

**Microorganismes dans les fontaines  
biologiques de dégraissage**  
Évaluation de l'exposition professionnelle  
dans les ateliers d'entretien mécanique

Carol-Anne Villeneuve  
Geneviève Marchand  
Marie Gardette  
Jacques Lavoie  
Denis Bégin  
Maximilien Debia

RAPPORTS  
SCIENTIFIQUES

R-992

## NOS RECHERCHES travaillent pour vous !

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

### **Mission**

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

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

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

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

### **Pour en savoir plus**

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

### **Dépôt légal**

Bibliothèque et Archives nationales du Québec  
2017  
ISBN : 978-2-89631-972-5  
ISSN : 0820-8395

IRSST - Direction des communications  
et de la valorisation de la recherche  
505, boul. De Maisonneuve Ouest  
Montréal (Québec)  
H3A 3C2  
Téléphone : 514 288-1551  
[publications@irsst.qc.ca](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,  
décembre 2017

# Microorganismes dans les fontaines biologiques de dégraissage

## Évaluation de l'exposition professionnelle dans les ateliers d'entretien mécanique

Carol-Anne Villeneuve<sup>1</sup>, Geneviève Marchand<sup>2</sup>, Marie Gardette<sup>1</sup>, Jacques Lavoie<sup>2</sup>, Denis Bégin<sup>1</sup> et Maximilien Debia<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Département de santé environnementale et santé au travail, Université de Montréal

<sup>2</sup> IRSST

RAPPORTS  
SCIENTIFIQUES

R-992



### Avis de non-responsabilité

L'IRSST ne donne aucune garantie relative à l'exactitude, la fiabilité ou le caractère exhaustif de l'information contenue dans ce document.

En aucun cas l'IRSST ne saurait être tenu responsable pour tout dommage corporel, moral ou matériel résultant de l'utilisation de cette information.

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

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



#### ÉVALUATION PAR DES PAIRS

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

## REMERCIEMENTS

Les auteurs de ce rapport désirent remercier les diverses personnes et organismes qui les ont aidés directement ou indirectement dans la réalisation de cette étude, notamment :

- Le personnel des cinq entreprises participantes;
- Mme Michaela Skulinova, Mme Ève Neesham-Grenon et M. Étienne Dubé, agents de recherche à l'Université de Montréal pour leur travail durant cette activité de recherche;
- M. Simon Lévesque du Laboratoire de santé publique du Québec;
- Les membres du comité de suivi<sup>1</sup>, soit :
  - Mme Delphée Bédard, conseillère santé, sécurité et environnement chez Bombardier aéronautique;
  - Mme Linda Berchiche, conseillère en prévention-inspection à la Commission des normes, de l'équité, de la santé et de la sécurité du travail (CNESST);
  - Mme Marie-France d'Amours, conseillère en valorisation de la recherche à l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) et coordonnatrice du comité;
  - Mme Éline Guénette, conseillère en prévention à l'Association paritaire pour la santé et la sécurité du travail, secteur « affaires municipales »;
  - Mme Martine Charette, conseillère en prévention chez Auto Prévention;
  - Mme Isabelle Ménard, conseillère syndicale – environnement à la Confédération des syndicats nationaux (CSN);
  - M. Charbel Mouawad, hygiéniste industriel et ergonomiste à l'Association sectorielle Fabrication d'équipement de transport et de machines;
  - M. Éric Ouellet, vice-président santé sécurité au Réseau de transport de Longueuil, syndicat CSN.

---

<sup>1</sup> Rôle du comité de suivi : [www.irsst.qc.ca/recherche-sst/transfert-connaissances](http://www.irsst.qc.ca/recherche-sst/transfert-connaissances)



## SOMMAIRE

Les fontaines biologiques appelées fontaines de biodégradation ou simplement biofontaines contiennent des dégraissants qui renferment des bactéries dont la tâche est de dégrader, par minéralisation, les salissures hydrocarbonées (huiles et graisses). Les fabricants de dégraissants pour biofontaines affirment que les microorganismes utilisés dans leurs préparations sont inoffensifs puisqu'ils se classent dans le groupe de risque 1; ils se réfèrent alors à la classification des microorganismes en quatre groupes de risque infectieux. Cependant, des auteurs ont identifié plusieurs bactéries du groupe 2 (risque infectieux modéré pour la personne, mais faible pour la communauté) dans les liquides des biofontaines, par exemple *Pseudomonas aeruginosa*. Aucune donnée métrologique n'était toutefois disponible pour évaluer le risque d'exposition par inhalation des travailleurs. Cette recherche visait à combler cette absence de données.

