

Substances chimiques et agents biologiques

# Études et recherches

RAPPORT R-655



## Réduction de la contamination bactérienne des fluides de coupe solubles

*Geneviève Marchand  
Jacques Lavoie  
Yves Cloutier  
Louise Racine  
Nancy Lacombe*

*Éric Bélanger  
Christian Lemelin  
Daniel Nadeau  
Jean Desroches*



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

## NOS RECHERCHES

### *travaillent pour vous !*

#### Mission

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

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

Assurer la diffusion des connaissances, jouer un rôle de référence scientifique et d'expert.

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

#### Pour en savoir plus

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

Pour connaître l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement au magazine Prévention au travail, publié conjointement par l'Institut et la CSST. Abonnement : 1-877-221-7046

#### Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales  
2010  
ISBN : 978-2-89631-476-8 (version imprimée)  
ISBN : 978-2-89631-477-5 (PDF)  
ISSN : 0820-8395

IRSST - Direction des communications  
505, boul. De Maisonneuve Ouest  
Montréal (Québec)  
H3A 3C2  
Téléphone : 514 288-1551  
Télécopieur : 514 288-7636  
[publications@irsst.qc.ca](mailto:publications@irsst.qc.ca)  
[www.irsst.qc.ca](http://www.irsst.qc.ca)  
Institut de recherche Robert-Sauvé  
en santé et en sécurité du travail,  
juillet 2010

Substances chimiques et agents biologiques

# Études et recherches

RAPPORT R-655

## Réduction de la contamination bactérienne des fluides de coupe

### Avis de non-responsabilité

L'IRSST ne donne aucune garantie relative à l'exactitude, la fiabilité ou le caractère exhaustif de l'information contenue dans ce document. En aucun cas l'IRSST ne saurait être tenu responsable pour tout dommage corporel, moral ou matériel résultant de l'utilisation de cette information.

Notez que les contenus des documents sont protégés par les législations canadiennes applicables en matière de propriété intellectuelle.

*Geneviève Marchand<sup>1</sup>, Jacques Lavoie<sup>2</sup>, Yves Cloutier<sup>1</sup>,  
Louise Racine<sup>3</sup>, Nancy Lacombe<sup>3</sup>, Éric Bélanger<sup>4</sup>,  
Christian Lemelin<sup>5</sup>, Daniel Nadeau<sup>6</sup>, Jean Desroches<sup>7</sup>*

<sup>1</sup>Service soutien à la recherche et à l'expertise, IRSST

<sup>2</sup>Service de la recherche, IRSST

<sup>3</sup>Services et expertises de laboratoire, IRSST

<sup>4</sup>ASP Métal Électrique

<sup>5</sup>Entreprises GLD Inc.

<sup>6</sup>Cie Dana

<sup>7</sup>Produits chimiques Magnus

Cliquez recherche  
[www.irsst.qc.ca](http://www.irsst.qc.ca)



Cette publication est disponible  
en version PDF  
sur le site Web de l'IRSST.

**CONFORMÉMENT AUX POLITIQUES DE L'IRSST**

Les résultats des travaux de recherche publiés dans ce document  
ont fait l'objet d'une évaluation par des pairs.

## RÉSUMÉ

En 2000, près de 8000 travailleurs québécois ont été exposés aux fluides de coupe qui servent au refroidissement et à la lubrification du métal lors de l'usinage. La croissance bactérienne dans ces fluides est une problématique reconnue qui peut entraîner une perte des qualités intrinsèques des fluides de coupe. De plus, cette croissance dans les fluides peut produire une accumulation de toxines et d'allergènes. Lors des opérations avec des fluides de coupe, des aérosols sont produits et les contaminants se retrouvent dans l'air. Ils sont alors susceptibles d'être inhalés par les travailleurs. Des bactéries ont été retrouvées dans l'air ambiant entourant ces machines.

Les objectifs de ce projet étaient de vérifier si un nettoyage rigoureux réalisé selon un protocole recommandé par un fabricant pouvait restreindre la contamination bactérienne, si l'ajout de biocides à spectres différents en alternance pouvait réduire la population bactérienne et finalement, si l'ajout de biocide dans un fluide contaminé entraînait une augmentation des concentrations d'endotoxines dans l'air ambiant près de la machine.

Pour ce projet, quatre machines outils similaires, avec lesquelles des pièces semblables ont été usinées, ont été choisies. Chaque machine a subi un traitement différent afin de pouvoir répondre aux objectifs du projet. Une machine servait de contrôle; elle n'a subi aucun grand nettoyage et a fonctionné sans biocide. La deuxième machine a subi un grand nettoyage, mais aucun biocide n'y était ajouté. La troisième machine avait un biocide ajouté hebdomadairement en plus d'avoir subi le grand nettoyage. Et finalement, pour la dernière machine, deux biocides à spectres différents étaient ajoutés à toutes les semaines en plus d'avoir eu le grand nettoyage.

Des échantillons de fluide étaient prélevés hebdomadairement. L'analyse de la flore bactérienne totale et à Gram-négatif cultivable était effectuée pour chaque échantillon selon les méthodes de l'IRSSST. À la fin du projet, des échantillonnages d'endotoxines dans l'air ont été réalisés avant et après l'ajout de biocide afin de vérifier l'effet du biocide. Les analyses ont été accomplies en suivant le protocole de l'IRSSST.

Ce projet a permis d'observer que le grand nettoyage des machines ne permet pas à lui seul de réduire la concentration de bactéries contenues dans les fluides de coupe; par contre, le nombre de changements de fluide est réduit pour les machines qui ont eu un grand nettoyage comparativement à la machine contrôle. Il a aussi été démontré qu'un contrôle significatif de la flore bactérienne à l'intérieur des fluides de coupe passe inévitablement par l'utilisation de biocide. Puisqu'un nettoyage en profondeur ne suffit pas et que les biocides sont reconnus responsables de problèmes de santé chez les travailleurs, d'autres avenues de contrôle de la flore bactérienne présente dans les fluides de coupe devraient être évaluées afin de réduire l'exposition des travailleurs aux contaminants microbiens contenus dans ces fluides. De plus, bien que les concentrations d'endotoxines mesurées dans l'air soient demeurées bien faibles, une différence significative a tout de même été démontrée suite à l'ajout de biocide dans les fluides contaminés.



## TABLE DES MATIÈRES

1.	INTRODUCTION .....	1
2.	Objectifs de l'étude .....	3
3.	DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE .....	5
3.1	Prélèvement des échantillons .....	6
3.1.1	Bactériens .....	6
3.1.2	Endotoxines de l'air .....	6
3.2	Analyse des échantillons .....	6
3.2.1	Bactériens .....	6
3.2.2	Endotoxines de l'air .....	7
3.3	Analyses statistiques .....	7
4.	RÉSULTATS .....	9
4.1	Entretien .....	9
4.2	Dénombrement bactérien .....	9
4.3	Identification bactérienne .....	15
4.4	Concentration d'endotoxines dans l'air .....	17
5.	DISCUSSION .....	19
6.	CONCLUSION .....	22
7.	RÉFÉRENCES .....	23

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Résumé des traitements planifiés pour chaque machine.....	5
Tableau 2 : Résumé des traitements non planifiés mais requis durant la durée du projet .....	9
Tableau 3 : Médianes (UFC/ml) des concentrations de bactéries totales cultivables sur TSA dans les fluides de coupe des quatre tours.....	10
Tableau 4 : Médianes (UFC/ml) des concentrations de bactéries à Gram-négatif cultivables sur MacConkey dans les fluides de coupe des quatre tours. ....	10
Tableau 5: Tableaux d'analyse de variance .....	11
Tableau 6: Test de Comparaison Multiple de Dunnett's avec le tour 120-3 comme contrôle .....	12
Tableau 7: Distribution bactérienne dans le temps pour chaque machine outil à chaque semaine .....	16
Tableau 8 : Diversité bactérienne obtenue par croissance dans les échantillons de fluides. ....	17

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Concentrations hebdomadaires de bactéries totales et de bactéries à Gram-négatif cultivables pour le tour 120-3.....	13
Figure 2 : Concentrations hebdomadaires de bactéries totales et de bactéries à Gram-négatif cultivables pour le tour 120-4.....	13
Figure 3 : Concentrations hebdomadaires de bactéries totales et de bactéries à Gram négatif cultivables pour le tour 125-3.....	14
Figure 4 : Concentrations hebdomadaires de bactéries totales et de bactéries à Gram-négatif cultivables pour le tour 125-4.....	14



## 1. INTRODUCTION

Les fluides de coupe sont activement utilisés dans l'industrie de la coupe des métaux (Iowa Waste Reduction Center, 2003). Ils sont utilisés lors de l'usinage de pièces métalliques. On estime, aux États-Unis, que 1,2 million de travailleurs sont exposés aux fluides de coupe (NIOSH, 1998). Au Québec, c'est plus de 8000 travailleurs qui y sont exposés (Duchaine *et al.*, 2003). Les quantités de fluides de coupe utilisés dans l'industrie de la transformation des métaux sont importantes. En 1992, 71,5 millions de gallons de ces fluides ont été produits aux États-Unis. Les fluides de coupe servent principalement au refroidissement, à la lubrification et à l'élimination des éclats de métaux lors de la fabrication des pièces métalliques (Mattsby-Baltzer *et al.*, 1989a; Sutherland 2007).

