

Effets des bioaérosols des porcheries sur la santé respiratoire des travailleurs et sur la qualité microbiologique de l'air en périphérie des bâtiments

Introduction

L'accroissement de la production porcine et la structure du marché (prix, mondialisation) ont provoqué une augmentation du nombre de porcs par bâtiment d'élevage. Cette augmentation du cheptel par bâtiment a occasionné un accroissement de la surface des porcheries ainsi qu'un changement majeur dans le nombre et le type de travailleurs. La modification des modes de production a entraîné une augmentation du temps d'exposition des travailleurs à l'ambiance polluée des bâtiments. De nombreuses études ont démontré une contamination importante de l'air des porcheries par les bioaérosols (Donham, *Am J Vet Res* 52: 1723, 1991; Duchaine *et al.*, *Am Ind Hyg Assoc J* 61:56, 2000). Les bactéries, les endotoxines et les poussières sont les composantes des bioaérosols majoritaires dans ce type de bâtiment (Duchaine *et al.*, *Am Ind Hyg Assoc J* 61:56, 2000). La modification des modes de production a entraîné une augmentation du temps d'exposition des travailleurs à l'ambiance polluée des bâtiments. Outre les symptômes respiratoires, l'exposition des travailleurs aux porcheries semble induire un mécanisme d'adaptation. En effet, nous avons démontré que les sujets volontaires naïfs qui étaient exposés à ce milieu avaient une réaction inflammatoire beaucoup plus intense que celle des travailleurs s'y étant habitués (Israël-Assayag *et al.*, *Eur Respir J* 19: 833, 2002). Un mécanisme d'adaptation semble moduler la réactivité des travailleurs les rendant moins susceptibles à cet environnement après plusieurs jours de contact. La nature exacte des contaminants induisant l'adaptation n'est pas connue mais les bactéries, la poussière, les gaz et les endotoxines pourraient avoir un rôle à jouer.

Les études environnementales effectuées dans les porcheries ont permis de quantifier les poussières, les endotoxines et les gaz. Les méthodes utilisées dans ces études variaient beaucoup et le recouvrement des bactéries et moisissures n'a été fait que par culture sur milieu nutritif. Il est maintenant bien reconnu que la culture sur milieu nutritif sous-estime la biodiversité des microorganismes présents dans un milieu, surtout dans un contexte où celles-ci sont aérosolisées. De plus, les caractéristiques et la quantité de microorganismes présents dans l'air à la sortie des ventilateurs n'ont pas été véritablement mesurées sous les conditions québécoises. De surcroît, l'impact réel de la contamination microbienne provenant de l'air des porcheries sur l'environnement avoisinant n'est pas bien connu.

Le projet visait d'une part à mesurer l'adaptation des travailleurs à leur environnement et à déterminer les conditions qui contribuent à cette adaptation, et d'autre part à caractériser les gaz et les microbes des bioaérosols produits dans les porcheries et libérés dans l'environnement afin d'évaluer les effets des porcheries sur la qualité de l'air avoisinant les bâtiments.

Objectifs

O1 : Étudier l'adaptation des travailleurs de porcheries à leur environnement de travail

- Étudier la réponse immunitaire (formule sanguine, CRP, SL sélectines, IL-6, TNF- α , LBP, BPI, IL-8), l'expression de gènes liés à la réponse immunitaire (PAR2, GR- α , p38 MAPK, GPI-80, IL-8, LFA-1, GlyCAM-1, IL-6, TNF- α , IL-10, IL-12, TLR-4, LBP, BPI) et la réponse respiratoire (fonctions respiratoires) à l'environnement agricole pendant une journée de travail, Étudier la réponse immunitaire des poumons en analysant le condensât de l'air expiré (IL-1 β , IL-6, IL-8).

- Comparer la réponse des travailleurs entre une journée de travail régulière pendant la période hivernale (exposition maximale), la période estivale (exposition minimale) et après un arrêt d'exposition pendant au moins 4 jours (congé ou part de masque respiratoire).
- Corréler la réponse immunitaire et respiratoire avec les niveaux d'exposition.
- Étudier la flore bactérienne des voies nasales des travailleurs de porcheries.

O2 : Étudier de façon exhaustive, les bioaérosols dans les porcheries

- Caractériser de façon la plus exhaustive possible les bioaérosols de l'environnement de travail en parallèle avec l'étude des travailleurs : poussières inhalables, poussières totales, granulométrie, compte direct des particules, endotoxines, gaz et bactéries cultivables et biodiversité bactérienne.
- Caractériser, lors de cette étude des travailleurs, la biodiversité microbienne sur les surfaces internes des bâtiments et des composantes des systèmes de ventilation.