Cinq biofontaines ont fait l'objet d'une surveillance durant un an. Tous les deux mois, des prélèvements de bioaérosols y ont été effectués en utilisant des impacteurs à un étage de marque Andersen et des cassettes en polystyrène à trois sections. Des échantillons de 50 mL de liquide dégraissant ont été prélevés dans un tube stérile à partir des biofontaines. De plus, lors de la première visite, un échantillon de 50 mL de liquide vierge, qui n'a jamais été utilisé, a été prélevé directement du contenant de dégraissant pour chacune des biofontaines. Les différents prélèvements ont servi au dénombrement des bactéries cultivables et à leur identification, soit directement par incubation des géloses provenant des impacteurs Andersen, soit par l'étalement de 200 µL de l'extrait provenant du filtre de polycarbonate ou des échantillons de liquide. Différentes méthodes ont été utilisées pour l'identification bactérienne : coloration différentielle de Gram, épreuve catalase, test d'oxydase, plaques d'identification Microscan, analyse du profil en acides gras et analyses au spectromètre de masse.

Le suivi annuel des liquides des cinq biofontaines a permis de mesurer des concentrations de microorganismes cultivables variant de  $3,6 \times 10^4$  à  $2,6 \times 10^7$  UFC/mL. Soixante espèces bactériennes y ont été identifiées. Ces espèces appartiennent aux groupes de risque 1 et 2; la présence de bactéries à Gram positif et négatif a aussi été notée. Plusieurs genres bactériens ont été dépistés dont *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Burkholderia*, *Staphylococcus* et *Stenotrophomonas*. En revanche, dans les liquides inutilisés des cinq biofontaines, seule l'espèce *Bacillus subtilis* a été détectée. Les biofontaines sont donc rapidement colonisées par différents microorganismes exogènes comme *Pseudomonas aeruginosa*. Le danger d'un contact cutané est principalement lié à l'infection de plaies ou encore à l'ingestion involontaire, par exemple, en portant sa main à la bouche ou en portant à la bouche des objets contaminés. Des mesures d'hygiène individuelle rigoureuses, dont le lavage des mains avant et après l'utilisation des biofontaines, ainsi que le port de gants sont donc nécessaires.

Cette étude a établi que les travailleurs utilisant une biofontaine étaient très faiblement exposés aux bioaérosols. Alors que les niveaux d'intervention recommandés pour une exposition professionnelle aux bioaérosols sont de l'ordre de  $10^4$  UFC/m<sup>3</sup>, les concentrations moyennes ambiantes mesurées durant cette étude étaient toutes inférieures à 480 UFC/m<sup>3</sup>. En outre, l'utilisation d'une soufflette pour sécher les pièces dégraissées dans les biofontaines ne fait pas augmenter de façon appréciable l'exposition des travailleurs aux microorganismes cultivables. Aucune protection respiratoire n'est donc recommandée lors de l'utilisation des biofontaines.



## TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS .....	i
SOMMAIRE .....	iii
TABLE DES MATIÈRES .....	v
LISTE DES TABLEAUX .....	vii
LISTE DES FIGURES .....	ix
LISTE DES ACRONYMES, SIGLES ET ABRÉVIATIONS .....	xi
1. INTRODUCTION .....	1
1.1 Mise en contexte.....	1
1.2 Problématique reliée aux microorganismes .....	1
1.3 État des connaissances .....	2
1.4 Descriptif de certaines des bactéries identifiées dans les études européennes .....	2
2. OBJECTIFS DE RECHERCHE .....	5
3. MÉTHODOLOGIE.....	7
3.1 Milieux d'étude.....	7
3.2 Prélèvements du dégraissant vierge et usé, et récupération d'un filtre d'inoculation.....	7
3.3 Prélèvements des bioaérosols .....	8
3.4 Identification des microorganismes .....	9
3.5 Concentration et granulométrie des particules fluorescentes et non fluorescentes .....	9
3.6 Analyse des données.....	10
4. RÉSULTATS.....	11
4.1 Conditions d'utilisation des biofontaines.....	11
4.2 Flore bactérienne cultivable dans les liquides des biofontaines .....	12
4.3 Flore bactérienne cultivable présente dans l'air ambiant.....	16
4.4 Comparaison de la flore bactérienne cultivable retrouvée dans l'air avec celle des liquides des biofontaines .....	19
4.5 Aérosols fluorescents et non fluorescents mesurés par l'UV-APS.....	21
5. DISCUSSION .....	27
5.1 Composition des liquides en microorganismes cultivables .....	27

5.2	Microorganismes cultivables trouvés dans l'air à proximité des biofontaines et dans la zone respiratoire des travailleurs .....	28
5.3	Fonctionnement des biofontaines .....	29
5.4	Mesures de prévention .....	30
5.5	Limites de cette étude.....	30
6.	CONCLUSION.....	33
	BIBLIOGRAPHIE .....	35
ANNEXE A :	PROPORTION DES MICROORGANISMES TROUVÉS DANS LES ÉCHANTILLONS D'AIR RÉCOLTÉS PAR L'IMPACTEUR ANDERSEN AVANT ET PENDANT L'UTILISATION DES BIOFONTAINES 1, 2, 3 ET 4...39	
ANNEXE B :	CONCENTRATIONS PARTICULAIRES MESURÉES AVEC L'UV-APS .....	43
ANNEXE C :	CONCENTRATIONS DES PARTICULES FLUORESCENTES ET NON FLUORESCENTES MESURÉES DURANT L'UTILISATION DES BIOFONTAINES.....	45

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 :	Conditions d'échantillonnage des différents appareils utilisés .....	8
Tableau 2 :	Information concernant les différentes conditions d'utilisation des biofontaines échantillonnées .....	11
Tableau 3 :	Concentrations moyennes (UFC/mL) des bactéries et levures <sup>1</sup> cultivables présentes dans le liquide des biofontaines et du liquide vierge .....	12
Tableau 4 :	Groupe de risque infectieux* des 60 espèces bactériennes cultivables trouvées dans le liquide des 5 biofontaines.....	14
Tableau 5 :	Indices de Morisita-Horn calculés sur la flore bactérienne cultivable présente dans les liquides des biofontaines .....	15
Tableau 6 :	Concentrations moyennes de bactéries et de levures présentes dans l'air (UFC/m <sup>3</sup> ) avec l'impacteur Andersen (n = 5/visite) <sup>1</sup> et les cassettes munies d'un filtre de polycarbonate (n = 2/visite).....	17
Tableau 7 :	Indices de Morisita-Horn calculés à partir de la flore bactérienne cultivable présente avant et pendant l'utilisation de la biofontaine .....	19
Tableau 8 :	Comparaison des bactéries et des levures représentant plus de 2 % des colonies identifiées dans l'air avant et durant l'utilisation et dans les liquides vierges et usagés.....	20
Tableau 9 :	Indices de Morisita-Horn calculés sur la flore bactérienne cultivable présente dans les liquides des biofontaines et celle de l'air prise durant l'utilisation .....	21
Tableau 10 :	Résumé des concentrations particulières mesurées par l'UV-APS .....	22



## LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	Biofontaines et instruments de mesure. ....	7
Figure 2 :	Proportion des microorganismes cultivables trouvés dans les échantillons de liquide pour chacune des 30 visites.....	13
Figure 3 :	Proportion des microorganismes cultivables trouvés dans les échantillons d'air prélevés avec l'impacteur Andersen avant et pendant l'utilisation de la biofontaine B5.....	18
Figure 4 :	Identification des pics de concentration des particules fluorescentes et non fluorescentes mesurés durant l'utilisation des biofontaines B1 première visite (A), B2 première visite (B), B4 première visite (C) et B5 première visite (D). ....	24
Figure 5 :	Profils granulométriques des concentrations des particules fluorescentes et non fluorescentes mesurés durant l'utilisation des biofontaines B1 première visite (A-B) et B5 cinquième visite (C-D). ....	26



