates of Microbial Diversity and Abundance. *PLOS Computational Biology*, 8(10), e1002743. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002743>
- Kepner, R. L., & Pratt, J. R. (1994). Use of fluorochromes for direct enumeration of total bacteria in environmental samples: past and present. *Microbiological Reviews*, 58(4), 603-615. <https://doi.org/10.1128/mr.58.4.603-615.1994>
- Khuder, S. A., Arthur, T., Bisesi, M. S., & Schaub, E. A. (1998). Prevalence of infectious diseases and associated symptoms in wastewater treatment workers. *Am J Ind Med*, 33(6), 571-577. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0274\(199806\)33:6<571::aid-ajim8>3.0.co;2-t](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0274(199806)33:6<571::aid-ajim8>3.0.co;2-t)
- Kindzierski, W., Bari, M. A., Wang, X., Wetmore, T., Maal-Bared, R., Michaels, C., & Hotel, D. (2015). *Evidence of Wastewater Treatment Plant Worker Biohazard Exposure and Health Symptom Responses*.
- Korzeniewska, E. (2011). Emission of bacteria and fungi in the air from wastewater treatment plants—a review. *Front biosci (Schol ed)*, 3, 393-407.
- Korzeniewska, E., & Harnisz, M. (2012). Culture-Dependent and Culture-Independent Methods in Evaluation of Emission of Enterobacteriaceae from Sewage to the Air and Surface Water. *Water Air Soil Pollut*, 223(7), 4039-4046. <https://doi.org/10.1007/s11270-012-1171-z>

- Kowalski, M., Wolany, J., Pastuszka, J., Plaza, G., Wlazło, A., Ulfig, K., & Malina, A. (2017). Characteristics of airborne bacteria and fungi in some Polish wastewater treatment plants. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14, 2181-2192.
- Kralik, P., & Ricchi, M. (2017). A Basic Guide to Real Time PCR in Microbial Diagnostics: Definitions, Parameters, and Everything. *Frontiers in Microbiology*, 8. Review. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00108>
- Kundu, D., Dutta, D., Joseph, A., Jana, A., Samanta, P., Bhakta, J. N., & Alreshidi, M. A. (2024). Safeguarding drinking water: A brief insight on characteristics, treatments and risk assessment of contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*, 196(2), 180. <https://doi.org/10.1007/s10661-024-12311-z>
- Lange, J. L., Thorne, P. S., & Lynch, N. (1997). Application of flow cytometry and fluorescent in situ hybridization for assessment of exposures to airborne bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(4), 1557-1563. <https://doi.org/10.1128/aem.63.4.1557-1563.1997>
- Larios-Martínez, A. D., Barrales-Fernández, C., Alvarez-Chavez, P. E., Méndez-Carreto, C., Sandoval-Salas, F., Ruiz-Colorado, N., . . . Avalos-Ramírez, A. (2022). Chapter 4 - Modular treatment approach for drinking water and wastewater: introduction to a sustainable approach to decentralized treatment systems. Dans S. Kaur Brar, P. Kumar, & A. Cuprys (édit.), *Modular Treatment Approach for Drinking Water and Wastewater* (p. 55-66). Elsevier.
- Larios, A., Laxman, v., Alvarez-Chavez, B., Kuknur, P., Palacios, J., Shivanand, P., . . . Zhang, T. (2018). Current Status of Resources/Energy Recovery from Wastewater and Environmental Management. Dans (p. 237-247).
- Lee, B. U. (2011). Life Comes from the Air: A Short Review on Bioaerosol Control. *Aerosol and Air Quality Research*, 11(7), 921-927. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2011.06.0081>
- Lee, S.-H., Lee, H.-J., Kim, S.-J., Lee, H. M., Kang, H., & Kim, Y. P. (2010). Identification of airborne bacterial and fungal community structures in an urban area by T-RFLP analysis and quantitative real-time PCR. *Science of The Total Environment*, 408(6), 1349-1357. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.10.061>
- Lemieux, J., Veillette, M., Mbareche, H., & Duchaine, C. (2019). Re-aerosolization in Liquid-based Air Samplers Induces Bias in Bacterial Diversity. *Aerosol Science and Technology*, 53, 1-23. <https://doi.org/10.1080/02786826.2019.1652242>
- Levy, P. F., A. Bar-Tal (Eds.). (2010). *Treated Wastewater in Agriculture: Use and Impacts on the Soil Environment and Crops*.
- Lhuissier, H., & Villermaux, E. (2012). Bursting bubble aerosols. *Journal of Fluid Mechanics*, 696, 5-44. <https://doi.org/10.1017/jfm.2011.418>
- Li, J., Zhou, L., Zhang, X., Xu, C., Dong, L., & Yao, M. (2016). Bioaerosol emissions and detection of airborne antibiotic resistance genes from a wastewater treatment plant. *Atmospheric Environment*, 124, 404-412. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.06.030>

- Li, M., Wang, L., Qi, W., Liu, Y., & Lin, J. (2021). Challenges and Perspectives for Biosensing of Bioaerosol Containing Pathogenic Microorganisms. *Micromachines*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/mi12070798>
- Li, P., Li, L., Wang, Y., Zheng, T., & Liu, J. (2021). Characterization, factors, and UV reduction of airborne bacteria in a rural wastewater treatment station. *Science of The Total Environment*, 751, 141811. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141811>
- Li, Y., Qiu, X., Li, M., Ma, Z., Niu, T., & Feng, Y. (2012). Concentration and Size Distribution of Airborne Actinomycetes in a Municipal Wastewater Treatment Plant. *Polish journal of environmental studies*, 21(5).
- Li, Y., Zhang, H., Qiu, X., Zhang, Y., & Wang, H. (2013). Dispersion and risk assessment of bacterial aerosols emitted from rotating-brush aerator during summer in a wastewater treatment plant of Xi'an, China. *Aerosol and air quality research*, 13(6), 1807-1814.
- Liu, H., Zhang, Z., Wen, N., & Wang, C. (2018). Determination and risk assessment of airborne endotoxin concentrations in a university campus. *Journal of Aerosol Science*, 115, 146-157.
- Liu, J., Kang, X., Liu, X., Yue, P., Sun, J., & Lu, C. (2020). Simultaneous removal of bioaerosols, odors and volatile organic compounds from a wastewater treatment plant by a full-scale integrated reactor. *Process Saf Environ Prot*, 144, 2-14. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.07.003>
- Liu, M., Nobu, M. K., Ren, J., Jin, X., Hong, G., & Yao, H. (2020). Bacterial compositions in inhalable particulate matters from indoor and outdoor wastewater treatment processes. *Journal of Hazardous Materials*, 385, 121515. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121515>
- Liu, T., Zhang, J., Cao, J., Zheng, H., Zhan, C., Liu, H., . . . Zhang, D. (2023). Identification of coexistence of biological and non-biological aerosol particles with DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) stain. *Particuology*, 72, 49-57. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.partic.2022.02.009>
- Liu, Y., Štefanič, P., Miao, Y., Xue, Y., Xun, W., Zhang, N., . . . Mandic-Mulec, I. (2022). Housekeeping gene *gyrA*, a potential molecular marker for *Bacillus* ecology study. *AMB Express*, 12(1), 133. <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01477-9>
- Lou, M., Liu, S., Gu, C., Hu, H., Tang, Z., Zhang, Y., . . . Li, F. (2021a). The bioaerosols emitted from toilet and wastewater treatment plant: a literature review. *Environ Sci Pollut Res Int*, 28(3), 2509-2521. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11297-8>
- Lou, M. M., Liu, S., Gu, C. J., Hu, H. M., Tang, Z. K., Zhang, Y. P., . . . Li, F. (2021b). The bioaerosols emitted from toilet and wastewater treatment plant: a literature review. *ENVIRONMENTAL SCIENCE AND POLLUTION RESEARCH*, 28(3), 2509-2521. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11297-8>
- Luhung, I., Uchida, A., Lim, S. B. Y., Gaultier, N. E., Kee, C., Lau, K. J. X., . . . Schuster, S. C. (2021). Experimental parameters defining ultra-low biomass bioaerosol analysis. *npj Biofilms and Microbiomes*, 7(1), 37. <https://doi.org/10.1038/s41522-021-00209-4>
- Madge, B. A., & Jensen, J. N. (2006). Ultraviolet disinfection of fecal coliform in municipal wastewater: effects of particle size. *Water Environment Research*, 78(3), 294-304.