Ces fluides peuvent être séparés en quatre grandes classes : les huiles pures, les huiles solubles, les synthétiques et semi-synthétiques (NIOSH, 1998 ; Iowa Waste Reduction Center, 2003). Les fluides composés d'huiles solubles forment une émulsion lorsque mélangés à de l'eau (Sutherland, 2007). Ils sont très largement utilisés dans l'industrie puisqu'ils sont les moins dispendieux (Sutherland, 2007). Ils procurent une bonne lubrification et un bon transfert de chaleur (NIOSH, 1998). Les propriétés physiques et la composition chimique des fluides changent considérablement de l'un à l'autre, entre autres par l'addition de différents produits tels des biocides, des surfactants, des agents anti-corrosion et des anti-fongiques (Kennedy *et al.* 1989). Les additifs sont employés afin d'augmenter la performance des fluides, les rendre plus durables et plus spécifiques (Duchaine *et al.*, 2003).

D'un intérêt particulier pour le contrôle de la croissance bactérienne, les biocides font partie de la formulation initiale des fluides de coupe, mais peuvent aussi être ajoutés au besoin en cours d'utilisation. La plupart des biocides utilisés sont solubles dans l'eau et relâchent du formaldéhyde. Le formaldéhyde est un irritant des voies respiratoires et un agent reconnu cancérigène chez l'homme (NIOSH, 1998, CIRC 2006). Les biocides doivent être choisis en fonction des fluides et des utilisations prévues. Cependant, leur utilisation peut contribuer à l'émergence de souches résistantes aux agents actifs contenus dans les biocides. De plus, il est possible que le contrôle d'une certaine flore particulière par les biocides favorise le développement d'une autre flore qui elle, n'est pas contrôlée par le biocide utilisé. L'ajout de différentes formulations de biocides à spectres différents en alternance est recommandé pour éviter ces problèmes (Iowa Waste Reduction Center, 2003). D'ailleurs, l'utilisation aléatoire de différents biocides est plus efficace que l'utilisation constante du même agent. Si l'effet des biocides permet un certain contrôle de la population bactérienne, il demeure qu'une re-colonisation par les microorganismes est observée après quelques temps (Mattsby-Baltzer *et al.*, 1989a; Laitinen *et al.*, 1999). L'utilisation massive de biocides peut être suffisante pour contrôler les problèmes de croissance bactérienne dans les fluides, mais ceci demeure une solution temporaire qui doit être reconsidérée régulièrement en s'appuyant sur des connaissances empiriques.

Les fluides de coupe, particulièrement ceux auxquels de l'eau est ajoutée, constituent une excellente source nutritive pour certains microorganismes (Foxall-VanAken *et al.*, 1986;). La contamination microbienne de ces fluides a été mise en évidence dans plusieurs études (Dilger *et al.*, 2005; Webster *et al.*, 2005; Veillette *et al.*, 2004; Gorny *et al.*, 2004; Linnainmaa *et al.*, 2003; Laitinen *et al.*, 1999; Mattsby-Baltzer *et al.*, 1989b). La plupart des microorganismes sont

d'origine environnementale et proviennent de l'eau utilisée comme diluant, mais les travailleurs ou les biofilms dans les systèmes de recirculation des fluides peuvent en être également des sources importantes (Dilger *et al*, 2005). La contamination bactérienne des fluides de coupe préoccupe l'industrie des fluides. Elle peut entraîner une perte de qualité intrinsèque des fluides de coupe (Sabina and Pivnick, 1956; NIOSH, 1998).

Depuis l'établissement de problèmes de santé reliés à l'utilisation des fluides de coupe, des études ont tenté d'identifier et de quantifier la charge microbienne afin de connaître les liens de cause à effet sur la santé des travailleurs exposés. Des concentrations très élevées de  $10^9$  UFC/ml ont été rapportées et des espèces bactériennes telles *Pseudomonas oleovorans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas spp.*, *Comamonas sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptomyces albus*, *Mycobacterium immunogenum* et *Proteus vulgaris* ont été identifiées (Foxall-VanAken *et al*, 1986; Laitinen *et al*, 1999; Veillette *et al*, 2004; Gorny *et al*, 2004). De plus, la croissance microbienne dans les fluides peut engendrer une accumulation de toxines et d'allergènes (Thorne and DeKoster, 1996). Lors des opérations en présence de fluide de coupe, des aérosols sont générés et les contaminants contenus dans les fluides se retrouvent dans l'air et peuvent être inhalés par les travailleurs. Une étude de Wang (2007) a démontré que les huiles de coupe solubles utilisées dans les industries peuvent être contaminées par des concentrations élevées de particules fines et contenir des composés microbiens tels les endotoxines. La présence de bactéries a été mesurée dans l'air ambiant entourant les machines (Laitinen *et al*, 1999). Les concentrations élevées de bactéries rencontrées dans les fluides de coupe permettent d'envisager un risque potentiel d'exposition des travailleurs aux aérosols de fluides contaminés. En effet, les travailleurs qui manipulent les fluides de coupe ou qui sont exposés aux aérosols résultant de la manipulation des fluides peuvent être en contact avec des bactéries du genre *Mycobacterium* (Veillette *et al*, 2004). Lors d'une éclosion récente de cas d'alvéolite allergique extrinsèque, la présence de *Mycobacterium chelonae* et *Mycobacterium immunogenum* a été détectée dans les fluides de coupe (Kreiss et Cox-Ganser, 1997; Hodgson *et al*, 2001; Shelton *et al*, 1999; Wallace *et al*, 2002).

Depuis 10 ans, on assiste à une augmentation des cas de problèmes de santé respiratoire entre autres l'alvéolite allergique extrinsèque chez les travailleurs de l'usinage (Bernstein *et al*, 1995; Rose *et al*, 1996; Kreiss et Cox-Ganser, 1997; Dutkiewick *et al*, 2001). Or, il est connu que les endotoxines peuvent causer des problèmes respiratoires chez les travailleurs de différents milieux (Rylander *et al*, 1985; Liebers *et al*, 2006; Heederik *et al*, 1991; Smid, *et al*, 1992; Laitinen *et al*, 1999; Viet *et al*, 2001). Elles sont aussi présentes dans les fluides de coupe ainsi que dans les aérosols générés lors du machinage. Les endotoxines et les bactéries constituent donc un risque pour les travailleurs de cette industrie (Heederick *et al*, 1991; Laitinen *et al*, 1999; Viet *et al*, 2001).

Le NIOSH (National Institut of Occupational Safety and Health) recommande de limiter l'exposition aux particules de ces milieux à  $0,4 \text{ mg/m}^3$  pour la fraction inhalable par quart de travail de 8 heures, 40 heures/semaine. Cette limite veut prévenir les désordres respiratoires associés à l'exposition aux fluides de coupe contenant, entre autres, des métaux, des microorganismes et des huiles (NIOSH, 1998). Le NIOSH recommande toutefois de conserver les niveaux en dessous de ces limites, car des cas d'alvéolites allergiques, d'asthme et aussi d'autres problèmes respiratoires ont été rencontrés sous les limites proposées.

Le NIOSH recommande également certaines procédures pour faciliter le contrôle de la contamination microbienne des fluides de coupe et réduire les risques liés à leur exposition. Une augmentation significative de la croissance microbienne est observée lorsque le pH baisse en dessous de 8,5 (IOWA Waste Reduction Center, 2003). La contamination par des huiles provenant des machines outils (huiles vagabondes) devrait être évitée. Ces huiles constituent une source nutritionnelle pour les bactéries et peuvent favoriser leur développement (IOWA Waste Reduction Center, 2003). Lors de la vidange complète des machines, une attention particulière doit être apportée aux biofilms qui peuvent être présents dans les tuyaux et les fonds de bassin. Ces biofilms peuvent contribuer à une contamination rapide des fluides neufs s'ils ne sont pas enlevés lors des nettoyages (Veillette *et al*, 2004). Le NIOSH recommande de faire la vidange complète des systèmes, mais les méthodes de nettoyage ne sont pas suffisamment détaillées et leur efficacité semble parfois négligeable.