## LISTE DES ACRONYMES, SIGLES ET ABRÉVIATIONS

$\bar{x}$  : moyenne

$\sigma$  : écart type

# : nombre de particules

ADN : acide désoxyribonucléique

ARNr : acide ribonucléique ribosomique

FDS : fiche de données de sécurité

log : logarithme décimal

MAC : gélose MacConkey

p : seuil de signification

pH : potentiel hydrogène

sp : espèce

TSA : trypticase soy agar

UFC : unité formant colonie

UV-APS : ultraviolet aerodynamic particle sizer



## 1. INTRODUCTION

### 1.1 Mise en contexte

La toxicité notoire de nombreux solvants organiques est bien établie (Bruckner, Anand et Warren, 2013). De plus, leur inflammabilité, l'explosibilité de leur vapeur et leur utilisation en espace confiné peuvent causer des accidents mortels (Beaudette et Marquis, 2014-05-08; Chester et Rosenman, 2012). Plus de 300 000 travailleurs québécois sont exposés souvent ou continuellement à des vapeurs de solvants organiques dans le cadre de leur emploi (Vézina *et al.*, 2011). Les entreprises sont donc justifiées de les remplacer par des produits ou des procédés moins dangereux.

L'un des secteurs importants d'utilisation des solvants est celui de l'entretien mécanique où ils sont employés notamment pour le dégraissage de pièces métalliques (Guillemin et Lupin, 2008). Des préparations aqueuses sont également utilisées depuis longtemps pour le même type de dégraissage (Spring, 1974). À l'origine, ces produits étaient tous fortement basiques, donc corrosifs. Par contre, l'innovation dans le domaine de la chimie des tensioactifs a fait en sorte qu'il existe depuis plusieurs années des dégraissants aqueux légèrement basiques qui sont aussi performants. Depuis les années 1990, des dégraissants renfermant des bactéries dont la tâche est de dégrader par minéralisation les salissures hydrocarbonées (huiles et graisses) sont aussi offerts sur le marché. Le secteur de l'entretien mécanique recourt maintenant à ce type de dégraissant aqueux biotechnologique, qui est mis en œuvre dans des fontaines de dégraissage biologique appelées fontaines de biodégradation ou simplement biofontaines (Bégin, Gérin et Lavoie, 2014a).

### 1.2 Problématique reliée aux microorganismes

Les fabricants de dégraissants pour biofontaines affirment que les microorganismes utilisés dans leurs préparations sont inoffensifs puisqu'ils se classent dans le groupe de risque infectieux de niveau 1 de la classification des microorganismes, qui compte quatre groupes de risque et qui est utilisée dans la plupart des pays (McNally, 2011). Selon l'Agence de la santé publique du Canada, les microorganismes du groupe de risque 1 comportent un risque infectieux faible pour la personne et la communauté (ASPC, 2015).

Cependant, sous certaines conditions, plusieurs microorganismes du groupe 1 peuvent également présenter des risques, autres qu'infectieux, pour la santé des travailleurs exposés. Les endotoxines sont associées à des problèmes respiratoires chez les travailleurs exposés (Rylander, 2006). La prolifération de bactéries à Gram négatif augmente la possibilité de trouver cette substance dans l'air ambiant du milieu de travail (Marchand, 1996a). Bien que les agents étiologiques ne soient pas identifiés, l'exposition à une charge bactérienne élevée est aussi associée à des problèmes respiratoires de type non allergique tel que le syndrome des poussières organiques et la pneumonite d'hypersensibilité (Douwes, Thorne, Pearce et Heederik, 2003).