O3 : Étudier l'effet de la présence des porcheries sur la qualité microbiologique de l'air dans les régions avoisinantes

- Caractériser de façon la plus exhaustive possible les émissions (gaz, bioaérosols, particules, etc) à la sortie du système de ventilation des porcheries étudiées;
- Étudier l'effet de la présence des porcheries sur la qualité microbiologique de l'air en périphéries des bâtiments d'élevage porcins.

Méthode

Nous avons recruté 28 travailleurs (4 ont été rejetés de l'étude comme fumeur ou asthmatique) travaillant dans 18 fermes (sur 19 fermes visitées), la plupart en engraissement sur lattes. Les travailleurs ont été investigués à deux reprises l'hiver (confinement maximum), une fois pour établir le niveau de base et une autre fois après port du masque (retrait), les tests étant faits avant entrée au travail et après la journée de travail. Ce protocole permet de répondre aux hypothèses de travail qui estiment que les travailleurs s'adaptent à leur environnement mais qu'ils perdent cette adaptation après un retrait du travail (port du masque pendant 5 jours). Ce changement dans la réponse immunitaire serait indépendant de la nature ou du niveau d'exposition. Une troisième visite dans les mêmes fermes, avec les mêmes travailleurs a également été effectuée en été pour répondre aux objectifs d'un projet complémentaire (INSPQ) dont les résultats de santé ne seront pas abordés dans ce rapport.

Ce rapport ne présentera que les résultats principaux du projet. L'ensemble des données sera présenté dans les articles scientifiques et pourra être fourni dès leur acceptation pour publication. Les parties ombrées du présent rapport correspondent aux données du projet complémentaire INSPQ (données environnementales seulement).

Objectif 1 : Adaptation des travailleurs

Pour vérifier cette adaptation, nous avons effectué des tests de fonctions respiratoires comme capacité vitale forcée (CVF), vitesse d'expiration maximale/seconde (VEMS), VEMS/CVF, débit expiratoire de pointe, débit expiratoire lorsque 25, 50 ou 75% de la capacité vitale a été expiré, débit expiratoire maximal médian (DEMM). Nous avons étudié la réponse immunitaire en analysant la formule sanguine, la concentration plasmatique de la protéine réactive C (CRP), la SL sélectine, IL-6, IL-8, TNF- α . le récepteur II de TNF- α .. La concentration plasmatique du lipopolysaccharide binding protein (LBP), du bactericidal/permeability-increasing protein (BPI), CD14 ont également servi à étudier la réponse immunitaire. Tous ces facteurs (shift change)

Caroline Duchaine

ainsi que l'acidité des condensats d'air expiré ont été mesurés en période de travail normal durant l'hiver et après retrait (port du masque) toujours en hiver qui est la période de confinement maximal dans les porcheries.

- Comparaison santé des travailleurs en période de travail normal et après retrait

Après le port du masque, la fonction respiratoire s'est détériorée pendant la journée de travail (le VEMS a chuté de 2,5% et la CVF de 3,1%). Cette détérioration durant la journée ne s'observe pas durant la période de travail normal. Statistiquement cette différence entre les deux visites était significative (VEMS: $p = 0.049$; CVF: $p = 0.01$). Néanmoins, aucune différence n'a été observée ni pendant la journée de travail ni entre les deux visites dans le débit expiratoire pointe, le ratio VEMS/CVF ou d'autres mesures de la fonction respiratoire. De même il n'y avait pas de différences dans l'acidité du condensat de l'air expiré.