Il est important de souligner qu'une étude a conclu à l'inefficacité des habitudes de nettoyage et de décontamination utilisées et la nécessité de comprendre les facteurs précoces d'apparition et de croissance massive de bactéries dans les systèmes des fluides de coupe (Veillette *et al*, 2004). Des taux très élevés de contamination bactérienne, incluant certains pathogènes ont été retrouvés dans les fluides et ce, malgré les systèmes de gestion rigoureux.

## 2. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Ce projet de recherche documente deux moyens pour contrôler la prolifération bactérienne dans les fluides de coupe hydrosolubles, soit l'utilisation d'un nettoyage de la machinerie ou l'application de biocides de façon systématique.

Les objectifs spécifiques sont de :

Objectif 1: Comparer la flore bactérienne obtenue dans un fluide de coupe hydrosoluble selon le type de nettoyage effectué.

Objectif 2 : Comparer la flore bactérienne obtenue dans un fluide de coupe selon le protocole d'utilisation des biocides, Grotan BK et Magnicide en alternance ou Magnicide en utilisation unique.

Objectif 3 : Vérifier si l'ajout d'un biocide à un fluide hydrosoluble contaminé augmente les concentrations d'endotoxines dans l'air ambiant.



### 3. DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE

Pour répondre aux objectifs de ce projet, quatre machines outils similaires ont été choisies à l'intérieur d'une usine. Il s'agit de quatre tours de marque Mori seiki SL250 et SL303 (Mori Seiki Ltd, Nagoya city, Japan). Chaque tour a un réservoir individuel pouvant contenir 125 litres de fluide de coupe. Aucun réservoir central n'est utilisé dans cette usine. Les quatre machines choisies effectuaient l'usinage d'un même type de pièces, avec les mêmes outils de coupe et travaillaient sur la fonte. Les fluides de coupe utilisés étaient constitués d'huile soluble. Ils proviennent de la compagnie Magnus (Magnus, Boucherville, Canada).

Chaque machine a subi un traitement différent dans le cadre de ce projet. La machine 120-3 a opéré en utilisation normale avec le nettoyage de base habituel lors du changement de fluide effectué au début du projet. Le nettoyage de base se limite au lavage des parties accessibles de la machine. Les machines 120-4, 125-3 et 125-4 ont été nettoyées d'une façon très rigoureuse en appliquant un protocole strict recommandé par le manufacturier du fluide. Ce nettoyage de chaque machine nécessite une dizaine d'heures de travail. Toutes les parties accessibles du tour sont nettoyées minutieusement et un produit nettoyant appelé « machine cleaner » (Magnus, Boucherville, Canada) est circulé afin d'aider au décollement des dépôts. Ce produit est retiré avant le remplissage avec le nouveau fluide. Les fluides de coupe ont été dilués avec l'eau du robinet à raison de 8 litres d'eau par litre de fluide pour une concentration finale de 8% selon les recommandations du fabricant. Des biocides ont été utilisés exclusivement pour les tours 125-3 et 125-4, les tours 120-3 et 120-4 ont opéré sans biocide. Pour le tour 125-3, le biocide utilisé était le Magnicide (Magnus, Boucherville, Canada) à base de chlore. Pour le tour 125-4, le Magnicide a été utilisé en alternance avec un autre biocide, le Grotan BK qui contient de la formaldéhyde comme agent actif (Magnus, Boucherville, Canada). L'ajout de biocide a été réalisé de façon systématique tous les mercredis à partir de la quatrième semaine du projet. Pour la machine qui recevait les biocides en alternance, un seul biocide par semaine était utilisé et ceci, à tour de rôle. Le choix des biocides et la séquence d'utilisation ont été décidés par les utilisateurs en se basant sur leur expérience d'utilisation préalable.

**Tableau 1 : Résumé des traitements planifiés pour chaque machine.**

Machines	Traitements	Biocides
120-3	Nettoyage de base	Sans biocide
120-4	Grand nettoyage	Sans biocide
125-3	Grand nettoyage	Biocide Magnicide
125-4	Grand nettoyage	Biocides Grotan BK et Magnicide MW en alternance

Durant le projet, les volumes de fluide, d'eau et de biocide ajoutés ont été enregistrés quotidiennement pour chaque machine. Les concentrations du fluide ont été enregistrées à tous les jours. La mesure de la concentration du fluide s'est faite quotidiennement, directement à l'usine. Pour faire cette mesure, un réfractomètre modèle : RHB-3 ayant une échelle de 0 à 32 (Westover Scientific inc., WA, USA) a permis de connaître le pourcentage d'huile présent dans l'émulsion.

Les entretiens et les changements de fluide ont été réalisés par les personnes responsables de la maintenance des machines. Chacun de ces entretiens a également été documenté. Le calendrier d'entretien varie d'une machine à l'autre. Les personnes responsables des machines décident du moment et du type d'entretien nécessaire pour le bon fonctionnement de leur machine, de la qualité de la production et de l'impact sur le rendement. L'apparition d'odeur, la perte de viscosité et la quantité de dépôts sont certains des critères empiriques qui sont observés par les experts avant de décider qu'un entretien doit être appliqué.

### **3.1 Prélèvement des échantillons**

#### **3.1.1 Bactériens**

La prise des échantillons des fluides de coupe pour l'analyse des bactéries s'est faite systématiquement les lundis de chaque semaine durant les six mois du projet. Les échantillons ont été prélevés à l'aide d'une pipette stérile de 25 ml et transférés dans des tubes Corning 50 ml (Corning, NY, USA) et ce, directement dans le réservoir d'accumulation des fluides sous les machines outils (Fisherbrand, Ontario, Canada). Tous les prélèvements ont été expédiés au laboratoire de l'IRSST dans les 24 heures.

#### **3.1.2 Endotoxines de l'air**

Les échantillons d'air pour l'analyse des endotoxines ont été récoltés à l'aide de cassettes 37 mm fermées, munies de membrane de fibres de verre Gelman Sciences (Pall, Québec, Canada), selon les recommandations du guide de prélèvement des contaminants de l'air de l'IRSST (IRSST, 2005). Les débits de prélèvement ont été ajustés à 2 litres/minute pour une durée de 180 minutes.

### **3.2 Analyse des échantillons**

#### **3.2.1 Bactériens**

##### **3.2.1.1 Extraction des bactéries des fluides de coupe**

Les échantillons ont été traités dès leur arrivée au laboratoire selon les méthodes IRSST 264-3 et 341-1 (IRSST, 1998a, Marchand 2009). Tous les échantillons reçus ont été agités à l'aide d'un mélangeur Multi-tube vortexer (VWR Scientific Products, Ontario, Canada) pour une durée minimale de 30 minutes.

##### **3.2.1.2 Étalement sur milieux gélosés**

Les étalements ont été effectués en triplicata, et ce, pour au moins trois dilutions différentes. Les dilutions étalées étaient de l'ordre de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$ . Toutes les dilutions ont été réalisées dans de l'eau peptonée (fluide A) à raison de 1 ml d'échantillon pour 9 ml de fluide A (Becton Dickinson, MD, USA). Les étalements ont été réalisés à l'aide de râteaux stériles. Les milieux utilisés ont été le trypticase de soya (TSA) et le MacConkey (Quélab, Montréal, Canada). La température d'incubation a été de 37°C pour une période de 48 heures. Les étalements ont été faits en déposant 100 µl de la suspension bactérienne sur la gélose désirée.

### 3.2.1.3 Décompte des unités formatrices de colonies

Pour chaque échantillon, la dilution pour laquelle le nombre de colonies par pétri se retrouvait généralement entre 30 et 300, a été utilisée pour faire le calcul des unités formatrices de colonie par millilitre de fluide. Les moyennes arithmétiques des trois reliquats ont été utilisées pour faire le calcul de la concentration en UFC/ml de fluide de coupe. Pour faire ce calcul, le facteur de dilution ainsi que le volume étalé ont été utilisés. En cas d'absence de croissance sur l'un des triplicatas, la moyenne était effectuée sur les deux autres.

### 3.2.1.4 Isolement et identification des différentes souches de bactéries

Selon les échantillons, de 1 à 16 colonies ayant une apparence différente ont été repiquées en culture pure. L'obtention d'une culture pure est une étape essentielle de l'identification bactérienne. Les repiquages ont été faits sur des géloses au trypticase de soya additionnées ou non de 5% de sang de mouton (Quélab, Montréal Canada). Les bactéries ont été identifiées par la méthode d'identification 341-1 de l'IRSSST, soit par comparaison de leur profil en acide gras obtenu par chromatographie en phase gazeuse avec la base de données du système d'identification Sherlock de la compagnie MIDI (2005) ou par leurs caractéristiques biochimiques obtenues à l'aide du système Microscan (Baxter, 1988 a,b).