### 1.3 État des connaissances

David *et al.* ont étudié la flore bactérienne des liquides dégraissants utilisés dans sept biofontaines en France (David, Boucher, Duquenne et Brugnot, 2009). En plus des bactéries du groupe de risque 1, ces auteurs ont identifié plusieurs bactéries du groupe de risque 2, par exemple *Pseudomonas aeruginosa* (ASPC, 2012) et *Klebsiella pneumoniae* (ASPC, 2011). Ces microorganismes du groupe 2 comportent un risque infectieux modéré pour la personne, mais faible pour la communauté (ASPC, 2015). La contamination des dégraissants des biofontaines proviendrait de l'environnement et des utilisateurs (David *et al.*, 2009). En outre, David *et al.* (2009) et Boucher *et al.* (2011) ont observé, dans les biofontaines françaises, des variations temporelles importantes de la composition bactérienne d'une marque à l'autre, d'une biofontaine à l'autre et dans une même biofontaine. Les chercheurs français ont rapporté une concentration moyenne de bactéries cultivables de  $3,4 \times 10^5$  UFC/mL dans les dégraissants des biofontaines (David *et al.*, 2009). Ils émettent l'hypothèse que les travailleurs utilisant les biofontaines pourraient être exposés à des aérosols générés à partir du pinceau avec lequel le travailleur applique le produit sur la pièce à dégraisser. De plus, ils ont observé que plusieurs travailleurs ne portaient pas de gants protecteurs (Boucher *et al.*, 2011). L'étude française ne comporte cependant aucune mesure des bioaérosols.

Dans le cadre d'une formation en ingénierie de l'environnement à l'École polytechnique fédérale de Lausanne, Bodin et Larivé (2013) ont visité cinq entreprises suisses utilisant des biofontaines. Les auteures rapportent la présence de bioaérosols cultivables provenant des dégraissants de biofontaines de quatre des cinq entreprises. Ces bioaérosols contenaient des microorganismes d'origine et d'autres ayant contaminé les biofontaines.

Bégin *et al.* (2014a) ont visité quatre entreprises québécoises où ils ont observé l'utilisation de soufflettes pour l'assèchement de pièces préalablement dégraissées dans des biofontaines. Ils émettent l'hypothèse que cette technique pourrait entraîner la présence de bioaérosols dans la zone respiratoire des travailleurs.

### 1.4 Descriptif de certaines des bactéries identifiées dans les études européennes

Les bactéries du genre *Bacillus* colonisent divers habitats en raison de leur capacité à s'adapter à des températures et à des niveaux de pH et de salinité variables (Holt, Krieg, Sneath, Staley et Williams, 1994). Quelques espèces sont pathogènes et peuvent produire des toxines extracellulaires, mais la majorité d'entre elles sont inoffensives (Holt *et al.*, 1994).

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont repérées dans une variété d'habitats et certaines espèces sont pathogènes pour l'humain (Holt *et al.*, 1994). Par exemple, une exposition prolongée à une eau contaminée par *Pseudomonas aeruginosa* ( $> 10^6$  UFC/mL) peut provoquer différentes infections de la peau (folliculite, dermatite ou otite externe) (Pitt et Simpson, 2006). *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie opportuniste qui peut causer l'infection d'une peau intacte (Agger et Mardan, 1995).

*Stenotrophomonas maltophilia*, incluse dans la famille des *Pseudomonadaceae*, est ubiquiste et elle peut causer diverses maladies (Bartelt, 2000). Toutefois, la majorité des infections sont nosocomiales et atteignent des patients immunodéprimés (Bartelt, 2000).

Bien que *Citrobacter* fasse partie de la flore intestinale normale de l'homme, certaines espèces peuvent contaminer le sol, l'eau et les aliments (Holt *et al.*, 1994). Certaines espèces sont des pathogènes opportunistes. Par exemple, *Citrobacter amalonaticus* qui peut potentiellement causer des gastroentérites (Lipsky, Hook III, Smith et Plorde, 1980).

La majorité des bactéries du genre *Staphylococcus* font partie de la flore naturelle de la peau et certaines espèces peuvent se trouver dans les aliments, la poussière et l'eau (Holt *et al.*, 1994). Quelques espèces sont des pathogènes opportunistes qui peuvent causer des infections chez les individus prédisposés (p. ex., présence d'une brûlure ou de plaies) (Bartelt, 2000).