La réponse immunitaire étudiée dans le sang était différente entre les deux visites. En particulier, il y avait une augmentation plus importante du nombre de leucocytes sanguins pendant la journée de travail après le retrait (de $5,56$ à $7,14 \cdot 10^9/L$) comparé avec la période de travail ordinaire (de $5,80$ à $6,88 \cdot 10^9/L$) ($p = 0,008$). Toutefois, l'augmentation observée des neutrophiles sanguins ($3,17$ à $4,56 \cdot 10^9/L$ après la période de retrait comparé avec $3,28$ à $4,31 \cdot 10^9/L$ après la période de travail ordinaire) n'est pas significative ($p = 0,09$). La concentration plasmatique du récepteur II de Tumor Necrosis Factor alpha ($TNF\alpha$) diminuait pendant les deux visites ($p < 0,0001$) et la concentration $TNF\alpha$ avait tendance à diminuer aussi ($p = 0,09$) indépendamment de la visite. En revanche, la concentration plasmatique de l'interleukine 6 (IL-6) augmentait non seulement pendant la journée de travail, mais elle avait aussi tendance à croître d'une manière différente entre les deux visites : de $0,89$ à $1,58$ pg/mL après la période de retrait et de $0,87$ à $1,23$ pg/mL ($p = 0,06$) après la période de travail ordinaire. La concentration plasmatique de sL-sélectine changeait peu pendant une journée de travail. Cependant une différence entre les deux visites ($p = 0,003$) indique une tendance du sL-sélectine à diminuer après la période de retrait et une tendance à augmenter après la période de travail ordinaire. Après retrait, la concentration plasmatique du bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) a diminué passant de $48,8$ ng/mL à $17,8$ ng/mL ($p = 0,015$), tandis que le niveau était plus bas le matin ($p=0,0016$) et ne changeait pas lors du travail en conditions normales. Les concentrations plasmatiques de la protéine réactive C (CRP) et du lipopolysaccharide binding protein (LBP) ne changeaient pas, ni pendant la journée ni en fonction de la visite. Tous les autres paramètres étudiés n'étaient pas différents les matins de deux visites.

- Influence de l'environnement sur l'adaptation

Afin de s'assurer que les différences de réponses observées n'étaient pas dues à des changements fortuits dans l'exposition des travailleurs, nous avons introduit les données environnementales dans les modèles statistiques et vérifié leur effet sur les paramètres de santé. Les endotoxines, poussières respirables, gaz et autres données environnementales ont très peu d'effets sur les paramètres de santé. Le seul facteur qui aurait une légère influence serait les concentrations d'endotoxines qui ont eu tendance à jouer sur le DEMM_pendant une journée de travail ordinaire ($P=0,045$) et le nombre de leucocytes sanguins qui semblait augmenter moins pendant une journée de travail après retrait quand les concentrations d'endotoxines étaient élevées que quand elles étaient basses. On observait l'effet inverse pendant une journée de travail après la période de travail ordinaire ($p = 0,055$). Cependant, le nombre de jours avec échantillonnage d'endotoxines était trop limité pour étudier ces effets en détail.

En résumé nous avons confirmé qu'il y a des réactions respiratoires ainsi que des réactions inflammatoires systémiques liées à une journée de travail dans une porcherie même pour les travailleurs habitués à ce travail. Des variations dans les concentrations de BPI et du récepteur II de TNF ont été démontrées chez les travailleurs des porcheries alors que ces effets n'ont jamais été décrits dans la littérature. Il y avait peu de différence le matin dans les paramètres étudiés, mais plusieurs paramètres évoluaient différemment pendant une journée de travail après une période de retrait comparé à la période de travail ordinaire. Ces différences,

indiquées par des interactions entre visite et temps dans nos modèles statistiques penchaient en faveur d'une fonction respiratoire détériorée et une inflammation augmentée à l'exposition au travail après le port d'un masque. Cela indique donc qu'après 5 jours de retrait du travail (port de masque), les travailleurs étaient plus vulnérables aux effets des bioaérosols dans les porcheries et qu'ils réagissaient plus fortement à l'exposition.

Objectif 2 : Etude des bioaérosols dans l'environnement des travailleurs

L'environnement des 19 entreprises a été étudié deux fois en hiver et une fois en été en poste fixe en parallèle avec l'investigation des travailleurs en mesurant les comptes totaux de bactéries par qPCR, les poussières totales et les gaz. Les résultats des 2 hivers sont présentés dans les figures 1 et 2. Aucune différence significative n'a été observée entre les 2 visites d'hiver (niveau de base et post-masque) que ce soit pour les bactéries totales quantifiées par qPCR (moyennes = $1,27 \times 10^8$ et $2,37 \times 10^8$ bactéries/m³ respectivement), les poussières totales (2,09 et 2,03 mg/m³). Les concentrations de CO₂ (respectivement 2835 et 2623ppm) et NH₃ (16,4 et 14,3ppm) ne démontrent pas de différence significative ainsi que les températures moyennes (19 et 18,5°C) et l'humidité relative (67,5% et 65%).

Sur 10 fermes, des analyses additionnelles ont été faites tels les comptes totaux de bactéries cultivables (moyenne $2,03 \times 10^5$ UFC/m³), les endotoxines ($2,56 \times 10^4$ EU/m³) et les poussières inhalables (3,62 mg/m³). Les moisissures mésophiles (principalement *Scopulariopsis* sp.), thermotolérantes, et les bactéries thermotolérantes se retrouvent en quantité négligeable dans l'air avec des valeurs moyennes de 1000, 28 et 5 UFC/m³ respectivement.

