

# IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION DES BIOAÉROSOLS ET DES GÈNES DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES ÉMIS PAR DES BASSINS EXTÉRIEURS DE TRAITEMENT DES EAUX USÉES.

A. Bélanger Cayouette<sup>\*1,2</sup>, P. B.L. George<sup>1,3,4</sup>, N. Turgeon<sup>1</sup>, M. Veillette<sup>1</sup>, C. Duchaine<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>IUCPQ, Québec Canada

<sup>2</sup>Département de biochimie, microbiologie et bio-informatique, Université Laval, Québec, Canada

<sup>3</sup>Département de médecine moléculaire, Faculté de médecine, Université Laval, Québec, Canada

<sup>4</sup> Centre de recherche en données massives, Université Laval, Québec, Canada

\*Courriel de l'orateur : [amelia.belanger-cayouette.1@ulaval.ca](mailto:amelia.belanger-cayouette.1@ulaval.ca)

## TITLE

Identification and Quantification of Bioaerosols and Antibiotic Resistance Genes Emitted by Wastewater Treatment Ponds.

## RÉSUMÉ

Les usines de traitements des eaux (UTE) sont une source de bioaérosols pouvant contenir des gènes de résistance aux antibiotiques (GRA) pouvant être émis lors des traitements extérieurs. De l'air autour de trois types de bassins d'UTE a été prélevé afin de quantifier et d'identifier les bactéries totales et les GRA dans ces bioaérosols. Les données météo ont été collectées. Une plus grande concentration de bactéries totales a été retrouvée en aval des bassins comparativement à en amont et au centre. Les bassins de boues activées semblent émettre plus de bactéries totales que ceux d'eau aérée. Les résultats préliminaires n'ont pas démontré d'émission significative de GRA. D'autres cibles de GRA seront analysées.

## ABSTRACT

Wastewater treatment plants (WTP) are a bioaerosols source which may contain antibiotics resistance genes (ARG) which can be emitted during outside treatments. Air around three types of WTP ponds was collected in order to quantify total bacteria and ARGs in these bioaerosol. Weather data has been collected. A greater concentration of total bacteria was found downstream of the ponds compared to upstream and nearby. Activated sludge ponds seem to emit more total bacteria than aerated water ponds. Preliminary results did not demonstrate any significant release of ARG. Other ARG targets will be analyzed.

MOTS-CLÉS : Bioaérosols, Résistances aux antibiotiques, Eaux usées / KEYWORDS : Bioaerosols, Antimicrobial resistance, Wastewater treatments

## INTRODUCTION

Les usines d'épuration des eaux usées sont des sites potentiellement émetteurs de bioaérosols dans l'air extérieur et il a été démontré qu'elles sont une importante source de gènes de résistance aux antibiotiques (GRA) (Gaviria-Figueroa et al., 2019). Cependant, l'air entourant les bassins de traitement d'eaux usées a été peu étudié et les bioaérosols émis lors des traitements ont le potentiel de propager des gènes de résistances aux antibiotiques sur de très longues distances. Ce projet a comme objectif d'identifier et de quantifier les bioaérosols bactériens ainsi que les GRA émis dans l'air extérieur par deux types de traitement des eaux usées, soit des bassins de boues activées et des bassins d'aération d'eaux usées.

## MÉTHODE

Une usine d'épuration comprenant des bassins extérieurs de boues activées (ville 1) de même que deux centres de traitement des eaux composés seulement de bassins aérés d'eaux usées (villes 2 et 3) ont été sélectionnés pour l'étude. Les échantillonnages ont été effectués trois jours différents pour chaque ville et à divers sites (amont, centre des bassins et à 15-20m en aval des bassins, en fonction de la direction des vents). Les données météo ont été prélevées (température, humidité, direction et vitesse des vents). Des échantillons de 20m<sup>3</sup> d'air ont été prélevés avec un SASS 3100 Dry Air Sampler et la position des échantillonneurs était ajustée chaque jour

d'échantillonnage selon la direction des vents et la configuration des sites. Suite à l'échantillonnage, l'ADN des échantillons a été extrait à l'aide du *DNeasy PowerSoil Kit* de QUIAGEN (Qiagen, 2016). Les bactéries totales ont été quantifiées par amplification PCR (gène de l'ARNr16S à la position 799 à 1063pb) (Bach et al., 2002). Des réactions PCR quantitatives ont aussi été faites pour 19 gènes de résistances aux antibiotiques (tet32, tetA, tetL, tetO, tetQ, tetS, tetW, tetX, vanB, vanRA, vanSA, ermF, ermT, ermX, aac(6)-II, blaCMY2, blaGES, blaVEB, tnpA) sur chaque échantillon (Stedtfeld et al., 2018). Des ratios GRA/16S ont été calculés afin de pouvoir comparer l'abondance relative des GRA par rapport aux bactéries totales.