- Madhavi, T. P., & Rajkumar, R. (2013). Utilisation of natural coagulant for reduction of turbidity from waste water.
- Madsen, A. M., Uhrbrand, K., Kofoed, V. C., Fischer, T. K., & Frederiksen, M. W. (2023). A cohort study of wastewater treatment plant workers: Association between levels of biomarkers of systemic inflammation and exposure to bacteria and fungi, and endotoxin as measured using two methods. *Water Research*, 231, 119625. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.119625>
- Makuwa, S., Green, E., Fosso-Kankeu, E., Moroaswi, V., & Tlou, M. (2023). A Snapshot of the Influent and Effluent Bacterial Populations in a Wastewater Treatment Plant in the North-West Province, South Africa. *Applied Microbiology*, 3(3), 764-773. <https://www.mdpi.com/2673-8007/3/3/53>
- Malinen, E., Kassinen, A., Rinttilä, T., & Palva, A. (2003). Comparison of real-time PCR with SYBR Green I or 5'-nuclease assays and dot-blot hybridization with rDNA-targeted oligonucleotide probes in quantification of selected faecal bacteria. *Microbiology*, 149(1), 269-277.
- Manohar, S. M., Shah, P., & Nair, A. (2021). Flow Cytometry: Principles, Applications and Recent Advances. *Bioanalysis*, 13(3), 181-198. <https://doi.org/10.4155/bio-2020-0267>
- Mara, D. (2013). Domestic Wastewater Treatment in Developing Countries. *Domestic Wastewater Treatment in Developing Countries*, 1-293. <https://doi.org/10.4324/9781849771023>
- Masclaux, F. G., Hotz, P., Gashi, D., Savova-Bianchi, D., & Oppiger, A. (2014a). Assessment of airborne virus contamination in wastewater treatment plants. *Environ Res*, 133, 260-265. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.06.002>
- Masclaux, F. G., Hotz, P., Gashi, D., Savova-Bianchi, D., & Oppiger, A. (2014b). Assessment of airborne virus contamination in wastewater treatment plants. *Environmental research*, 133, 260-265.
- Maynard, C., Berthiaume, F., Lemarchand, K., Harel, J., Payment, P., Bayardelle, P., . . . Brousseau, R. (2005). Waterborne pathogen detection by use of oligonucleotide-based microarrays. *Applied and environmental microbiology*, 71(12), 8548-8557.
- Mbareche, H., Brisebois, E., Veillette, M., & Duchaine, C. (2017). Bioaerosol sampling and detection methods based on molecular approaches: No pain no gain. *Science of the Total Environment*, 599, 2095-2104. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.076>
- Mbareche, H., Dion-Dupont, V., Veillette, M., Brisebois, E., Lavoie, J., & Duchaine, C. (2022). Influence of seasons and sites on bioaerosols in indoor wastewater treatment plants and proposal for air quality indicators. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 72(9), 1000-1011. <https://doi.org/10.1080/10962247.2022.2066735>
- Mbareche, H., Veillette, M., Bilodeau, G. J., & Duchaine, C. (2018). Bioaerosol Sampler Choice Should Consider Efficiency and Ability of Samplers To Cover Microbial Diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(23). <https://doi.org/10.1128/aem.01589-18>
- MELCC. (2012). *Guide pour l'étude des technologies conventionnelles du traitement des eaux usées d'origine domestique - chapitre 7*. <https://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/eaux-usees/domestique/Chap7.pdf>

- MELCC. (2019a). *Bilan de performance des ouvrages municipaux d'assainissement des eaux usées pour l'année 2019.* <https://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/eaux-usees/ouvrages-municipaux/bilan-performance-omaeu-2019.pdf>
- MELCC. (2019b). *GUIDE POUR L'ÉTABLISSEMENT DES NORMES DE REJET D'UNE INSTALLATION DE TRAITEMENT DES EAUX USÉES D'ORIGINE DOMESTIQUE.* <https://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/eaux-usees/art32/Etablissement-normes-rejet-station-epuration.pdf>
- MELCC. (2022). *Bilan de performance des ouvrages municipaux d'assainissement des eaux usées pour l'année 2020.* <https://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/eaux-usees/ouvrages-municipaux/bilan-performance-omaeu-2020.pdf>
- MELCCFP. (2023a). *Guide pour l'étude des technologies conventionnelles de traitement des eaux usées d'origine domestique.* <https://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/eaux-usees/domestique/5-pretraitement.pdf>
- MELCCFP. (2023b). *Guide pour l'étude des technologies conventionnelles de traitement des eaux usées d'origine domestique*
18. *Autres éléments d'une station d'épuration – Préliminaire.* <https://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/eaux-usees/domestique/18-autres-elements-station-epuration.pdf>
- MELCCFP. (2023c). *Guide pour l'étude des technologies conventionnelles de traitement des eaux usées d'origine domestique. 11. Procédés biologiques mécanisés à cultures fixées et procédés hybrides – Préliminaire.* <https://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/eaux-usees/domestique/11-procedes-bio-mecanises-cultures-fixes.pdf>
- MELCCFP. (2023d). *Suivi environnemental des installations de traitement des eaux usées d'origine domestique.* <https://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/eaux-usees/domest-communautaire-municipal/suivi-installations-traitements-eaux-domestique.pdf>
- Metcalf, amp, & Eddy, I. (2003). *Wastewater engineering : treatment and reuse.* Fourth edition / revised by George Tchobanoglous, Franklin L. Burton, H. David Stensel. Boston : McGraw-Hill, [2003] ©2003.
- Michael H. Gerardi, M. C. Z. (2004). *Wastewater Pathogens.*
- Michałkiewicz, M. (2019). Wastewater Treatment Plants as a Source of Bioaerosols. *Polish Journal of Environmental Studies*, 28(4), 2261-2271. <https://doi.org/10.15244/pjoes/90183>
- Miguel, N., Sarasa, J., López, A., Gómez, J., Mosteo, R., & Ormad, M. P. (2020). Study of Evolution of Microbiological Properties in Sewage Sludge-Amended Soils: A Pilot Experience. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(18), 6696. <https://www.mdpi.com/1660-4601/17/18/6696>
- Mirzaee, S. A., Nikaeen, M., Hajizadeh, Y., Nabavi, B. F., & 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. *Adv Biomed Res*, 4, 48. <https://doi.org/10.4103/2277-9175.151540>

- Morawska, L., & Milton, D. K. (2020). It is time to address airborne transmission of COVID-19. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, ciaa939.
- Morgan, J. L., Darling, A. E., & Eisen, J. A. (2010). Metagenomic Sequencing of an In Vitro-Simulated Microbial Community. *PLOS ONE*, 5(4), e10209. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010209>
- Nazaroff, W. W. (2016). Indoor bioaerosol dynamics. *Indoor Air*, 26(1), 61-78. <https://doi.org/10.1111/ina.12174>
- Neis, U., & Tiehm, A. (1997). Particle size analysis in primary and secondary waste water effluents. *Water science and technology*, 36(4), 151-158.
- Niazi, S., Hassanvand, M. S., Mahvi, A. H., Nabizadeh, R., Alimohammadi, M., Nabavi, S., . . . Yunesian, M. (2015). Assessment of bioaerosol contamination (bacteria and fungi) in the largest urban wastewater treatment plant in the Middle East. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(20), 16014-16021. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4793-z>
- NIOSH, N. I. f. O. S. a. H. (1994). *Bioaerosol Sampling (Indoor Air)*.
- Nocker, A., & Camper, A. K. (2006). Selective removal of DNA from dead cells of mixed bacterial communities by use of ethidium monoazide. *Appl Environ Microbiol*, 72(3), 1997-2004. <https://doi.org/10.1128/aem.72.3.1997-2004.2006>
- Nola, M., Nijne, T., Boutin, C., Messouli, M., Servais, P., Menbohan, S. F., . . . Kemka, N. (2004). Rétention de Escherichia coli d'un eau d'infiltration en sol équatorial au Cameroun (Afrique Centrale) : Rôle de divers horizons de sol. *Journal of the Cameroon academy of sciences*, 4, 107-116.
- Nola, M., Njiné, T., Kemka, N., Togouet, S. H., Servais, P., Messouli, M., . . . Menbohan, S. (2006). Transfert des bactéries fécales vers une nappe phréatique à travers une colonne de sol en région équatoriale : influence de la charge en eau appliquée en surface. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 19(2), 101-112. <https://doi.org/https://doi.org/10.7202/013044ar>
- Numberger, D., Ganzert, L., Zoccarato, L., Mühlendorfer, K., Sauer, S., Grossart, H.-P., & Greenwood, A. D. (2019). Characterization of bacterial communities in wastewater with enhanced taxonomic resolution by full-length 16S rRNA sequencing. *Scientific Reports*, 9(1), 9673. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46015-z>
- Okoh, A. I., Odadjare, E. E., Igbinosa, E. O., & Osode, A. N. (2007). Wastewater treatment plants as a source of microbial pathogens in receiving watersheds. *African Journal of Biotechnology*, 6(25).
- Oppiger, A. (2005). Influence of seasons and sampling strategy on assessment of bioaerosols in sewage treatment plants in Switzerland. *Annals of Occupational Hygiene*, 49(5). <https://polymtl.on.worldcat.org:443/atoztitles/link?sid=Compendex>
- Ouradou, A. (2023). *Impact microbiologique des systèmes de traitement des odeurs sur les bioaérosols émis par les stations de traitement des eaux usées*, Polytechnique Montréal]. <https://publications.polymtl.ca/10843/>