À la lumière de ces résultats, les trois visites réalisées permettent de constater que, plus l'humidité relative (HR) est élevée, moins il y a de poussière totale dans l'air ($p=0,0014$) et de bactéries totales quantifiées par qPCR ($p=0,002$). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les bactéries sont collées aux particules de poussières qui sédimentent davantage en HR élevée et ne se retrouvent pas dans l'air. De la même façon, les poussières totales diminuent lorsque la température augmente ($p=0,0045$), ceci étant expliqué par le fait que lorsqu'il fait plus chaud, les porcs bougeraient moins et relâcheraient moins de poussière dans l'air. Par ailleurs, les bactéries cultivables augmentent en fonction de la poussière totale ($p=0,0468$) et la poussière inhalable en fonction de la poussière totale ($p=0,026$). Aucune corrélation n'a été observée entre les concentrations de CO₂, la poussière totale et la densité de porcs/m². Étonnamment, les concentrations de NH₃ ne corrélaient pas davantage avec le type d'installation (<ou= 50% lattée et > 50% lattée).

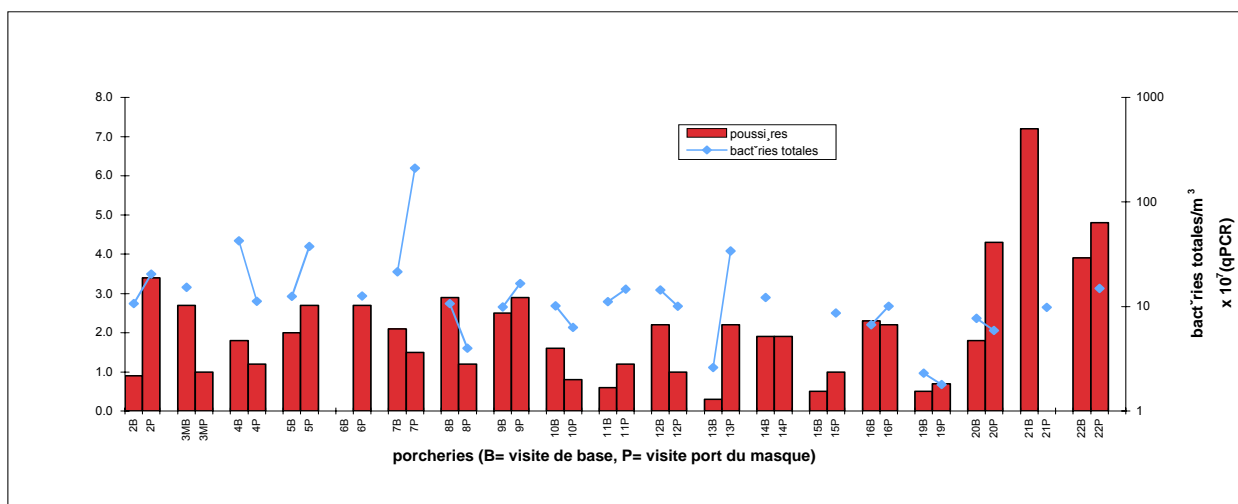


Figure 1 : concentration bactéries totales par qPCR et poussières totales durant l'hiver