## RÉSULTATS/DISCUSSION

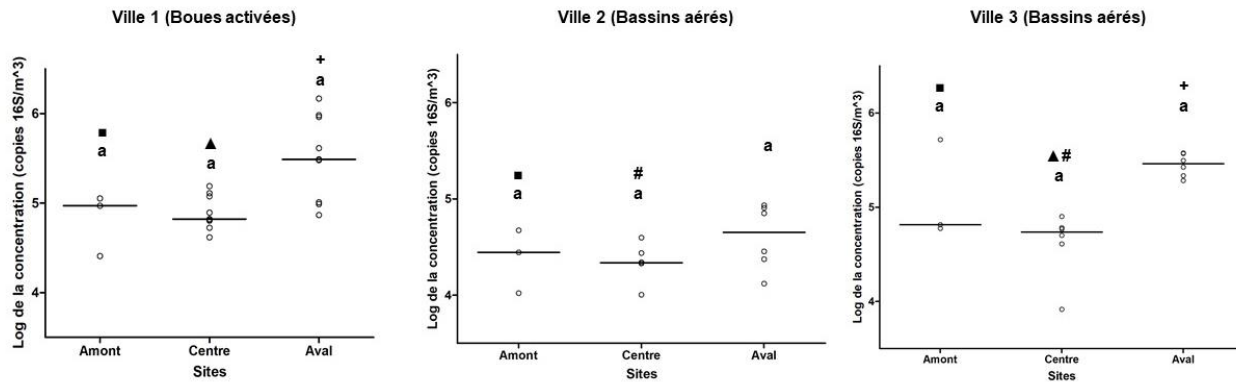


Figure 1 : Concentration de bactéries totales par quantification du gène de l'ARNr16S dans l'air selon les villes et sites échantillonnés. Les sites amont ont été prélevés n=1 pour chacune des 3 visites, et les sites au centre et aval ont été prélevés n=2 ou n=3, pour chacune des 3 visites. La vitesse des vents variait de 0,6 à 4,8m/s pour la ville 1, de 0,9 à 3,5 m/s pour la ville 2 et de 0,0 à 2,4m/s pour la ville 3. Les lettres comparent les sites pour une même ville. Les symboles comparent les mêmes sites dans les différentes villes.

Pour les trois villes, une plus grande concentration de bactérie est retrouvée à 15-20 m en aval des bassins en comparaison au centre du site où se trouvent ces derniers (Figure 1). Une distance de 15-20 m en aval des bassins semble ainsi permettre une meilleure détection des émissions combinées de ces bassins par rapport au centre des bassins. En effet, pour les villes 1 et 3, une différence significative ( $P < 0,01$ ) entre les concentrations de bactéries totales retrouvées en aval et au centre des bassins a été observée. Les concentrations de bactéries totales sont plus élevées en aval des bassins de boues activées (ville 1) qu'en aval des bassins aérés de la ville 2 ( $P < 0,01$ ). En revanche, ils ne sont pas différents de ceux de la ville 3 ( $P > 0,05$ ). Ceci pourrait être expliqué par la vitesse des vents puisque qu'elle est très faible pour la ville 3, diminuant conséquemment la dilution rapide des bioaérosols dans l'air et les gardant à proximité et captés par les échantillonneurs. Pour les villes avec bassins aérés (2 et 3), il n'y a pas de différence dans les concentrations bactériennes entre l'amont et l'aval ( $P > 0,05$ ). Cependant, il y a une différence significative entre ces deux sites pour la ville 1 ( $P < 0,05$ ), suggérant une émission significative de bactéries.