## 3.2.2 Endotoxines de l'air

À la dernière semaine du projet, six échantillons d'endotoxines ont été prélevés dans l'air ambiant avant et après l'ajout de biocide près de la machine 120-3, où aucun biocide n'avait été ajouté durant le projet. Trois échantillons ont été pris à un mètre du sol près de l'ouverture de la porte qui permet un cloisonnement des opérations et trois autres ont été prélevés au même moment au-dessus du tour en haut de l'ouverture de la porte. La durée des prélèvements a été de trois heures. La machine était en utilisation normale durant la durée des prélèvements. Les échantillons ont été conservés dans une jarre à dessiccation pour un maximum de 14 jours avant l'extraction. L'extraction des endotoxines a été effectuée dans 20 ml d'eau d'irrigation USP (Baxter corporation, Ontario, Canada) dans des tubes de polystyrène de 50 ml. L'extraction a été faite par traitement au bain à ultrasons Branson 5510 (Branson ultrasonic corporation, CT, USA) pour une période de 60 minutes suivie d'une agitation de 30 minutes au mélangeur Multi-tube vortexer. Afin de minimiser la présence de fibres dans la suspension, une centrifugation de 10 minutes à 800g a été réalisée. Une fois l'extraction terminée, les échantillons ont été analysés dans les 24 à 48 heures, sans aucune congélation des extraits et ce, suivant la méthode IRSSST 332 (IRSSST 1998b).

## 3.3 Analyses statistiques

La vérification de la distribution des données a pu démontrer une distribution près de la normalité une fois les données transformées en utilisant la transformation logarithmique. Puisque les médianes sont moins affectées par les écarts entre les valeurs, celles-ci sont rapportées à cause de la grande variation inter-semaines des résultats de cette étude. L'analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs et le test de comparaison multiple de Dunnett qui permettent de comparer les résultats avec un contrôle ont été utilisés. Pour ce projet, le tour 120-3 a été utilisé comme comparatif puisqu'il reflète les entretiens coutumiers de cette usine. Les autres tours lui

ont donc été comparés. Un niveau de probabilité de 0,05 a été utilisé comme niveau d'erreur de type I ainsi qu'un test bilatéral pour l'hypothèse. Le logiciel NCSS 2004 (Hintze, 2001) a été utilisé pour les analyses statistiques.



## 4. RÉSULTATS

### 4.1 Entretien

Le tableau 2 fournit un résumé des entretiens non planifiés mais requis pour la durée du projet. Les entretiens de nettoyage non planifiés ont varié selon les tours, durant les six mois de l'étude. Le tour 120-3, celui sans biocide ajouté et sans grand nettoyage, a subi trois nettoyages d'entretien régulier qui ont tous nécessité le remplacement du fluide. Le premier remplacement a été fait à la cinquième semaine du projet. Le tour 120-4 pour lequel un grand nettoyage a été réalisé, mais qui n'avait aucun traitement aux biocides, a subi trois nettoyages d'entretien, mais seulement à deux occasions le fluide a dû être changé. Le premier nettoyage d'entretien a eu lieu à la sixième semaine et le premier changement du fluide a été réalisé à la seizième semaine. Pour ce qui est du tour 125-3, ayant subi un grand nettoyage et qui était traité hebdomadairement avec le biocide Magnicide MW, seulement deux nettoyages d'entretien ont été nécessaires et aucun n'a requis le remplacement du fluide. Le premier nettoyage d'entretien a eu lieu à la huitième semaine du projet. Pour le tour 125-4, ayant eu un grand nettoyage et qui était traité hebdomadairement avec des biocides en alternance, soit le Grotan BK ou le Magnicide MW, trois nettoyages d'entretien ont été nécessaires sans aucun remplacement du fluide pour toute la durée du projet. Le premier nettoyage d'entretien a été réalisé à la cinquième semaine pour ce tour.

**Tableau 2 : Résumé des traitements non planifiés mais requis durant la durée du projet**

<b>Machines</b>	<b>Nettoyages</b>	<b>Remplacements</b>	<b>Premier entretien</b>
	<b>n</b>	<b>n</b>	<b>semaine du projet</b>
120-3	3	3	5
120-4	3	2	6
125-3	2	0	8
125-4	3	0	5

n : nombre

### 4.2 Dénombrement bactérien

Le tableau 3 donne les médianes, les coefficients de variation ainsi que le range des concentrations de bactéries cultivables obtenues à partir d'une croissance sur le milieu trypticase de soja (TSA). La médiane maximale,  $2,7 \cdot 10^6$  UFC/ml de fluide, a été obtenue dans le fluide du tour 120-3 qui a servi de contrôle. La médiane la plus faible a été obtenue pour le fluide du tour 125-3 et elle était de  $7,5 \cdot 10^3$  UFC/ml de fluide.

**Tableau 3 : Médianes (UFC/ml) des concentrations de bactéries totales cultivables sur TSA dans les fluides de coupe des quatre tours.**

<b>Machine</b>	<b>n</b>	<b>Médiane</b>	<b>Coefficient de variation</b>	<b>Range</b>
120-3	26	$2,7*10^6$	2.21	$1.7*10^8$
120-4	26	$1,0*10^6$	1.47	$5.0*10^7$
125-3	23	$7,5*10^3$	2.77	$5.9*10^6$
125-4	22	$6,0*10^4$	2.64	$2.3*10^7$

n : nombre

Le tableau 4 donne les médianes, les coefficients de variation ainsi que le range des concentrations de bactéries à Gram-négatif qui se sont développées sur le milieu de culture MacConkey. La médiane maximale sur ce milieu de culture a également été obtenue dans le fluide du tour 120-3, à une concentration de  $1,6*10^6$  UFC/ml de fluide. La concentration la plus faible, soit  $2,7*10^3$  UFC/ml provient du fluide du tour 125-3.

**Tableau 4 : Médianes (UFC/ml) des concentrations de bactéries à Gram-négatif cultivables sur MacConkey dans les fluides de coupe des quatre tours.**

<b>Machine</b>	<b>n</b>	<b>Médiane</b>	<b>Coefficient de variation</b>	<b>Range</b>
120-3	26	$1,6*10^6$	1.63	$3.0*10^7$
120-4	26	$5,8*10^5$	1.32	$1.9*10^7$
125-3	22	$2,7*10^3$	2.58	$3.8*10^6$
125-4	20	$3,4*10^4$	2.32	$1.1*10^7$

Une fois les données transformées en logarithme une distribution se rapprochant de la distribution normale est observée. L'ANOVA à deux facteurs sans interaction entre les facteurs a été réalisée. Cette analyse de variance permet de démontrer que des différences significatives sont présentes au plan des concentrations de bactéries mesurées entre les traitements (machines) ainsi que dans le temps. Cette analyse permet également de confirmer, qu'une fois la variation dans le temps contrôlée il reste toujours une différence significative entre les traitements.

**Tableau 5: Tableaux d'analyse de variance**

**a) bactéries totales**

Source Terme	DF	Somme carres	carre moyen	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: machine	3	49,82	16,61	4,68	0,004947*	0,877785
B: semaine	25	286,36	11,45	3,23	0,000067*	0,999768
S	68	241,17	3,547			
Total (Adjusted)	96	602,39				
Total	97					

\* Term significant at alpha = 0,05

**b) bactéries à Gram négatif**

Source Terme	DF	Somme carres	carre moyen	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: machine	3	50,92	16,97	5,53	0,001891*	0,928302
B: semaine	25	276,03	11,04	3,60	0,000017*	0,999944
S	66	202,48	3,068			
Total (Adjusted)	94	551,02				
Total	95					

\* Term significant at alpha = 0,05

Puisque l'ANOVA a démontré que des différences significatives étaient observées entre les machines, le test de comparaisons multiples de Dunnett a été utilisé pour identifier les différences. Ce test permet de comparer par rapport à un contrôle, ici le tour 120-3, les concentrations mesurées dans les autres machines. Le tableau 6 présente les résultats de l'analyse de Dunnett avec contrôle pour les bactéries totales et à Gram négatifs