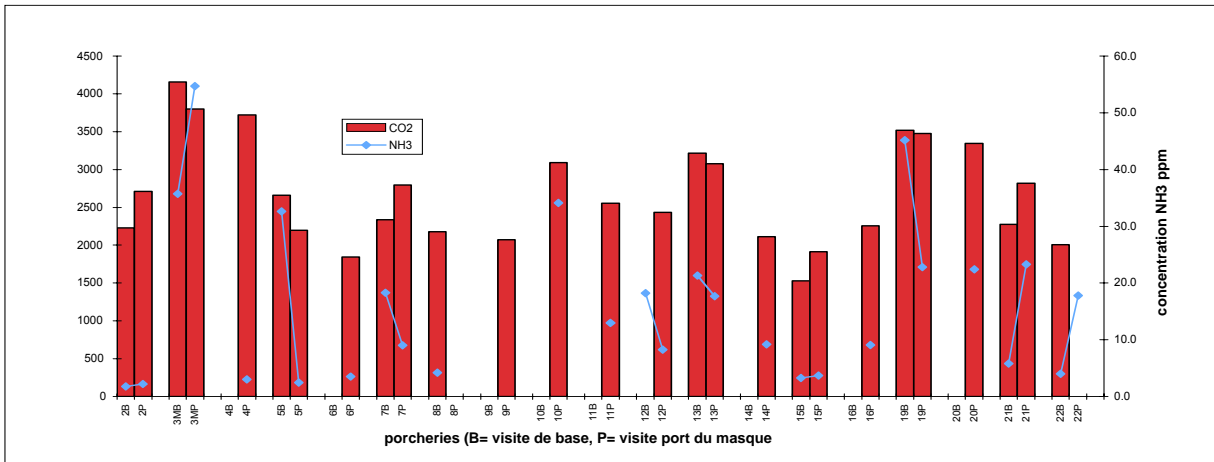


Figure 2: concentrations de CO2 et NH3 durant l'hiver

Si l'environnement des deux hivers est relativement constant, par contre les différences entre l'hiver et l'été sont statistiquement différentes pour les poussières totales avec des valeurs moyennes hiver/été respectivement de 2,09 et 0,97mg/m³ (p=0,0059), pour les bactéries totales quantifiées par qPCR (1,27x10⁸ et 0,68x10⁸ bactéries/m³ avec p=0,004) les concentrations de CO₂ dans l'air (2835 et 926ppm p<0,0001) et la température (19,1 et 24,7 avec p<0,0001). Par contre on n'observe aucune différence significative pour le NH₃ (16,4 et 11,2ppm) et l'humidité relative (67,5 et 72,8%).

Les analyses par gels dénaturants (DGGE) et séquençage autant l'hiver que l'été permettent d'observer une grande similitude entre chaque site visité. La similitude des profils demeure la même lorsque l'on compare la saison hivernale et la période estivale. L'analyse par séquençage a permis de mettre en évidence une population majoritaire appartenant à la classe des Clostridia. Par ailleurs, l'utilisation d'amorces PCR spécifiques au domaine des archaebactéries a permis de mettre en évidence l'existence de ces bactéries dans des bioaérosols la présence de celles-ci n'ayant jamais été décrites dans la littérature. L'analyse par séquençage des bandes majoritaires montre qu'il s'agit d'archaebactéries méthanogènes (analyse en périodes hivernales). Cette étude a donc permis de décrire la biodiversité bactérienne des bioaérosols des porcheries par biologie moléculaire et nous avons démontré la faisabilité de telles analyses, ce qui n'a jamais été décrit dans la littérature.

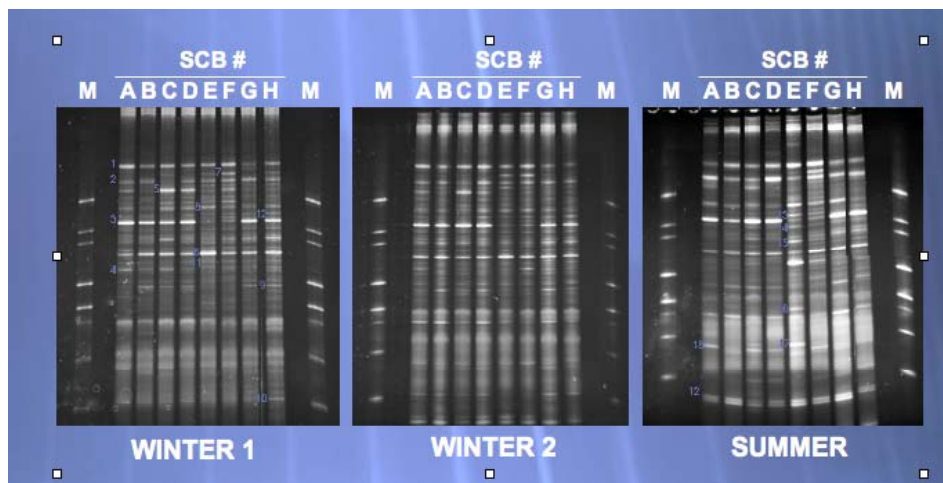


Figure 3: Profils DGGE de l'ADNr16S bactérien extrait des bioaérosols de 8 porcheries (A,B,C,D,E,F,G,H) durant deux hivers et un été. M= contrôle de migration de standard d'ADN (reproduit de Némé et al., 2008)

Objectif 3 : Étude de la présence des porcheries sur la qualité microbiologique de l'air dans les régions avoisinantes