- Ouradou, A., Veillette, M., Belanger Cayouette, A., Corbin, S., Boulanger, C., Dorner, S., . . . Bedard, E. (2023). Effect of odor treatment systems on bioaerosol microbial concentration and diversity from wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, 874. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162419>
- Pallares-Vega, R., Blaak, H., van der Plaats, R., de Roda Husman, A. M., Hernandez Leal, L., van Loosdrecht, M. C. M., . . . Schmitt, H. (2019). Determinants of presence and removal of antibiotic resistance genes during WWTP treatment: A cross-sectional study. *Water Res*, 161, 319-328. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.100>
- Pallarès, A., François, P., Pons, M.-N., & Schmitt, P. (2011). Suspended particles in wastewater: their optical, sedimentation and acoustical characterization and modeling. *Water Science and Technology*, 63(2), 240-247.
- Palmgren, U., Ström, G., Blomquist, G., & Malmberg, P. (1986). Collection of airborne microorganisms on Nuclepore filters, estimation and analysis—CAMNEA method. *Journal of Applied Bacteriology*, 61(5), 401-406. [https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1986.tb04303.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1986.tb04303.x)
- Parte, A. C. (2018). LPSN—List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (bacterio.net), 20 years on. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 68(6), 1825-1829.
- Pasalari, H., Ataei-Pirkoooh, A., Aminikhah, M., Jafari, A. J., & Farzadkia, M. (2019). Assessment of airborne enteric viruses emitted from wastewater treatment plant: Atmospheric dispersion model, quantitative microbial risk assessment, disease burden. *Environmental Pollution*, 253, 464-473. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.010>
- Pascual, L., Pérez-Luz, S., Yáñez, M. A., Santamaría, A., Gibert, K., Salgot, M., . . . Catalán, V. (2003a). Bioaerosol emission from wastewater treatment plants. *Aerobiologia*, 19(3), 261-270. <https://doi.org/10.1023/B:AERO.0000006598.45757.7f>
- Pascual, L., Pérez-Luz, S., Yáñez, M. A., Santamaría, A., Gibert, K., Salgot, M., . . . Catalán, V. (2003b). Bioaerosol emission from wastewater treatment plants. *Aerobiologia*, 19, 261-270.
- Pengcheng, X., Chongmiao, Z., Xiao, M., & Xiaochang, C. W. Bioaerosol in a typical municipal wastewater treatment plant: concentration, size distribution, and health risk assessment. *Water Sci Technol*. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.416>
- Pereira, A., Silva, A. R., & Melo, L. F. (2021). Legionella and Biofilms-Integrated Surveillance to Bridge Science and Real-Field Demands. *Microorganisms*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061212>
- Perrott, P., Turgeon, N., Gauthier-Levesque, L., & Duchaine, C. (2017). Preferential aerosolization of bacteria in bioaerosols generated in vitro. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 688-697. <https://doi.org/10.1111/jam.13514>
- Pillai, S. B., & Thombre, N. V. (2020). Coagulation, Flocculation, and Precipitation in Water and Used Water Purification. Dans J. Lahnsteiner (édit.), *Handbook of Water and Used Water Purification* (p. 1-25). Springer International Publishing.

- Prazmo, Z., Krysinska-Traczyk, E., Skorska, C., Sitkowska, J., Cholewa, G., & Dutkiewicz, J. (2003). Exposure to bioaerosols in a municipal sewage treatment plant. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 10(2).
- Quach-Cu, J., Herrera-Lynch, B., Marciniak, C., Adams, S., Simmerman, A., & Reinke, R. A. (2018). The Effect of Primary, Secondary, and Tertiary Wastewater Treatment Processes on Antibiotic Resistance Gene (ARG) Concentrations in Solid and Dissolved Wastewater Fractions. *Water*, 10(1), 37. <https://www.mdpi.com/2073-4441/10/1/37>
- Québec, C. d. e. e. a. e. d. (2015). *Détermination des solides en suspension totaux et volatils: méthode gravimétrique* <https://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/pdf/methode-analyse-115-solides-suspension.pdf>
- Raven, K. E., Ludden, C., Gouliouris, T., Blane, B., Naydenova, P., Brown, N. M., . . . Peacock, S. J. (2019). Genomic surveillance of Escherichia coli in municipal wastewater treatment plants as an indicator of clinically relevant pathogens and their resistance genes. *Microb Genom*, 5(5). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000267>
- Renee, M. B.-C., & Mark, A. G. (2008). Bacterial air pollution at a wastewater treatment plant. *BIOS*, 79(4), 150-159. <https://doi.org/10.1893/0005-3155-79.4.150>
- Rinsoz, T., Duquenne, P., Greff-Mirquet, G., & Oppliger, A. (2008). Application of real-time PCR for total airborne bacterial assessment: Comparison with epifluorescence microscopy and culture-dependent methods. *Atmospheric Environment*, 42(28), 6767-6774. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.05.018>
- Roulová, N., Mot'ková, P., Brožková, I., & Pejchalová, M. (2022). Antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospital wastewater in the Czech Republic. *Journal of Water and Health*, 20(4), 692-701. <https://doi.org/10.2166/wh.2022.101>
- Rui, D. (2006). The Progress of Atmospheric Bioaerosol Research. *Climatic and Environmental Research*.
- Rylander, R. (1999). Health effects among workers in sewage treatment plants. *Occupational and Environmental Medicine*, 56(5), 354. <https://doi.org/10.1136/oem.56.5.354>
- Rylander, R. (2002). Endotoxin in the environment--exposure and effects. *J Endotoxin Res*, 8(4), 241-252. <https://doi.org/10.1179/096805102125000452>
- Rylander, R., Andersson, K., Belin, L., Berglund, G., Bergstrom, R., Hanson, L. A., . . . Mattsby, I. (1976). SEWAGE WORKERS SYNDROME. *Lancet*, 2(7983), 478-479. <Go to ISI>://WOS:A1976CB79600058
- S. Fane, P. V., Y. Bajon-Fernandez, E. Cartmell, A. Nocker, J. Harris and S. Tyrrel. (2020). Protect and survive: the fate of pathogens in stored sludge. <https://www.sludgeprocessing.com/features/protect-and-survive-the-fate-of-pathogens-in-stored-sludge/#:~:text=Whilst%20dewatering%20operations%20tend%20to,of%20pathogens%20can%20be%20mitigated>
- Salter, S., Cox, M., Turek, E., Calus, S., Cookson, W., Moffatt, M., . . . Walker, A. (2014). Reagent contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/007187>