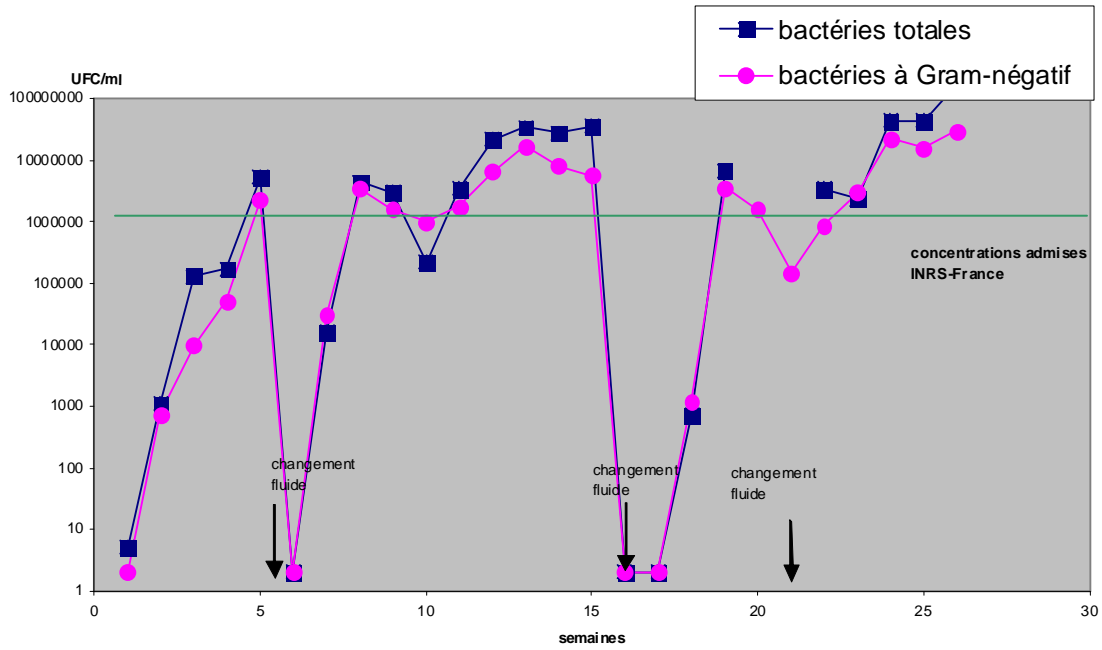
**Tableau 6: Test de Comparaison Multiple de Dunnett's avec le tour 120-3 comme contrôle**

<b>Groupe Type bactérie</b>	<b>Compte</b>	<b>Moyenne</b>	<b>Different du groupe Traitement</b>	<b>p-value</b>
Totales	26	5,28189	125-3	0,05
Gram négatif	26	5,070822	125-3	0,05

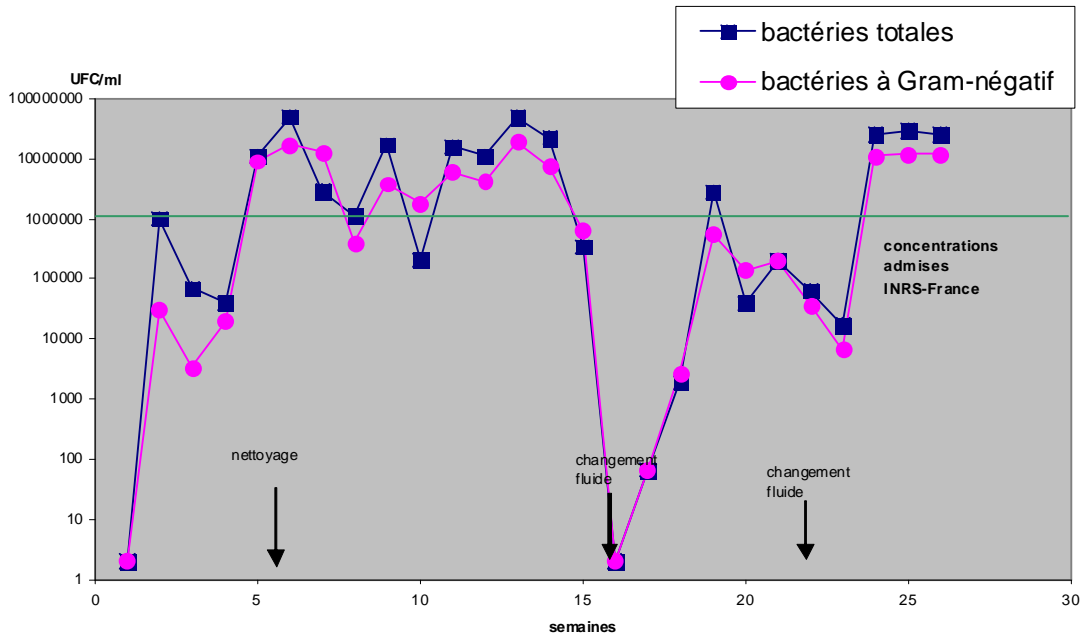
Ce test a permis de démontrer que pour les bactéries totales et les bactéries à Gram-négatif cultivables, les concentrations mesurées dans le tour 125-3 étaient significativement inférieures aux concentrations mesurées dans le tour contrôle 120-3. Par contre, aucune différence significative n'est observée au niveau des concentrations de bactéries totales et à Gram-négatifs cultivables mesurées entre les fluides des deux tours utilisant des biocides ni entre le tour contrôle et le tour ayant subi le grand nettoyage.

Les figures 1 à 4 représentent les concentrations de bactéries totales cultivables obtenues hebdomadairement pour les tours 120-3, 120-4, 125-3 et 125-4 respectivement. Sur ces figures apparaissent également les opérations de maintenance non planifiées qui ont été réalisées sur chaque machine tout au long du projet. Pour les tours 125-3 et 125-4, le manque de fluide a obligé l'arrêt prématuré du projet à la 24<sup>e</sup> semaine.

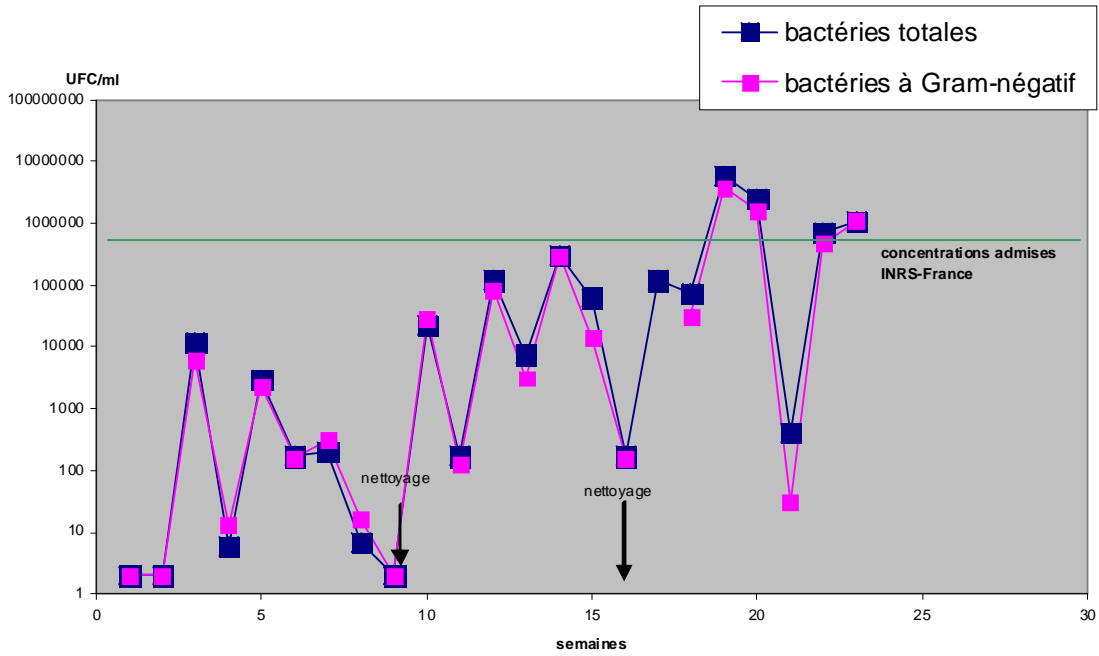
**Figure 1 : Concentrations hebdomadaires de bactéries totales et de bactéries à Gram-négatif cultivables pour le tour 120-3.**