Les contaminants biologiques et les gaz ont été analysés à la sortie du système de ventilation ainsi qu'à la périphérie des bâtiments

- Analyse des gaz en fonction de la distance et de la nature des bâtiments et de la saison

Les trois paramètres dont l'effet a été évalué dans cette section sont la distance, la saison et le pourcentage de lattes des planchers des bâtiments. Les échantillons de gaz ont été prélevés à l'aide d'une pompe sèche, de tubes de Teflon et de sacs fait de Tedlar® insensible aux gaz. Les échantillons de gaz ont été recueillis à des distances (0, 1, 3, 10 et plus de 50 m) mesurées perpendiculairement à partir d'un des ventilateurs de chacun des bâtiments visités. Les échantillons ont été analysés dans les 24 heures suivantes en utilisant un chromatographe en phase gazeuse pour le CH₄, le CO₂ et le N₂O, un analyseur utilisant la spectroscopie NDIR pour le NH₃ et un senseur électrochimique pour le H₂S.

Les concentrations de NH₃ mesurées à la sortie des ventilateurs sont similaires à celles retrouvées dans la littérature. Les valeurs moyennes obtenues pour l'hiver et l'été sont respectivement de 20,9 et 1,9 ppm. Cependant, vu le faible nombre de sites visités et la grande variabilité de la mesure, seulement une forte tendance ($p=0,0547$) a pu être observée permettant de différencier les deux valeurs. En été, les concentrations mesurées à plus de 3 m du bâtiment sont toutes sous la barre de 1 ppm et ne sont pas significativement différentes ($p=0,0771$) de celle de plus de 50 m. En hiver, les différences significatives avec la valeur à 50 m ne sont plus observables dès que l'on dépasse 1 m. Aucune influence sur les concentrations ne peut être attribuable au type de plancher des bâtiments.

Les concentrations de CO₂ mesurées ont été influencées à la fois par la saison et la distance des bâtiments. En hiver, la concentration de CO₂ à la sortie des ventilateurs a été de 3054 ppm alors qu'elle a été de 745 ppm en été. Ces deux valeurs sont significativement différentes ($p<0,0001$). En été, la concentration mesurée à plus de 50 m des bâtiments a été de 347 ppm alors qu'elle a été de 387 ppm en hiver, ce qui correspond à des concentrations typiques pour l'air ambiant. De plus, il n'y a pas de différence significative ($p>0,05$) entre la valeur mesurée à plus de 50 m et les valeurs lues à 10 m lors des deux saisons de mesure. Enfin, aucune différence n'est attribuable au pourcentage de surface latté du plancher.

Les concentrations de N₂O à la sortie des ventilateurs sont significativement plus élevées en hiver par rapport à l'été ($p=0,0014$). Les valeurs mesurées sont respectivement de 0,45 et 0,37 ppm. En hiver, la concentration décroît sur une distance de 1 m. Au-delà de cette distance, les différences ne sont plus significatives et les valeurs obtenues sont équivalentes à celles mesurées à plus de 50 m du bâtiment (0,37 ppm). Cependant, il en est autrement en été où il n'y a aucune différence significative entre les différentes distances à partir du ventilateur. Les valeurs s'étendent de 0,37 ppm au ventilateur à 0,36 ppm à plus de 50 m. La concentration de N₂O dans l'air ambiant se situe entre 0,3 et 0,4 ppm.

Dans le cas du CH₄, plusieurs facteurs influencent la concentration. En effet, la saison ($p=0,0084$), la distance du bâtiment ($p<0,0001$) et la proportion de plancher latté ($p=0,0002$) font varier la concentration de CH₄. À la sortie des ventilateurs, lors de la période d'hiver, la concentration était de 24,0 ppm alors qu'elle était de 6,6 ppm en été. De plus, sans égard à la saison, cette concentration était plus élevée chez les bâtiments ayant un haut pourcentage de plancher latté (21,5 vs 7,4 ppm). Enfin, Il fut observé que la concentration en période estivale à plus de 10 m du bâtiment n'est plus significativement différente ($p=0,1587$) de celle à plus de 50 m. En hiver, c'est à partir de 3 m que le même phénomène est observé.