- Sanchez-Monedero, M. A., Aguilar, M. I., Fenoll, R., & Roig, A. (2008). Effect of the aeration system on the levels of airborne microorganisms generated at wastewater treatment plants. *Water Research*, 42(14), 3739-3744. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.06.028>
- Sánchez-Monedero, M. A., Aguilar, M. I., Fenoll, R., & Roig, A. (2008). Effect of the aeration system on the levels of airborne microorganisms generated at wastewater treatment plants. *Water Research*, 42(14), 3739-3744. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.06.028>
- Sawyer, B., Elenbogen, G., Rao, K. C., O'Brien, P., Zenz, D. R., & Lue-Hing, C. (1993). Bacterial aerosol emission rates from municipal wastewater aeration tanks. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(10), 3183-3186. <https://doi.org/10.1128/aem.59.10.3183-3186.1993>
- Schlosser, O., Grall, D., & Laurenceau, M. N. (1999). Intestinal parasite carriage in workers exposed to sewage. *Eur J Epidemiol*, 15(3), 261-265. <https://doi.org/10.1023/a:1007535426462>
- Schroeder, E. D. (2003). Water Resources. Dans R. A. Meyers (édit.), *Encyclopedia of Physical Science and Technology (Third Edition)* (p. 721-751). Academic Press.
- 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), 2247-2252. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02817.x>
- Shannon, K., Lee, D.-Y., Trevors, J., & Beaudette, L. (2007). Application of real-time quantitative PCR for the detection of selected bacterial pathogens during municipal wastewater treatment. *Science of the total environment*, 382(1), 121-129.
- Sharma, S. K., & Upadhyay, V. (2020). Epidemiology, diagnosis & treatment of non-tuberculous mycobacterial diseases. *Indian J Med Res*, 152(3), 185-226. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_902_20
- Sigari, G., Panatto, D., Lai, P., Stefani, L., Giuntini, A., Carducci, A., & Gasparini, R. (2006). Virological investigation on aerosol from waste depuration plants. *J Prev Med Hyg*, 47(1), 4-7.
- Singh, N. K., Sanghvi, G., Yadav, M., Padhiyar, H., & Thanki, A. (2021). A state-of-the-art review on WWTP associated bioaerosols: Microbial diversity, potential emission stages, dispersion factors, and control strategies. *Journal of Hazardous Materials*, 410, 124686. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124686>
- Sjoholm, P., Ingham, D. B., Lehtimaki, M., Perttu-Roiha, L., Goodfellow, H., & Torvela, H. (2001). 13 - GAS-CLEANING TECHNOLOGY. Dans H. Goodfellow & E. Tähti (édit.), *Industrial Ventilation Design Guidebook* (p. 1197-1316). Academic Press.
- Sonwani, S., Yadav, A., & Saxena, P. (2021). Chapter 8 - Atmospheric Brown Carbon: A Global Emerging Concern for Climate and Environmental Health. Dans P. Singh, C. M. Hussain, & S. Rajkhowa (édit.), *Management of Contaminants of Emerging Concern (CEC) in Environment* (p. 225-247). Elsevier.

- Stevik, T. K., Aa, K., Ausland, G., & Hanssen, J. F. (2004). Retention and removal of pathogenic bacteria in wastewater percolating through porous media: a review. *Water research*, 38(6), 1355-1367.
- Stobnicka-Kupiec, A., Gołofit-Szymczak, M., Cyprowski, M., & Górný, R. L. (2022). Detection and identification of potentially infectious gastrointestinal and respiratory viruses at workplaces of wastewater treatment plants with viability qPCR/RT-qPCR. *Scientific Reports*, 12(1), 4517. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08452-1>
- Stout, J. E., Yu, V. L., & Best, M. G. (1985). Ecology of Legionella pneumophila within water distribution systems. *Appl Environ Microbiol*, 49(1), 221-228. <https://doi.org/10.1128/aem.49.1.221-228.1985>
- Szyłak-Szydłowski, M., Kulig, A., & Miaśkiewicz-Pęska, E. (2016). Seasonal changes in the concentrations of airborne bacteria emitted from a large wastewater treatment plant. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 115, 11-16.
- Taylor, S. C., Nadeau, K., Abbasi, M., Lachance, C., Nguyen, M., & Fenrich, J. (2019). The Ultimate qPCR Experiment: Producing Publication Quality, Reproducible Data the First Time. *Trends in Biotechnology*, 37(7), 761-774. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.12.002>
- Tchobanoglous, G., Franklin, L. M., Burton, E. C., & Stensel, H. D. (2011). *Wastewater Engineering Treatment and Reuse (Fourth Edition)*.
- Teixeira, J. V., Miranda, S., Monteiro, R. A., Lopes, F. V., Madureira, J., Silva, G. V., . . . Boaventura, R. A. (2013). Assessment of indoor airborne contamination in a wastewater treatment plant. *Environ Monit Assess*, 185(1), 59-72. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2533-0>
- Teltsch, B., Shuval, H. I., & Tadmor, J. (1980). Die-away kinetics of aerosolized bacteria from sprinkler application of wastewater. *Appl Environ Microbiol*, 39(6), 1191-1197. <https://doi.org/10.1128/aem.39.6.1191-1197.1980>
- Templeton, M. R., & Butler, D. (2014). *Introduction to wastewater treatment*. Bookboon.
- Thorn, J., & Beijer, L. (2004). Work-related symptoms and inflammation among sewage plant operatives. *Int J Occup Environ Health*, 10(1), 84-89. <https://doi.org/10.1179/oeh.2004.10.1.84>
- Thorn, J., Beijer, L., & Rylander, R. (2002). Work related symptoms among sewage workers: a nationwide survey in Sweden. *Occup Environ Med*, 59(8), 562-566. <https://doi.org/10.1136/oem.59.8.562>
- Thorn, J., & Kerekes, E. (2001). Health effects among employees in sewage treatment plants: A literature survey. *American Journal of Industrial Medicine*, 40(2), 170-179. <https://doi.org/10.1002/ajim.1085.abs>
- Thorn, J., & Rylander, R. (1998). Inflammatory response after inhalation of bacterial endotoxin assessed by the induced sputum technique. *Thorax*, 53(12), 1047-1052. <https://doi.org/10.1136/thx.53.12.1047>
- Tian, J., Yan, C., Alcega, S. G., Hassard, F., Tyrrel, S., Coulon, F., & Nasir, Z. A. (2022). Detection and characterization of bioaerosol emissions from wastewater treatment plants: Challenges

- and opportunities. *Front Microbiol*, 13, 958514. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.958514>
- Tignat-Perrier, R., Dommergue, A., Thollot, A., Magand, O., Amato, P., Joly, M., . . . Larose, C. (2020). Seasonal shift in airborne microbial communities. *Science of The Total Environment*, 716, 137129. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137129](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137129)
- Tortoli, E., Fedrizzi, T., Meehan, C. J., Trovato, A., Grottola, A., Giacobazzi, E., . . . Bettua, C. (2017). The new phylogeny of the genus Mycobacterium: the old and the news. *Infection, Genetics and Evolution*, 56, 19-25.
- Tseng, C. C., & Li, C. S. (2005). Collection efficiencies of aerosol samplers for virus-containing aerosols. *J Aerosol Sci*, 36(5), 593-607. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2004.12.004>
- Uhrbrand, K., Schultz, A. C., Koivisto, A. J., Nielsen, U., & Madsen, A. M. (2017). Assessment of airborne bacteria and noroviruses in air emission from a new highly-advanced hospital wastewater treatment plant. *Water Research*, 112, 110-119. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.046>
- Uhrbrand, K., Schultz, A. C., & Madsen, A. M. (2011). Exposure to Airborne Noroviruses and Other Bioaerosol Components at a Wastewater Treatment Plant in Denmark. *Food and Environmental Virology*, 3(3), 130-137. <https://doi.org/10.1007/s12560-011-9068-3>
- Upadhyay, N., Sun, Q., Allen, J. O., Westerhoff, P., & Herckes, P. (2013). Characterization of aerosol emissions from wastewater aeration basins. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 63(1), 20-26. <https://doi.org/10.1080/10962247.2012.726693>
- van den Berg, H., Lodder, W., Bartels, A., Brandsema, P., Vermeulen, L., Lynch, G., . . . de Roda Husman, A. M. (2023). Legionella detection in wastewater treatment plants with increased risk for Legionella growth and emission. *J Water Health*, 21(9), 1291-1302. <https://doi.org/10.2166/wh.2023.164>
- Vermeulen, L. C., Brandsema, P. S., van de Kassteele, J., Bom, B. C. J., Sterk, H. A. M., Sauter, F. J., . . . de Roda Husman, A. M. (2021). Atmospheric dispersion and transmission of Legionella from wastewater treatment plants: A 6-year case-control study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 237, 113811. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2021.113811>
- Větrovský, T., & Baldrian, P. (2013). The Variability of the 16S rRNA Gene in Bacterial Genomes and Its Consequences for Bacterial Community Analyses. *PLOS ONE*, 8(2), e57923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057923>
- Vishwakarma, Y. K., Mayank, Ram, K., Gogoi, M. M., Banerjee, T., & Singh, R. S. (2024). Bioaerosol emissions from wastewater treatment process at urban environment and potential health impacts. *Journal of Environmental Management*, 361, 121202. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.121202>
- Vítězová, M., Vitez, T., Mlejnková, H., & Lošák, T. (2012). Microbial contamination of the air at the wastewater treatment plant. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 60, 233-240. <https://doi.org/10.11118/actaun201260030233>
- Wan, J., Zhang, Z., Huo, Y., Wang, X., Wang, Y., Wu, J., & Huo, M. (2023). Particle Size Matters: Distribution, Source, and Seasonality Characteristics of Airborne and Pathogenic Bacteria