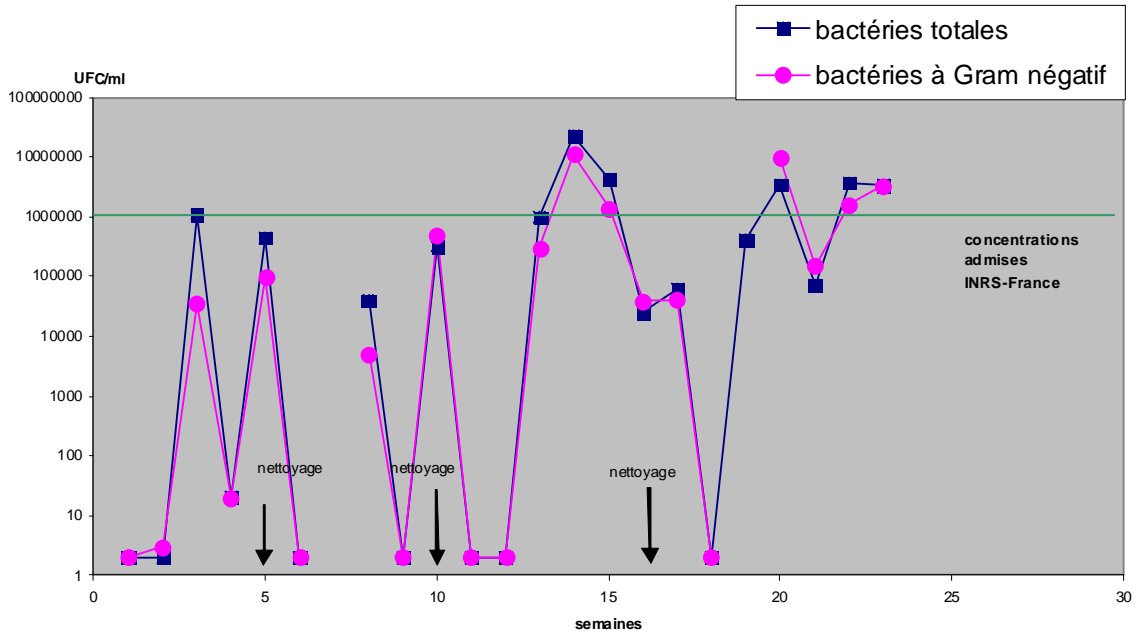
**Figure 2 : Concentrations hebdomadaires de bactéries totales et de bactéries à Gram-négatif cultivables pour le tour 120-4.**



**Figure 3 : Concentrations hebdomadaires de bactéries totales et de bactéries à Gram négatif cultivables pour le tour 125-3**



**Figure 4 : Concentrations hebdomadaires de bactéries totales et de bactéries à Gram-négatif cultivables pour le tour 125-4.**




### 4.3 Identification bactérienne

Le Tableau 7 représente la distribution des différents genres de bactéries qui ont été rencontrées à au moins deux occasions dans les fluides de coupe de ce projet. Le tableau fait une représentation hebdomadaire des résultats pour chaque machine outil évaluée. Le genre *Pseudomonas* est celui qui a été observé le plus souvent dans les fluides de ce projet. En effet, 73 des 79 échantillons pour lesquels une croissance bactérienne a été obtenue contenaient des bactéries du genre *Pseudomonas*, soit 92% des échantillons. Malgré cette quasi-omniprésence du genre *Pseudomonas*, une flore bactérienne bien diversifiée a été observée dans les fluides. Les analyses par croissance ont permis d'identifier des bactéries des genres *Citrobacter*, *Staphylococcus*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Shewenella* et *Brevundimonas* dans plus d'une machine au cours de ce projet.

Le tableau 8 présente en résumé l'ensemble de la diversité globale bactérienne obtenue pour chacune des quatre tours, peu importe la fréquence de recouvrement. Peu de souches ont pu être identifiées à l'espèce malgré les deux méthodes de caractérisation utilisées. Les analyses ont toutefois permis d'identifier à l'espèce certaines souches de *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Citrobacter* et *Shewenella*.

**Tableau 7: Distribution bactérienne dans le temps pour chaque machine outil à chaque semaine**

Machine	Genre bactérien	Semaine																											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26		
120-3	<i>Acinetobacter</i>																												
	<i>Alcaligènes</i>																												
	<i>Bacillus</i>																												
	<i>Brevundimonas</i>																												
	<i>Citrobacter</i>																												
	<i>Corynebacterium</i>																												
	<i>Pseudomonas</i>																												
	<i>Shewanella</i>																												
	<i>Staphylococcus</i>																												
	120-4	<i>Acinetobacter</i>																											
<i>Alcaligènes</i>																													
<i>Bacillus</i>																													
<i>Brevundimonas</i>																													
<i>Citrobacter</i>																													
<i>Corynebacterium</i>																													
<i>Pseudomonas</i>																													
<i>Shewanella</i>																													
<i>Staphylococcus</i>																													
125-3		<i>Acinetobacter</i>																											
	<i>Alcaligènes</i>																												
	<i>Bacillus</i>																												
	<i>Brevundimonas</i>																												
	<i>Citrobacter</i>																												
	<i>Corynebacterium</i>																												
	<i>Pseudomonas</i>																												
	<i>Shewanella</i>																												
	<i>Staphylococcus</i>																												
	125-4	<i>Acinetobacter</i>																											
<i>Alcaligènes</i>																													
<i>Bacillus</i>																													
<i>Brevundimonas</i>																													
<i>Citrobacter</i>																													
<i>Corynebacterium</i>																													
<i>Pseudomonas</i>																													
<i>Shewanella</i>																													
<i>Staphylococcus</i>																													

 Signifie que ce genre bactérien a été détecté dans ce fluide à la semaine donnée peu importe la concentration



**Tableau 8 : Diversité bactérienne obtenue par croissance dans les échantillons de fluides.**

120-3	120-4	125-3	125-4
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Acinetobacter</i> sp	<i>Alcaligenes</i> sp	<i>Brevundimonas</i> sp
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Alcaligenes</i> spp	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Bacillus licheniform</i>	<i>Brevundimonas</i> sp	<i>Pseudomonas</i>
<i>Bacillus</i> sp	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter</i> sp	<i>pseudoalcaligenes</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas balearia</i>	<i>Pseudomonas</i> spp
<i>Flavobacterium breve</i>	<i>Providencia</i> sp	<i>Pseudomonas</i> spp	<i>Staphylococcus</i> sp
<i>Gordona</i> sp	<i>Pseudomonas</i> spp	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	<i>Staphylococcus</i> sp	
<i>Micrococcus</i> sp	<i>Shewenella putrefaciens</i>	<i>Yersinia</i> sp	
<i>Pseudomonas</i>	<i>Staphylococcus xylosum</i>		
<i>pseudoalcaligenes</i>			
<i>Pseudomonas</i> spp			
<i>Corynebacterium</i> sp			
<i>Pseudomonas stutzeri</i>			
<i>Shewenella putrefaciens</i>			
<i>Staphylococcus</i> sp			
<i>Staphylococcus warneri</i>			

#### 4.4 Concentration d'endotoxines dans l'air

Les concentrations d'endotoxines mesurées dans l'air ambiant de la machine 120-3, avant et après l'ajout de biocide, ont été respectivement de  $1,2 \pm 0,1$  EU/m<sup>3</sup> d'air et de  $9,6 \pm 11,9$  EU/m<sup>3</sup>. Malgré le nombre d'échantillon faible, soit seulement 6 échantillons, le test de U de Mann-Whitney (p-value=0,05) pour données non-paramétriques permet de démontrer une augmentation des concentrations d'endotoxines dans l'air ambiant lorsque du biocide est ajouté dans le fluide.



## 5. DISCUSSION

Ce projet permet d'observer que, dans le contexte spécifique de notre étude, la fréquence des opérations de maintenance non planifiées varie d'une machine à l'autre selon le protocole nettoyage/biocide appliqué. De plus, les cycles d'entretien sont différents et ne nécessitent pas toujours les mêmes types d'opération de maintenance d'une machine à l'autre. Ces observations qui sont représentatives des opérations réelles compliquent cependant l'analyse des résultats en introduisant des paramètres de variabilité additionnels. L'ANOVA réalisée sur les facteurs machine et temps permet de démontrer une différence entre certains traitements.