Les valeurs obtenues lors de la mesure du H₂S sont toutes situées sous la limite de détection de l'appareil. Il est donc difficile de tirer des conclusions à partir de ces données. L'évaluation des émissions de gaz nécessite la mesure des débits de ventilation. Dû à différentes contraintes telles par exemple les règles de biosécurité applicables dans les bâtiments, la mesure des débits n'a pu être faite. Une estimation des débits de ventilation a été effectuée à partir des mesures de concentration de CO₂ et de la production de chaleur théorique des porcs. Les émissions estimées à partir de ces débits sont similaires à celles rapportées lors d'études précédentes. Les émissions moyennes en hiver pour le NH₃, N₂O, CH₄, sont respectivement de 83,9, 0,81 et 128,5 mg/j/kgporc,. En été, les valeurs pour les mêmes gaz sont plutôt de 54,5, 1,0 et 89,0 mg/j/kgporc. Les émissions de CO₂ sont de 24,3 g/j/kgporc en hiver et en été.

À cause de la dilution des vents, les contaminants gazeux à quelques mètres des bâtiments, présentent donc des concentrations similaires à celles retrouvées à plusieurs dizaines de mètres des bâtiments. Par contre, la turbulence de l'air associée aux vents présents limite la portée des mesures effectuées.

- Évaluation de la diversité microbienne dans 5 porcheries

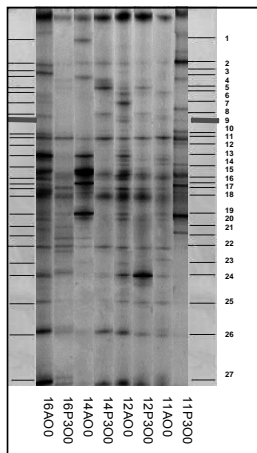
Les émissions d'air à 1 m de deux des ventilateurs ont été captées l'été et l'hiver par impaction passive sur deux plaques/ventilateur pendant des périodes moyennes de 4 h. Les bioaérosols captés sur une surface de 115 cm² ont été recueillis et les ADN totaux extraits. La diversité des profils PCR-DGGE des archéobactéries, des eubactéries et des moisissures a été comparée à celle de l'air intérieur capté dans les mêmes conditions.

L'analyse PCR nichée-DGGE révèle une très grande similitude des profils des archaebactéries, composés de 15 bandes (dont 1 dominante et 2 majeures), autant au niveau intra-bâtiment (air extérieur versus air intérieur), qu'au niveau inter-bâtiments, peu importent les saisons. Les produits PCR du gène 16S rDNA des ADN totaux issus de chaque bâtiment ont été clônés et séquencés. L'analyse des profils PCR-DGGE des clones séquencés indique que la bande dominante (31% des clones) est identifiée au genre *Methanosphaera* spp..

L'analyse par gel DGGE de la diversité des profils des bioaérosols fongiques, révèle un nombre total moyen de bandes variant selon le ratio (intérieur/extérieur) de 8.6 / 11.2 en été, et de 7.6 / 10 en hiver. Les bandes des profils DGGE de l'air intérieur sont majoritairement incluses dans les profils de l'air extérieur d'un même bâtiment. En été, les communautés de moisissures et levures des bioaérosols intérieurs sont plus homologues (88% à 75%), tandis que celles des bioaérosols des émissions sont très variées (85% à 34%). En hiver, les profils de l'air intérieur ne sont plus aussi homologues entre les bâtiments, et dans chaque bâtiment, les profils de l'air intérieur sont très homologues à ceux des émissions. Le nombre plus élevé de ventilateurs à pleine capacité et une ventilation accrue des surfaces intérieures des bâtiments homogénéiseraient mieux les bioaérosols moisissures et levures dans l'air intérieur mais accroîtraient la diversité des émissions inter-ventilateurs et inter-bâtiments. La plus faible extraction d'air des bâtiments durant l'hiver, favoriserait l'homogénéisation des communautés des bioaérosols moisissures et levures intérieurs et extérieurs. Les produits PCR 18S rDNA clônés et séquencés associent 3 genres de moisissures et levures, dont *Debaryomyces* à un bâtiment récent (100% latté avec gestion du lisier avec gratte), et, 6 genres dont *Aspergillus*, *Candida*, *Pichia* à un bâtiment plus vieux (33% latté avec gestion du lisier par siphon).

L'analyse PCR-DGGE révèle la diversité et la plus grande complexité des profils des eubactéries. La diversité bactérienne des émissions s'accroît entre autres facteurs avec l'âge du bâtiment, la baisse du pourcentage de lattes et la plus longue rétention du lisier sous les lattes. Les bandes des profils de l'air intérieur sont incluses dans les profils des émissions d'un même bâtiment. Des espèces bactériennes sont davantage liées aux bioaérosols émis, car le ratio moyen des bandes majeures (intérieur/extérieur) était de 2/9 en été et de 1/8 en hiver. La figure 4 illustre les profils DGGE types des bioaérosols émis de 4 bâtiments l'été (P3) et l'hiver (A). Le tableau résume la répartition des bandes totales en fonction des saisons et des bâtiments, ainsi

que le nombre de clones isolés par bande, le nombre de clones séquencés et la fréquence de l'identification obtenue pour le genre bactérien.