- in Wastewater Treatment Plants. *Atmosphere*, 14(3). <https://doi.org/10.3390/atmos14030465>
- Wang, H. X., Reponen, T., Adhikari, A., Willeke, K., & Grinshpun, S. A. (2004). Effect of Fluid Type and Microbial Properties on the Aerosolization of Microorganisms from Metalworking Fluids. *Aerosol Science and Technology*, 38(12), 1139-1148. <https://doi.org/10.1080/027868290891488>
- Wang, R.-n., Li, X., & Yan, C. (2021). Seasonal fluctuation of aerosolization ratio of bioaerosols and quantitative microbial risk assessment in a wastewater treatment plant. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(48), 68615-68632.
- Wang, Y., Lan, H., Li, L., Yang, K., Qu, J., & Liu, J. (2018a). Chemicals and microbes in bioaerosols from reaction tanks of six wastewater treatment plants: survival factors, generation sources, and mechanisms. *Scientific Reports*, 8(1), 9362. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27652-2>
- Wang, Y., Lan, H., Li, L., Yang, K., Qu, J., & Liu, J. (2018b). Chemicals and microbes in bioaerosols from reaction tanks of six wastewater treatment plants: survival factors, generation sources, and mechanisms. *Sci Rep*, 8(1), 9362. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27652-2>
- Wang, Y., Li, L., Han, Y., Liu, J., & Yang, K. (2018). Intestinal bacteria in bioaerosols and factors affecting their survival in two oxidation ditch process municipal wastewater treatment plants located in different regions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 154, 162-170.
- Wang, Y., Li, L., Xue, S., Han, Y., & Yang, K. (2019). Characteristics and formation mechanism of intestinal bacteria particles emitted from aerated wastewater treatment tanks. *Water Research*, 163, 114862. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114862>
- Wang, Y., Liu, Y., Yang, K., Yang, L., Zhang, S., Ba, Y., & Zhou, G. (2023). The bioaerosols generated from the sludge treatment process: Bacterial and fungal variation characteristics, source tracking, and risk assessment. *Science of The Total Environment*, 903, 166193.
- Wang, Y., Yang, L., Wild, O., Zhang, S., Yang, K., Wang, W., & Li, L. (2023). ADMS simulation and influencing factors of bioaerosol diffusion from BRT under different aeration modes in six wastewater treatment plants. *Water Research*, 231, 119624. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.119624>
- Whitby, C., Ferguson, R. M. W., Colbeck, I., Dumbrell, A. J., Nasir, Z. A., Marczylo, E., . . . Coulon, F. (2022). Chapter Three - Compendium of analytical methods for sampling, characterization and quantification of bioaerosols. Dans D. A. Bohan & A. Dumbrell (édit.), *Advances in Ecological Research* (vol. 67, p. 101-229). Academic Press.
- WHO. (2009). *WHO guideline for indoor air quality : dampness and mould*.
- WHO. (2022). *Legionellosis*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/legionellosis#:~:text=The%20bacteria%20live%20and%20grow,that%20use d%20to%20infect%20protozoa>
- Wilson, W. R., Sande, M. A., & Drew, W. L. (2001). *CURRENT Diagnosis & Treatment in Infectious Diseases*. McGraw-Hill Companies, Incorporated.

Winn, W. C., Jr. (1996). Legionella. Dans S. Baron (édit.), *Medical Microbiology*. University of Texas Medical Branch at Galveston

Copyright © 1996, The University of Texas Medical Branch at Galveston.

Wong, L. T., Chan, W. Y., Mui, K. W., & Lai, A. C. K. (2010). An Experimental and Numerical Study on Deposition of Bioaerosols in a Scaled Chamber. *Aerosol Science and Technology*, 44(2), 117-128. <https://doi.org/10.1080/02786820903426226>

Xu, G., Han, Y., Li, L., & Liu, J. (2018). Characterization and source analysis of indoor/outdoor culturable airborne bacteria in a municipal wastewater treatment plant. *Journal of Environmental Sciences*, 74, 71-78.

Xu, P., Zhang, C., Mou, X., & Wang, X. C. (2020). Bioaerosol in a typical municipal wastewater treatment plant: concentration, size distribution, and health risk assessment. *Water Sci Technol*, 82(8), 1547-1559. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.416>

Yan, C., Leng, Y.-l., & Wu, J.-t. (2021). Quantitative microbial risk assessment for occupational health of temporary entrants and staffs equipped with various grade PPE and exposed to microbial bioaerosols in two WWTPs. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 94, 1327-1343.

Yang, J., Li, L., Tang, Q., Hu, P., Yan, W., & Zhang, R. (2025). Modeling the Droplet Size Distribution of Atomizers with Different Cage Diameters for Large-Payload Unmanned Aerial Vehicles (UAVs). *Agronomy*, 15(3), 647. <https://www.mdpi.com/2073-4395/15/3/647>

Yang, K.-X., Hou, H.-X., Wang, Y.-Z., Shi, H.-R., Xu, G.-S., Han, Y.-P., . . . Li, L. (2018). Characteristics of bioaerosols emitted from WWTP with SBR treatment process. *Huanjing ke xue= Huanjing kexue*, 39(11), 4909-4914.

Yang, K., Li, L., Wang, Y., Xue, S., Han, Y., & Liu, J. (2019). Airborne bacteria in a wastewater treatment plant: Emission characterization, source analysis and health risk assessment. *Water Research*, 149, 596-606. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.11.027>

Yang, T., Han, Y. P., Liu, J. X., & Li, L. (2019). Aerosols from a wastewater treatment plant using oxidation ditch process: Characteristics, source apportionment, and exposure risks. *Environmental Pollution*, 250, 627-638. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.071>

Yang, T., Jiang, L., Bi, X., Cheng, L., Zheng, X., Wang, X., & Zhou, X. (2022). Submicron aerosols share potential pathogens and antibiotic resistomes with wastewater or sludge. *Science of The Total Environment*, 821, 153521. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153521>

Yoo, K., Lee, T. K., Choi, E. J., Yang, J., Shukla, S. K., Hwang, S.-i., & Park, J. (2017). Molecular approaches for the detection and monitoring of microbial communities in bioaerosols: A review. *Journal of Environmental Sciences*, 51, 234-247. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.07.002>

Yücesoy, E., Lüdemann, N., Lucas, H., Tan, J., & Denecke, M. (2012). Protein analysis as a measure of active biomass in activated sludge. *Water Sci Technol*, 65(8), 1483-1489. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.029>

- Zang, N., Tian, H., Kang, X., & Liu, J. (2024). Bioaerosolization behaviour of potential pathogenic microorganisms from wastewater treatment plants: Occurrence profile, social function and health risks. *Science of the Total Environment*, 923. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171300>
- Zengler, K., Toledo, G., Rappe, M., Elkins, J., Mathur, E. J., Short, J. M., & Keller, M. (2002). Cultivating the uncultured. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(24), 15681-15686. <https://doi.org/10.1073/pnas.252630999>
- Zhang, X. H., Ahmad, W., Zhu, X. Y., Chen, J., & Austin, B. (2021). Viable but nonculturable bacteria and their resuscitation: implications for cultivating uncultured marine microorganisms. *Mar Life Sci Technol*, 3(2), 189-203. <https://doi.org/10.1007/s42995-020-00041-3>
- Zita, A., & Hermansson, M. (1994). Effects of ionic strength on bacterial adhesion and stability of flocs in a wastewater activated sludge system. *Appl Environ Microbiol*, 60(9), 3041-3048. <https://doi.org/10.1128/aem.60.9.3041-3048.1994>
- Zuskin, E., Mustajbegovic, J., & Schachter, E. N. (1993). Respiratory function in sewage workers. *Am J Ind Med*, 23(5), 751-761. <https://doi.org/10.1002/ajim.4700230509>

ANNEXE A LES CAMPAGNES D'ÉCHANTILLONNAGE DE LA PHASE

1

Tableau A.1 Calendrier d'échantillonnage : Phase 1 : Été 2023

	Dimanche	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi
Juillet-2023	2	3	4	5 STEU 1	6 STEU 2*	7	8
	9	10	11 STEU 3	12 STEU 4	13 STEU 5*	14	15
	16	17	18 STEU 6*	19 STEU 7	20 STEU 8	21	22
	23	24	25 STEU 9	26 STEU 10	27 STEU 11	28	29
Août-2023	30	31 STEU 12*	1 STEU 13	2 STEU 14	3 STEU 15*	4	5