Ce projet indique que la fréquence de remplacement du fluide est moindre lorsque le protocole du grand nettoyage est exécuté. L'utilisation de biocides permet de conserver les fluides sur une période plus longue. En effet, au cours de ce projet, aucun changement de fluide n'a été requis pour les deux machines ayant bénéficié des ajouts de biocides comparativement aux machines pour lesquelles aucun biocide n'a été ajouté. Les premiers nettoyages ont eu lieu entre la cinquième et la huitième semaine selon les machines. Le grand nettoyage permet de retarder de quelques semaines le premier nettoyage d'entretien. Ces observations ont des répercussions économiques sur les opérations et peuvent être un critère qui inciterait l'industrie à préconiser le choix d'une procédure plutôt qu'une autre. En effet, l'économie de temps réalisée grâce au nombre limité d'opération de maintenance ainsi que l'économie accomplie sur le volume de fluide nécessaire en raison des changements de fluide requis peuvent être des facteurs justificatifs pour plusieurs usines. Au niveau des concentrations de bactéries cultivables mesurées dans les fluides de coupe, l'utilisation des biocides joue un rôle important. Les concentrations mesurées dans les fluides des machines où du biocide est ajouté, sont inférieures aux concentrations des deux machines n'ayant pas eu de biocide. L'ajout de biocide permet de réduire l'aptitude de multiplication des bactéries à l'intérieur des fluides. Dans un ensemble de données aussi variables, la seule vue des graphiques permet d'arriver à une appréciation qualitative des résultats. En effet, l'examen des quatre graphiques semble indiquer que les concentrations de bactéries dans les machines avec l'ajout de biocide sont plus faibles que pour la machine de référence. Les analyses statistiques de comparaison multiple de Dunnett permettent de démontrer une diminution statistique des moyennes entre les tours 125-3 et le tour contrôle. D'un autre côté, le grand nettoyage n'a pas permis de démontrer une diminution statistique des médianes de bactéries totales cultivables. La comparaison des médianes de bactéries totales cultivables entre les deux tours ayant eu l'ajout de biocide ne démontre pas non plus de différences significatives entre l'utilisation d'un ou deux biocides. L'ajout en alternance des deux biocides, soit le Magnicide et le Grotan BK ne permettrait donc pas d'obtenir des médianes de bactéries inférieures à celles obtenues lorsqu'un seul biocide est utilisé. Une variation des concentrations de bactéries à l'intérieur des fluides de chaque machine est observée au cours du projet. Cette variation est, entre autres, attribuable aux différents traitements d'entretien qui ont dû être réalisés sur les machines afin de respecter les standards de production de l'usine et expliquerait certaines des variations observées sur les résultats des concentrations moyennes mesurées pour chaque machine comme le démontre l'ANOVA.

Au niveau de l'identification de la flore bactérienne présente dans les fluides, le tableau 6 permet de constater que la diversité bactérienne est plus grande à l'intérieur des fluides dans lesquels aucun biocide n'était ajouté. La diversité bactérienne la plus faible est observée dans les

échantillons des fluides du tour 125-4, ceux dans lesquels deux biocides ont été ajoutés en alternance durant ce projet. Bien que les concentrations mesurées ne soient pas significativement inférieures comparativement au tour 125-3, la flore bactérienne de cette machine semble avoir une diversité bactérienne plus limitée. L'utilisation en alternance des deux biocides pourrait permettre le contrôle de la croissance d'une flore bactérienne qui se retrouve lorsqu'un seul biocide est utilisé. Les résultats semblent démontrer que certains types bactériens auraient plus de difficulté à croître dans un régime d'alternance de biocides. Le changement de spectre d'action des biocides utilisés en alternance serait favorable à un meilleur contrôle de la diversité bactérienne mais pas nécessairement de la concentration moyenne. La diversité bactérienne observée varie selon les machines et le temps. Cette diversité peut être influencée par les traitements d'entretien mais également selon la compétition pour le substrat qui est rencontrée dans un tel environnement. L'évolution de la diversité microbienne dans les fluides des machines peut s'apparenter à un écosystème qui évoluerait selon les conditions et les nutriments disponibles dans l'environnement. La présence de bactéries du genre *Pseudomonas* est observée dans la très grande majorité des échantillons de fluide. Ni les nettoyages rigoureux ni l'utilisation de biocides ne semblent avoir d'effet sur la présence de ce type bactérien dans les fluides de coupe si ce n'est de réduire leurs concentrations lorsque les biocides sont utilisés. Les types bactériens rencontrés sont majoritairement des organismes saprophytes retrouvés dans l'environnement.

Ce projet voulait également vérifier si l'ajout de biocide dans les fluides pouvait produire une augmentation des concentrations d'endotoxines dans l'air ambiant. Il est à noter qu'il n'existe aucune norme sur les niveaux d'endotoxine dans l'air ambiant. Pour ce projet, six échantillons avant et six échantillons après l'ajout de biocide ont été effectués lors de l'ajout de biocide dans la machine contrôlée à la fin du projet. Les analyses statistiques permettent de démontrer que l'ajout de biocide produit une certaine augmentation des concentrations d'endotoxines présentes dans l'air ambiant entourant la machine et ce, avec un niveau de probabilité  $p < 0,05$ . Mais il faut dire que le nombre de prélèvements est limité. L'ajout de biocide pourrait provoquer la lyse cellulaire ce qui produirait une augmentation de la libération des endotoxines des membranes bactériennes. Ces endotoxines libérées se retrouveraient ainsi émises dans l'air près de la machine à la suite d'un ajout de biocide. Il est à noter toutefois que les niveaux mesurés demeurent faibles comparativement à des niveaux mesurés dans d'autres environnements. En effet, lors d'un projet dans les usines textiles, des niveaux atteignant  $5\ 000\ \text{EU}/\text{m}^3$  ont été mesurés dans certaines sections de ces usines (Marchand *et al*, 2007). Durant ce même projet, plus de 50 échantillons d'air extérieur avaient été réalisés et la moyenne obtenue de ces échantillons était de  $26\ \text{EU}/\text{m}^3$  ce qui est également supérieur à ce qui est mesuré dans les ateliers d'usinage.

Il est important de souligner que les résultats présentés dans cette étude terrain renferment certaines limitations. De par les besoins de l'étude, et afin de limiter les variations possibles lors des analyses de comparaison, un seul type de machine, un seul fluide de coupe hydrosoluble et deux biocides ont été évalués. Les résultats ne sont donc pas généralisables à l'ensemble des machines outils, des fluides de coupe ou des biocides disponibles sur le marché mais ils orientent sur la problématique de contamination bactérienne des fluides de coupe hydrosolubles. Une seconde limitation associée à cette étude est reliée au nombre limité d'échantillons tant pour la contamination bactérienne que pour les échantillons d'endotoxine de l'air prélevés pour effectuer les comparaisons. En effet, pour ce qui est des échantillons bactériens, une limitation de la

capacité du laboratoire à réaliser les analyses dans un délai raisonnable ainsi que la limitation au niveau de la durée de vie estimée des fluides de coupe avant leur remplacement ont limité le nombre d'échantillon à 26. Pour ce qui est des endotoxines, le test n'a été fait qu'à une seule reprise avec 6 échantillons avant et 6 après l'ajout de biocide. Et finalement, le choix des biocides, du fluide de coupe hydrosoluble et des séquences de traitement ne prétend pas être représentatif de tous les traitements disponibles sur le marché.

## 6. CONCLUSION

Dans le cadre de ce projet, le grand nettoyage des tours ne permet pas de réduire la concentration de bactéries contenues dans le fluide de coupe hydrosoluble lors de l'usinage. Par contre, le nombre de changements de fluide a été réduit entre la machine qui a eu un grand nettoyage comparativement à la machine contrôle. Les plus grandes réductions de la concentration de bactéries ont été obtenues dans les machines qui avaient eu un grand nettoyage et l'utilisation de biocides. Ce projet de recherche, dans les conditions qui ont été évaluées, permet de démontrer qu'un contrôle significatif de la flore bactérienne à l'intérieur des fluides de coupe passe inévitablement par l'utilisation de biocides.

Les concentrations d'endotoxines mesurées dans l'air sont demeurées assez faibles relativement à la concentration admise par l'INRS en France. Une différence a tout de même été démontrée suite à l'ajout de biocides dans le fluide contaminé. Une attention particulière devrait être apportée à cette nouvelle observation et des évaluations plus approfondies réalisées.

Puisque le nettoyage en profondeur recommandé par le producteur du fluide ne suffit pas pour contrôler les microorganismes et que les biocides qui relâchent du formaldéhyde sont reconnus comme responsables de problèmes de santé chez les travailleurs, d'autres avenues de contrôle de la flore bactérienne présentes dans les fluides de coupe devraient être envisagées et évaluées et ce, afin de réduire l'exposition des travailleurs aux contaminants microbiens contenus dans ces fluides. Un contrôle de la flore microbienne dans les fluides de coupe par filtration ou traitement à l'ozone pourrait être envisagé. Le traitement choisi devrait permettre la limitation de la création de bio-films. L'efficacité du traitement devrait être évalué avant une utilisation courante.