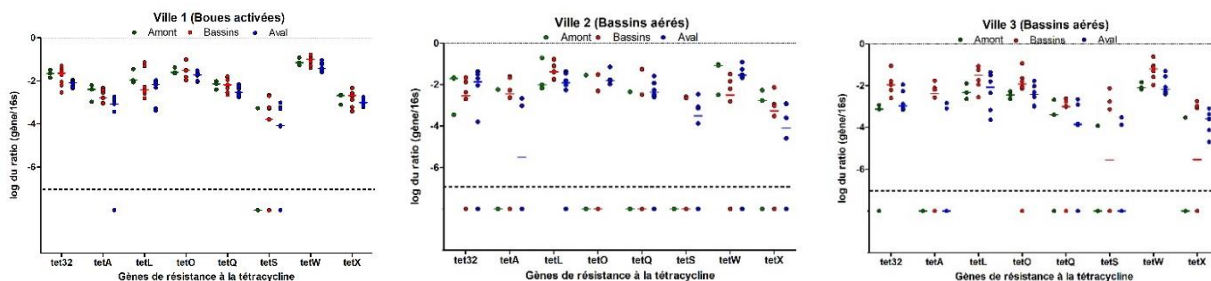


Figure 2 : Ratio des différents gènes de résistance à la tétracycline/gène de l'ARNr16S pour chaque ville dans les échantillons d'air

Les ratios des gènes de résistance à la tétracycline/16S sont généralement similaires entre l'amont, l'aval et les bassins pour chaque ville (Figure 2) ( $P > 0,05$ ), suggérant une émission généralement non détectable. Trois différences sont cependant remarquées, soit entre le bassin et l'amont de la ville 3 pour le gène tetA ( $P < 0,05$ ), entre l'amont et l'aval de la ville 2 pour le gène tetO ( $P < 0,05$ ) et entre le bassin en l'aval de la ville 2, toujours pour le gène tetO ( $P < 0,05$ ). Ainsi, les sites visités ne semblent pas être à l'origine de plus grande proportion de gènes de résistance/bactéries que les autres sources environnantes. Les échantillons sont en cours de séquençage du 16S afin de comparer la biodiversité en amont et en aval des sites et tester plus de cibles pour les GRA et ainsi valider les résultats obtenus pour certains gènes.

## CONCLUSION

Bien que le processus de traitement des eaux usées génère des bioaérosols, lorsque les mesures sont faites à l'extérieur, l'impact des sites émetteurs potentiels est difficile à mettre en lumière et les concentrations détectées ne sont pas différentes du bruit de fond dans l'air ambiant (amont). D'autres sites ainsi que d'autres GRA seront testés, toujours dans le but de mieux comprendre le rôle des bioaérosols générés par le processus de traitement de l'eau usée dans la propagation de la résistance aux antibiotiques dans l'air extérieur. Ces données permettront de mieux saisir le rôle de différentes sources environnementales dans l'exposition humaine aux bactéries résistantes aux antibiotiques.

## RÉFÉRENCES

- Bach, H. J., Tomanova, J., Schloter, M., & Munch, J. C. (2002). Enumeration of total bacteria and bacteria with genes for proteolytic activity in pure cultures and in environmental samples by quantitative PCR mediated amplification. *Journal of Microbiological Methods*, 49(3), 235–245. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(01\)00370-0](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(01)00370-0)
- 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. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.05.454>
- Qiagen. (2016). *DNeasy Powersoil Kit Protocol* (Issue June). <https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=5a0517a7-711d-4085-8a28-2bb25fab828a&lang=en>
- Stedtfeld, R. D., Guo, X., Stedtfeld, T. M., Sheng, H., Williams, M. R., Hauschild, K., Gunturu, S., Tift, L., Wang, F., Howe, A., Chai, B., Yin, D., Cole, J. R., Tiedje, J. M., & Hashsham, S. A. (2018). Primer set 2.0 for highly parallel qPCR array targeting antibiotic resistance genes and mobile genetic elements. *FEMS Microbiology Ecology*, 94(9). <https://doi.org/10.1093/FEMSEC/FIY130>

## REMERCIEMENTS

Un énorme merci aux villes qui nous ont donné l'accès à leur bassin de traitement des eaux.

Ce projet est financé par le programme du Conseil de recherche en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG), programme Frontières de la découverte 2019.