* : Station visitée avant la campagne d'échantillonnage

ANNEXE B PARAMÉTRES PHYSICO-CHMIQUES ET LES CONCENTRATIONS BACTÉRIENNES

Tableau B.1. Paramètres physicochimiques, les concentrations des cibles microbiologiques dans les eaux usées et les mesures de l'humidité relative dans l'air

	pH	MES (mg/L)	MVES (mg/L)	Turbidité (NTU)	Humidité relative (%)	<i>Bactéries</i> <i>totales</i> (CG/L)	<i>NTM</i> (CG/L)	<i>Legionella spp</i> (CG/L)	<i>E. coli</i> (CG/L)	<i>P. aeruginosa</i> (CG/L)
Maximum	8,1	25450	12683,3	15063,7	91,5	1,95E+11	7,62E+11	4,62E+09	4,03E+10	3,80E+08
Moyenne	7,3	216,3	207,2	660,6	70,1	6,37E+09	3,49E+06	1,96E+07	4,84E+08	5,64E+06
Minimum	5,4	0	0	0,2	35	7,72E+04	4,39E+03	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00

MES: Matières en suspension; MVES: Matières volatiles en suspension; NTM: *Mycobactéries non-tuberculeuses*; *Legionella spp*: *Legionella species*; *E.coli*: *Escherichia coli*; *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*

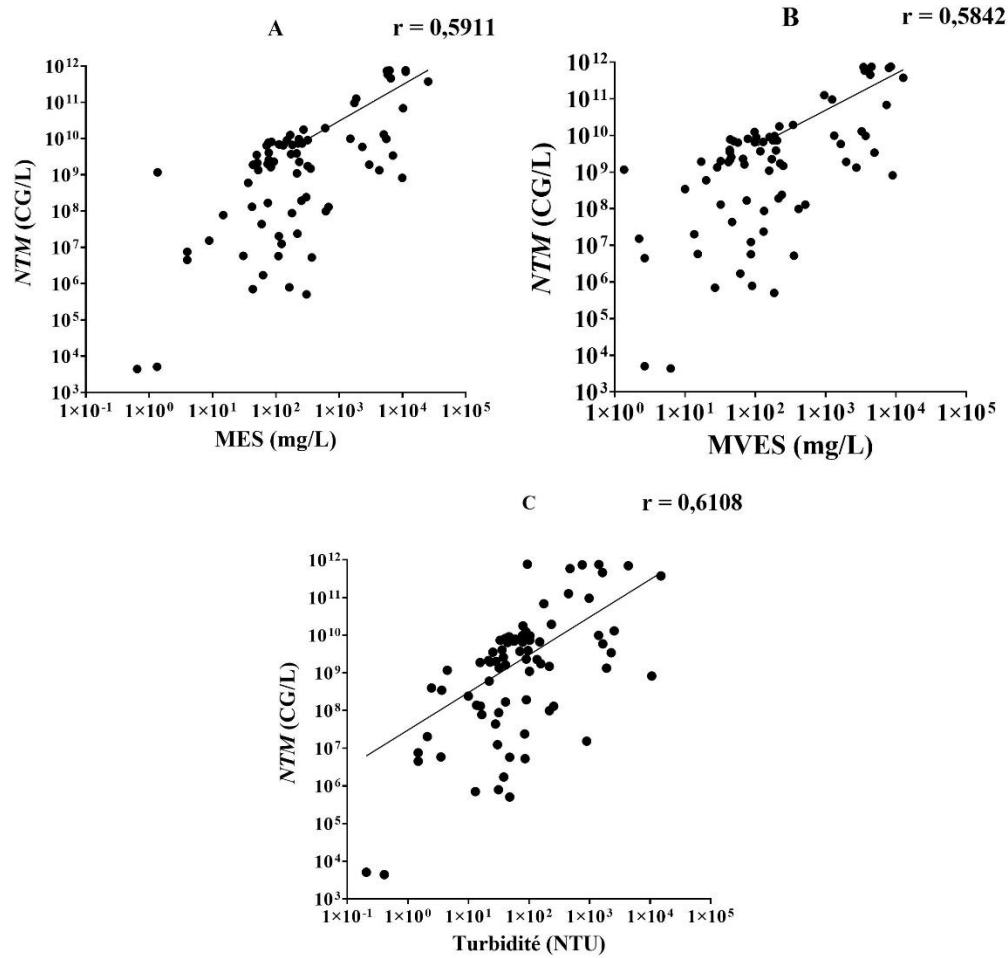


Figure B.1 Corrélation entre les paramètres physico-chimiques et NTM dans les eaux usées

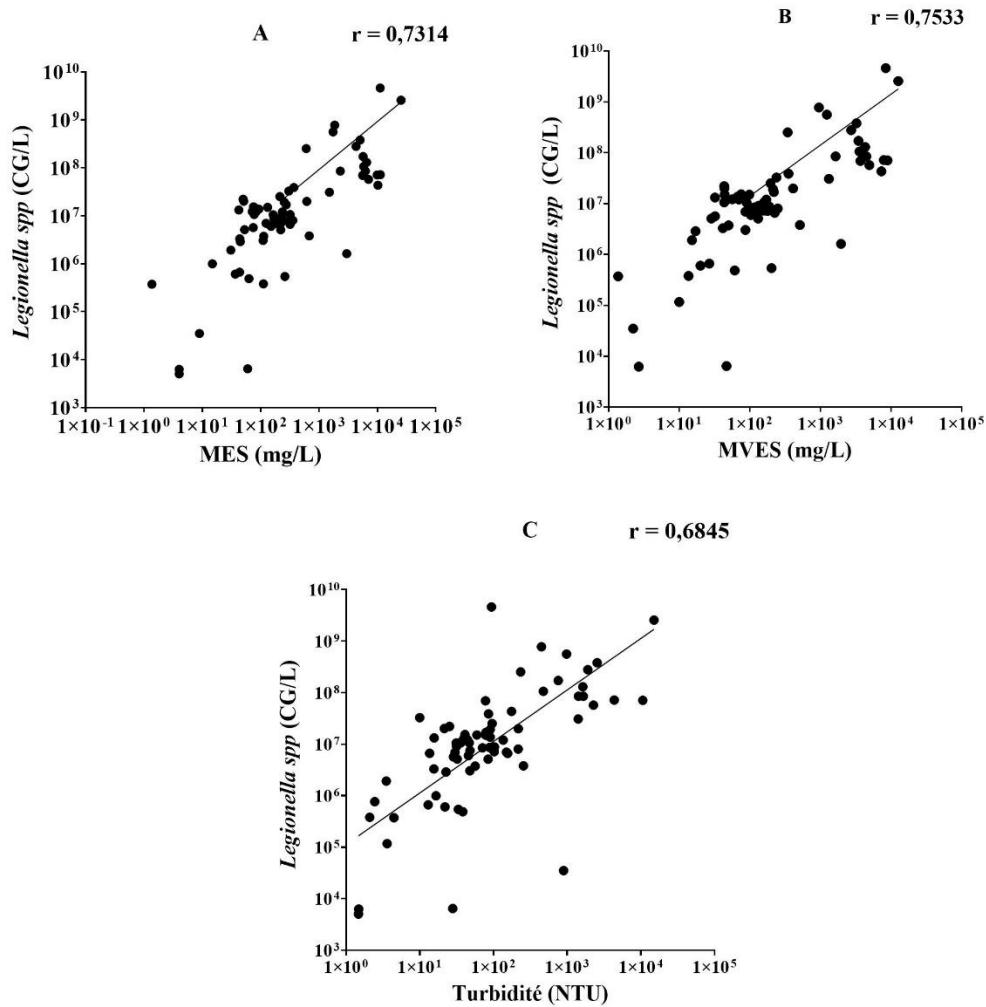


Figure B.2 Corrélation entre les paramètres physico-chimiques et *Legionella spp* dans les eaux usées