## 7. RÉFÉRENCES

- Baxter Diagnostic Inc., 1988a, MicroScan Dried Gram Positive Procedural Manual, Baxter Diagnostic Inc., MicroScan Division, West Sacramento, Calif.
- Baxter Diagnostic Inc., 1988b, MicroScan Dried Gram Positive Procedural Manual, Baxter Diagnostic Inc., MicroScan Division, West Sacramento, Calif.
- Bernstein, D.I., Lummus, Z. L., Santilli, G., Siskosky, J., & Bernstein, I. L., 1995, Machine Operator's Lung. A Hypersensitivity Pneumonitis Disorder Associated with Exposure to Metalworking Fluid Aerosols, *Chest*, 108: 636-641.
- Centre International de recherché sur le cancer, IARC/CIRC, Monographs Vol. 88, Formaldéhyde, 2-Butoxyethanol and 1-*tert*-Butoxypropan-2-ol, December 2006, 478 pages, ISBN 02 832 1288 6.
- Dilger, S., Fluri, A., & Sonntag, H.G., 2005, Bacterial Contamination of Preserved and Non-Preserved Metal Working Fluids, *International Journal of Environmental Health*, 208: 67-476.
- Duchaine, C., Veillette, M., Cormier, Y., Lavoie, J., Desjardins, F. & Bouzid, H., 2003, Analyse microbiologique des fluides de coupe de métaux, Étude exploratoire, Rapport de l'IRSST R-341, 34 pages.
- Foxall-VanAken, S., Brown, Jr J.A., Young, W., Salmeen, I., McClure, T., Napier, Jr. S. & Olsen, R.H., 1986, Common Components of Industrial Meta-Working Fluids as Source of Carbon for Bacterial Growth, *Applied and Environmental Microbiology*, 51: 1165-1169.
- Gorny, R.L., Szponar, B., Larsson, L., Pehrson, C., Prazmo, Z. & Dutkiewick, J., 2004, Metalworking Fluid Bioaerosols at Selected Workplaces in a Steelwork, *American Journal of Industrial Medicine*, 46: 400-403.
- Heederik, D., Brouwer, R., Biersteker, K., & Boleij, S.M., 1991, Relationship of Airborne Endotoxin and Bacteria Levels in Pig Farms with the Lung Function and Respiratory Symptoms of Farmers, *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 62 : 595-601.
- Hintze, J., 2001, NCSS: Number Cruncher Statistical Systems, Kaysville, Utah, SPLUS, Insightful Corporation, Seattle, Washington.
- Hodgson, M.J., Bracker, A., Yang, C., Storey, E., Jarvis, B.J., Milton, D., Lummus, Z., Bernstein, D., & Cole, S., 2001, Hypersensitivity Pneumonitis in a Metal-Working Environment, *American Journal of Industrial Medicine*, 39: 616-628.
- Iowa Waste Reduction Center, 2003, Cutting Fluid Management: Small Machining Operations, A Practical Pollution Prevention Guide 3<sup>rd</sup> Edition, University of Northern Iowa, 55 pages.

- IRSST, 1998a, Dénombrement et identification des bactéries et moisissures viables, Notes et rapports scientifiques et techniques, méthode No. 264-3, Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, 8 pages.
- IRSST, 1998b, Analyse des endotoxines présentes dans l'air, Notes et rapports scientifiques et techniques, méthode No. 332-1, Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, 8 pages.
- IRSST, 2005. Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail. T-06. Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, 200 pages.
- Kennedy, S.M., Greaves, I.A., Kriebel, D., Eisen, E.A., Smith, T.J. & Woskie, S.R., 1989, Acute Pulmonary Responses among Automobile Workers Exposed to Aerosols of Machining Fluids, *American Journal of Industrial Medicine*, 15: 627-641.
- Kreiss, K. & Cox-Ganser, J., 1997, Metalworking Fluid-Associated Hypersensitivity Pneumonitis: a Workshop Summary, *American Journal of Industrial Medicine*, 32: 423-432.
- Laitinen, S., Linnainmaa, M., Laitinen, J., Kiviranta, H., Reiman, M. & Liesivuori, J., 1999, Endotoxins and IgG Antibodies as Indicators of Occupational Exposure to the Microbial Contaminants of Metal-Working Fluids, *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 72: 443-450.
- Liebers, V., Brüning, T. & Raulf, H., 2006, Occupational Endotoxin-Exposure and Possible Health Effects on Humans, *American Journal of Industrial Medicine*, 49:474-491.
- Linnainmaa, M., Kiviranta, H., Laitinen, J. & Laitinen, S., 2003, Control of Workers' Exposure to Airborne Endotoxins and Formaldehyde during the Use of Metalworking Fluids, *American Industrial Hygiene Association Journal*, 64: 496-500.
- Marchand, G., Lalonde, M., Beaudet, Y., Boivin, G., Villeneuve, S. et Pépin C., 2007, Documentation of the endotoxins present in the ambient air of cotton fiber textile mills in Québec, *J. Environ. Monit.*, 9:869-873.
- Marchand, G. Barrette, M-C., Lesage, J., 2009 Identification des bactéries cultivables, méthode analytique MA-341, Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, 10 pages.
- Mattsby-Baltzer, I., Sandin, M., Ahlstrom, B., Allenmark, S., Edebo, M., Falsen, E., Pedersen, K., Rodin, N., Thompson, R.A. & Edebo, L., 1989a, Microbial Growth and Accumulation in Industrial Metal-Working Fluids, *Applied and Environmental Microbiology*, 55: 2681-2689.
- Mattsby-Baltzer, I., Edebo, L., Jarvholm, B. & Lavenius, B., 1989b, Serum Antibodies to *Pseudomonas pseudoalcaligenes* in Metal Workers Exposed to Infected Metal-Working Fluids, *International Archived of Allergy and Applied Immunology*, 88: 304-311.



- MIDI, 2005, Sherlock Microbial Identification System Version 6.0, MIS Operating Manual, NOV. 2005, 165 pages.
- NIOSH, 1998, Criteria for a recommended standard : Occupational Exposure to Metalworking Fluids, DHHS (NIOSH) Publications, 191 pages.
- Rose, C., Robins, T. & Harkaway, P., 1996, Biopsy-Confirmed Hypersensitivity Pneumonitis in Automobile Production Workers Exposed to Metalworking Fluids, Michigan 1994-1995, Morbidity and Mortality Weekly Report, 45:606-610.
- Rylander, R., Hagling, P. & Lundholm, M., 1985, Endotoxin in Cotton Dust and Respiratory Function Decrement among Cotton Workers in an Experimental Card Room, American Revues of Respiratory Diseases, 131: 209-213.
- Sabina, L.R. & Pivnick, H., 1956, Oxidation of Soluble Oil Emulsions and Emulsifiers by Pseudomonas Oleovorans and Pseudomonas Formicans, Applied. Microbiology, 4: 171-175.
- Shelton, B.G., Flanders, W.D. & Morris, G.K., 1999, *Mycobacterium sp.* as a Possible Cause of Hypersensitivity Pneumonitis in Machine Workers, Emerging Infectious Diseases, 5: 270-273.
- Smid, T., Heederik, D., Houba, R. & Quanter, P.H., 1992, Dust-and Endotoxin-Related Effects in the Animal Feed Industry, American Revue of Respiratory Diseases, 146: 1474-1479.
- Sutherland, J.W., A tutorial on Cutting Fluids in Machine, in The John W. Sutherland Research Page, en ligne <http://www.mfg.mtu.edu/testbeds/cfest/fluid.html>, page consultée le 27 mars 2007.
- Thorne, P.S. & DeKoster, J.A., 1996, Pulmonary Effects of Machining Fluids in Guinea Pigs and Mice, American Industrial Hygiene Association Journal, 57: 1168-1172.
- Veillette, M., Thorne, P.S., Gordon, T. & Duchaine, C., 2004, Six Month Follow-up of Microbial Contamination in Metalworking Fluid System after Dumping, Cleaning and Recharging. in American Thoracic Society, 98th General Meeting, Atlanta, GA, USA.
- Viet, S.M., Buchan, R., & Stallones, L., 2001, Acute Respiratory Effects and Endotoxin Exposure during Wheat Harvest in Northeastern Colorado, Applied Occupational and Environmental Hygiene, 16: 685-697.
- Wallace, Jr. R.J., Zhang, Y., Wilson, R.W., Mann, L. & Rossmore, H., 2002, Presence of a Single Genotype of the Newly Described Species *Mycobacterium Immunogenum* in Industrial Metalworking Fluids Associated with Hypersensitivity Neumonitis, Applied Environmental Microbiology, 68: 5580-5584.
- Wang, H., Reponen, T., Lee, S.A., White, E. & Grinshpun, S.A., 2007, Size Distribution of Airborne Mist and Endotoxin-Containing Particles in Metalworking Fluid Environments, Journal of Occupational and Environmental Hygiene, 4: 157-165.

Webster, A.R., Lee J. & Deiningner, R.A., 2005, Rapid Assessment of Microbial Hazards in Metalworking Fluids, *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 2: 213-218.