Analyse des bandes				Fréquence des clones et séquençage					
COMMUNES	HIVER	ÉTÉ	SP. CIRCULÉS	*1	*2	*3	GENRE 1	AERO	ANA
1			11P3 14 A 16A	0					
2	2		TOUS BAT	0					
3		3	16A	0					
4		4	BAT ÉTÉ	0					
5		5	BAT ÉTÉ	0					
6		6	11A 12A	0					
7		7	12A 16A	7	4	3	Uncultured bact		
8	8		TOUS BAT	5	3	1	Moraxella	B-	
9		9	11P3 12A	2	1	1	Acinebacter	B-	
10			11P3 16A	3	1	1	Acinebacter	B-	
11	11		TOUS BAT	17	7	3	Acinebacter	B-	
12		12	11P3	0					
13		13	BAT HIVER	10	7	3	Acinebacter	B-	
14			11 12	8	6	6	Marinosprillum	*	*
15	15		TOUS BAT	27	6	4	Acinebacter	B-	
16			11P3 12A 16A	6	1	1	Uncultured bact		
17	17		TOUS BAT	9	5	4	Acinebacter	B-	
18	18		TOUS BAT	9	5	4	Acinebacter	B-	
19			11 12A 14A 16	17	8	6	Bacteroidetes		B-
20			11P3 14A 16	2	2	1	Bacillus	B+	B+
21			12A 14A 16P3	12	3	3	Clostridium		B+
22	22		TOUS BAT	5	2	2	Acinebacter	B-	
23			11A 12A 14A	0					
24	24		TOUS BAT	8	3	1	Uncultured bact		
25	25		TOUS BAT	3	3	1	Sphingomonas	B-	
26	26		TOUS BAT	21	8	4	Clostridium		B+
27	27		TOUS BAT	75	11	10	Uncultured bact		

Conclusions générales

La conclusion la plus importante de ce projet de recherche est sans contredit que les travailleurs des porcheries s'adaptent à leur milieu de travail et ne perdent que partiellement cette adaptation après le port du masque. Cette légère perte de l'adaptation s'exprime par une diminution des fonctions respiratoires, une baisse de pH dans le condensat de l'air expiré, les facteurs d'inflammation (IL-6, TNF α) démontrant seulement une tendance à être différents. Il faut être conscient que le port de masque ne mime que partiellement le retrait complet du milieu de travail et qu'il nous est très difficile de confirmer que les sujets volontaires ont porté le masque sans interruption et en suivant rigoureusement toutes les recommandations. Cette diminution significative de l'exposition a permis de vérifier et confirmer l'hypothèse de départ. Il est fort probable que les résultats auraient été encore plus probants si les travailleurs avaient pu être retirés complètement de leur milieu de travail durant 5 jours (impossible dans le milieu porcin). Cette étude a également permis une caractérisation exhaustive des bioaérosols dans les porcheries en utilisant et appliquant des méthodes jamais utilisées dans ce type d'environnement (DGGE et clonage). Nous avons démontré que l'environnement des travailleurs est constant en période hivernale (endotoxines, poussières, concentration de bactéries, concentration de gaz,) par contre, ces paramètres sont significativement plus faibles en été. L'analyse de la biodiversité a permis de mettre en évidence la présence d'archaebactéries, de très faibles quantités de moisissures et de bactéries de la classe des *Clostridia*. Finalement, l'étude de la biodiversité des émanations extérieures a, quant à elle, démontré que les populations bactériennes et fongiques extérieures étaient comparables à celles retrouvées à l'intérieur. Puisque les méthodes d'échantillonnage utilisées pour cette partie (intérieur/extérieur) étaient différentes des méthodes utilisées pour la caractérisation de l'environnement des travailleurs, il est très difficile de comparer les résultats obtenus dans ces 2 portions de l'étude. Les émissions de gaz à l'extérieur des bâtiments se retrouvent, dans le pire des cas, à moins de 10 m de celui-ci et cette distance est fonction de la saison et de la nature du gaz. Au delà de cette distance les concentrations sont soit non détectables soit semblables à celles que l'on retrouve dans l'air ambiant normal.