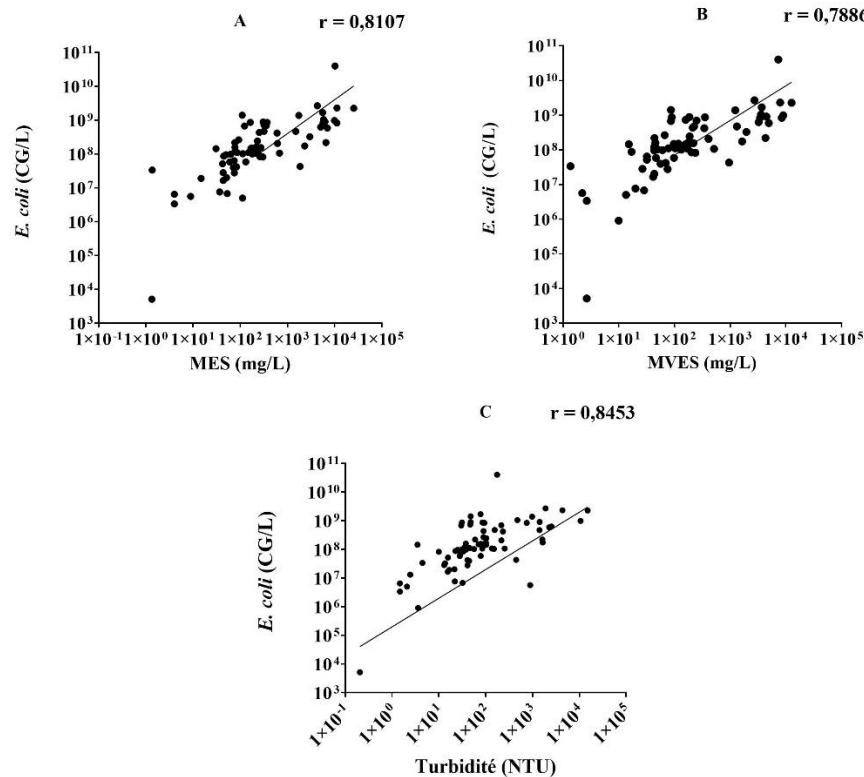


Figure B.3 Corrélation entre les paramètres physico-chimiques et *E. coli* dans les eaux usées

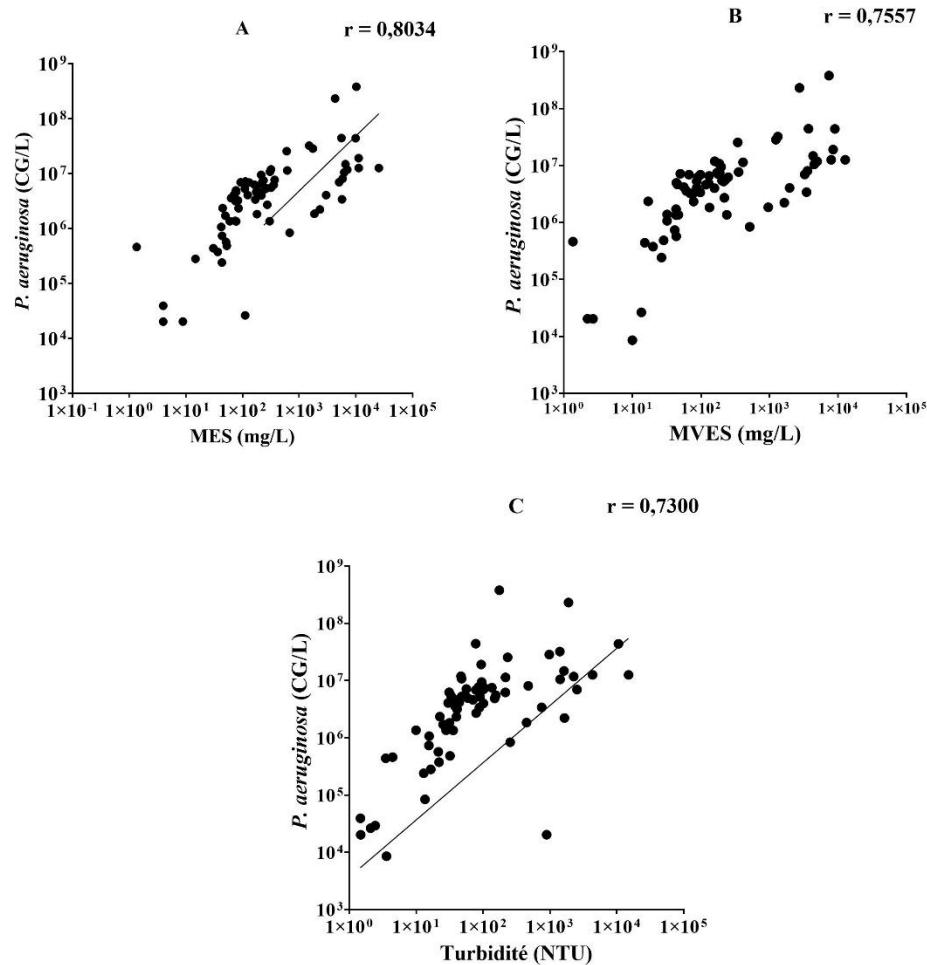


Figure B.4 Corrélation entre les paramètres physico-chimiques et *P. aeruginosa* dans les eaux usées

Tableau B.2. Coefficients de corrélation entre les cibles microbiologiques et les paramètres physico-chimiques

Cibles	r			
	MES	MVES	Turbidité	pH
<i>Bactéries totales</i>	0,7568	0,7557	0,7300	-0,4213
<i>NTM</i>	0,5911	0,5842	0,6108	-0,3327
<i>Legionella spp</i>	0,7314	0,7533	0,6845	-0,4311
<i>E. coli</i>	0,8107	0,7886	0,8453	-0,3546
<i>P. aeruginosa</i>	0,8034	0,7869	0,7860	-0,3319

ANNEXE C LES CONCENTRATIONS DES BACTÉRIES TOTALES ET LES NOTATIONS DES FACTEURS QUALITATIFS

Tableau C.1 Coefficients de corrélation entre les concentrations des différentes cibles microbiologiques dans l'air et les notations des facteurs d'aérosolisation

	<i>Bactéries totales</i>	<i>NTM</i>	<i>Legionella spp</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Vapeur/ Microgouttelettes	0,1694	0,05994	0,2290	0,1550	0,2577
Chutes	0,2090	0,1477	0,1851	0,1122	-0,04762
Brassage	0,3454	0,3877	0,3323	0,3684	0,4637
Aération	0,3520	0,2584	0,4084	0,2822	0,2130
Aérosolisation	0,3526	0,2862	0,3618	0,2788	0,4106

Tableau C.2 Coefficients de corrélation entre les concentrations des différentes cibles microbiologiques dans l'air et les notations des facteurs de dilution

	<i>Bactéries totales</i>	<i>NTM</i>	<i>Legionella spp</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Configuration Spatiale	0,2719	0,1610	0,1959	0,3297	0,3164
Ventilation	-0,2266	-0,1310	-0,1944	-0,1665	0,04392
Dilution	0,003724	-0,007020	0,002080	0,06780	0,2131

Procédé	Dessableur										Explication	
	Station	Bactéries totales	Configuration spatiale	Ventilation	Vapeur/Spray	Brassage/Mélange	Aération	Chute d'eau ou de déchets)	Aérosolisation	Dilution	Potentiel d'exposition	
1	1,01E+05	0	0	3,5	5	5	5	0	3,4	0,0	1,7	Dilution efficace : Procédé à l'extérieur/concentrations enregistrées auraient pu être encore plus faibles. L'emplacement de l'échantillonneur dans une zone de faible ventilation (à côté d'un mur). Effet de concentration)
2	1,74E+03	3	1	4,5	3,5	3		2,5	3,375	2	2,6875	Dilution efficace + faible aérosolisation
3	5,71E+05	2	3	2	5	4,5		5	4,125	2,5	3,3125	Dilution inefficace
5	1,59E+05	3	3,5	3,5	5	3,5		0	3,0	3,3	3,1	Dilution inefficace
6	4,74E+04	4	2,5	2	3	3		0	2	3,25	2,625	Aérosolisation faible/Dilution efficace
8	1,21E+05	2,5	0,5	1,5	4,5	4		0	2,5	1,5	2	Dilution inefficace (zone morte de ventilation)
10	1,29E+05	3,5	3	1	2,75	3		0	1,6875	3,25	2,46875	Dilution inefficace
12	2,14E+05	1,5	1	2,5	4,5	4,5		1	3,1	1,3	2,2	Influence des procédés adjacents
13	7,66E+04	0	0	2	4	3		5	3,5	0,0	1,8	Effet de concentration par un toit (à l'extérieur)
14	3,82E+04	0	0	2	4	3,5		3	3,1	0,0	1,6	Influence des procédés adjacents
15	3,40E+06	1,5	1,5	1,5	4,5	4,5		3	3,4	1,5	2,4	Dilution inefficace + Influence des procédés adjacents
Moyenne des procédés	4,42E+05	1,91	1,45	2,36	4,16	3,77		1,77	3,02	1,68	2,35	

Figure C.1. Concentrations des *bactéries totales* et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les dessableurs échantillonnés dans les différentes stations

Procédé	Bassin de boues activées										Explication
	Station	Bactéries totales	Configuration spatiale	Ventilation	Vapeur/Spray	Brassage/Mélange	Aération	Chutte (d'eau ou de déchets)	Aérosolisation	Dilution	
1	1,98E+03	0	0	4	5	5	0	3,5	0,0	Dilution efficace : Procédé à l'extérieur	
4.1	1,47E+04	0	0	0	1	5	0	1,5	0,0	Dilution efficace/Influence des procédés adjacents	
4.2	3,46E+04	0	0	2	3	5	5	3,8	0,0	Dilution efficace/Influence des procédés adjacents	
9	3,02E+05	0	0	5	5	4,5	5	4,9	0,0	Aérosolisation importante/Effet de concentration par un mur	
Moyenne des procédés	8,82E+04	0,00	0,00	2,75	3,50	4,88	2,50	3,41	0,00		

Figure C.2 Concentrations des *bactéries totales* et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les bassins de boues actives échantillonnés dans les différentes stations

Procédé	Décanteur										Explication
	Station	Bactéries totales	Configuration spatiale	Ventilation	Vapeur/Spray	Brassage/Mélange	Aération	Chutte (d'eau ou de déchets)	Aérosolisation	Dilution	
1	1,32E+03	0	0	2,5	2	1	2,5	2,0	0,0	1,0	Dilution efficace : Procédé à l'extérieur
2	2,63E+04	3	1	4	2	0	1,5	1,88	2	1,94	Dilution inefficace
3	1,67E+04	4,5	4	0	1	0,5	0,5	0,5	4,25	2,38	Dilution inefficace
9	4,03E+03	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	Dilution efficace : Procédé à l'extérieur
11	1,63E+05	2	2	2	0,5	0	0,5	0,8	2,0	1,4	Dilution inefficace
15	9,60E+05	1	2,5	0	0	0	1	0,3	1,8	1,0	Dilution inefficace : Effet de concentration par des murs
Moyenne des procédés	1,95E+05	1,75	1,58	1,42	0,92	0,25	1,00	0,90	1,67	1,28	

Figure C.3 Concentrations des *bactéries totales* et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les décanteurs échantillonnés dans les différentes stations

Procédé	Station	UV										Explication
		Bactéries totales	Configuration spatiale	Ventilation	Vapeur/Microgouttelettes	Brassage/Mélange	Aération	Chutte (d'eau ou de déchets)	Aérosolisation	Dilution	Potentiel d'exposition	
3	1,08E+04	5	5	0	1	0	2,5	0,88	5	2,94	Faible surface d'aérosolisation	
4.1	8,18E+03	5	5	0	1	0	4,5	1,4	5,0	3,2	Procédé confiné (tapis)	
6	1,04E+03	4	4	0	1	0	0	0,25	4	2,13	Faible surface d'aérosolisation	
7	1,23E+05	2	1,5	0	0,5	0	0	0,13	1,75	0,94	Dilution inefficace (salle vaste + ventilation non performante)	
8	1,39E+05	1	1	2	2,5	0	4	2,13	1	1,56	Zone morte de ventilation	
13	0,00E+00	2	3,5	0	0,5	0	2	0,6	2,8	1,7	Faible aérosolisation + Dilution efficace	
14	8,98E+04	3	4	1	1	0	1,5	0,9	3,5	2,2	Forte aérosolisation + Dilution inefficace	
Moyenne des procédés	5,32E+04	3,14	3,43	0,43	1,07	0,00	2,07	0,89	3,29	2,09		

Figure C.4 Concentrations des *bactéries totales* et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les procédés de traitement par les ultraviolets échantillonnés dans les différentes stations

Procédé	Biofiltre en filtration											
	Station	Bactéries totales	Configuration spatiale D	Ventilation	Vapeur/Microgouttelettes	Brassage/Mélangé	Aération	Chutte (d'eau ou de déchets)	Aérosolisation	Dilution	Potentiel d'exposition	Explication
3	9,28E+04	4,5	1	1,5	4	4,5	1	2,75	2,75	2,75	Dilution efficace: Ventilation performante + Volume faible de la salle = Taux de renouvellement d'air élevé	
5	2,24E+06	2	2	2	3,5	2	4	2,9	2,0	2,4	Dilution inefficace	
6	3,21E+06	3	3	2	2	2	0	1,5	3	2,25	Dilution inefficace	
11	2,02E+06	0,5	4	4	4	4	4	4,0	2,3	3,1	Dilution inefficace	
13	2,54E+03	0	0	1	3	2	2,5	2,1	0,0	1,1	Dilution efficace: Procédé à l'extérieur	
Moyenne des procédés	1,51E+06	2,00	2,00	2,10	3,30	2,90	2,30	2,65	2,00	2,33		

Figure C.5 Concentrations des *bactéries totales* et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les biofiltres en fonction normal échantillonnés dans les différentes stations

Procédé	Station	Biofiltre en lavage										Explication
		Bactéries totales	Configuration spatiale	Ventilation	Vapeur/Microgouttelettes	Brassage/Mélange	Aération	Chute (d'eau ou de déchets)	Aérosolisation	Dilution	Potentiel d'exposition	
5	0,00E+00	2	2	4,5	4	4,5	1	3,5	2,0	2,8	Dilution efficace : Procédé à l'extérieur	
6	7,23E+06	3	3	3	4	5	4	4	3	3,5	Dilution inefficace	
11	1,15E+06	0,5	4	5	4,5	4	4	4,4	2,3	3,3	Dilution inefficace	
13	2,43E+03	0	0	5	5	5	1	4,0	0,0	2,0	Dilution efficace : Procédé à l'extérieur	
Moyenne des procédés	2,10E+06	1,38	2,25	4,38	4,38	4,63	2,50	3,97	1,81	2,89		

Figure C.6 Concentrations des *bactéries totales* et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les biofiltres en lavage échantillonnés dans les différentes stations

Procédé	Station	Mélangeurs rapides										Explication
		Bactéries totales	Configuration spatiale	Ventilation	Vapeur/Microgouttelettes	Brassage/Mélange	Aération	Chute (d'eau ou de déchets)	Aérosolisation	Dilution	Potentiel d'exposition	
5	4,37E+05	2,5	3	1,5	5	0	3	2,4	2,8	2,6	Dilution inefficace	
8	4,83E+05	1	1	0,5	3	0,5	2	1,5	1	1,25	Dilution inefficace	
14	3,06E+04	0	0	4	5	2	3,5	3,6	0,0	1,8	Dilution efficace : Procédé à l'extérieur	
Moyenne des procédés	3,17E+05	1,17	1,33	2,00	4,33	0,83	2,83	2,50	1,25	1,88		

Figure C.7 Concentrations des *bactéries totales* et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les mélangeurs rapides échantillonnés dans les différentes stations

Procédé	Vis d'Archimède											Explication
	Station	Bactéries totales	Configuration spatiale	Ventilation	Vapeur/Microgouttelettes	Brassage/Mélange	Aération	Chutte	Aérosolisation	Dilution	Potentiel d'exposition	
6	1,07E+04	0	0	5	5	5	2,5	4,38	0	2,19	Dilution efficace : À l'extérieur	
9	3,89E+06	5	4	4,5	5	0,5	2,5	3,1	4,5	3,8	Dilution inefficace	
11	3,19E+05	4,5	3,5	4,5	5	3,5	5	4,5	4,0	4,3	Dilution inefficace	
Moyenne des procédés	1,41E+06	3,17	2,50	4,67	5,00	3,00	3,33	4,00	2,83	3,42		

Figure C.8 Concentrations des *bactéries totales* et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les vis d'Archimède échantillonnés dans les différentes stations

Procédé	Filtre presse à boues										Explication
	Station	Bactéries totales	Configuration spatiale	Ventilation	Vapeur/Microgouttelettes	Brassage/Mélange	Aération	Chute (d'eau ou de déchets)	Aérosolisation	Dilution	Potentiel d'exposition
5	1,08E+06	3,5	3,5	5	2	0	1	2,0	3,5	2,8	Dilution inefficace
7	9,27E+04	2	2	2	0,5	0,5	3	1,5	2	1,75	Dilution efficace
10	1,01E+06	3	2	0	0,5	1	5	1,63	2,5	2,06	Dilution inefficace
12	0,00E+00	2,5	3	4	1,5	0	2	1,88	2,75	2,31	Dilution efficace
14	1,70E+03	3	4	0	0	0	0	0,0	3,5	1,8	Dilution efficace/Procédé fermé
15	6,96E+05	2	4	3	2	1	5	2,8	3,0	2,9	
Moyenne des procédés	4,81E+05	2,67	3,08	2,33	1,08	0,42	2,67	1,63	2,88	2,25	

Figure C.9 Concentrations des *bactéries totales* et évaluation des facteurs d'aérosolisation et de dilution pour les filtres presses à boues échantillonnés dans les différentes stations