Les bactéries du genre *Klebsiella* se retrouvent dans les excréments humains, le sol, l'eau, les grains, les fruits et les légumes (Holt *et al.*, 1994). Certaines espèces, telles que *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca*, sont des pathogènes opportunistes pouvant causer des infections nosocomiales (Holt *et al.*, 1994).

Les infections liées aux bactéries du genre *Providencia* sont peu communes. Cependant, certaines espèces peuvent causer des infections nosocomiales (Ovchinnikova, Rozalski, Liu et Knirel, 2013).

Les bactéries du genre *Enterococcus* sont retrouvées dans une grande variété d'environnement, généralement dans les excréments de vertébrés (Holt *et al.*, 1994). En effet, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont des espèces commensales communes dans les intestins humains (Gilmore, Coburn, Nallapareddy et Murray, 2002).



## 2. OBJECTIFS DE RECHERCHE

Cette recherche visait à combler l'absence de données métrologiques concernant l'exposition professionnelle par la voie respiratoire aux bioaérosols de dégraissants potentiellement générés lors de l'utilisation de biofontaines. Les objectifs des travaux étaient les suivants :

- 1- Identifier les bactéries cultivables contenues dans les dégraissants vierges de biofontaines ainsi que dans ces mêmes dégraissants en cours d'utilisation;
- 2- Mesurer les concentrations des bioaérosols et identifier les bactéries cultivables présentes dans l'air à proximité de biofontaines en utilisation;
- 3- Caractériser en temps réel et déterminer la granulométrie des particules biologiques avec l'aide d'un granulomètre aérodynamique à fluorescence (UV-APS);
- 4- Émettre des recommandations relatives à l'utilisation des biofontaines.



### 3. MÉTHODOLOGIE

#### 3.1 Milieux d'étude

Les entreprises participantes ont été choisies en collaboration avec le comité de suivi (voir la section des Remerciements) et par l'intermédiaire des contacts établis dans le cadre d'une activité de recherche précédente (Bégin *et al.*, 2014a). Quatre entreprises ont accepté de participer à cette activité de recherche : un fabricant d'aéronefs (B1), une entreprise de télécommunications (B2), une société de transport public (B3 et B4) et un fabricant de véhicules récréatifs (B5). Les codes alphanumériques entre parenthèses identifient les cinq biofontaines étudiées.

#### 3.2 Prélèvements du dégraissant vierge et usé, et récupération d'un filtre d'inoculation

À chaque visite à la fin de la période de nettoyage, un échantillon de 50 mL de liquide dégraissant a été prélevé dans la biofontaine à l'aide d'un tube stérile. Immédiatement après la collecte du liquide de la biofontaine, la température a été relevée à l'aide d'un thermomètre infrarouge (Fluke, Everett, WA) et le pH a été mesuré à l'aide de bandelettes Whatman trempées directement dans le liquide (Fisher Scientific, Waltham, MA). De plus, lors de la première visite, un échantillon de 50 mL du liquide vierge a été prélevé directement du contenant de dégraissant pour chacune des biofontaines afin d'obtenir la charge bactérienne du produit vierge.

Pour l'entreprise B2 utilisant la technologie de marque B qui recourt à un filtre qui transmet les bactéries dans le liquide dégraissant, un seul échantillon de filtre neuf a été obtenu et analysé.

La figure 1 illustre les deux modèles de biofontaines (marques A et B; voir tableau 2 à la section 4) entourés des instruments de mesure (impacteurs Andersen à gauche et UV-APS à droite) utilisés à chacune des séances d'échantillonnage. Pour plus d'information sur le fonctionnement et la description des biofontaines, les auteurs suggèrent de se référer au document de Bégin *et al.* (2014a).



Figure 1 : Biofontaines et instruments de mesure.

### 3.3 Prélèvements des bioaérosols

Les bioaérosols ont été prélevés en utilisant deux techniques d'échantillonnage:

- Impacteurs à un étage de marque Andersen dans la version N6 (Thermo Fisher Scientific, Franklin, MA). Deux milieux collecteurs différents ont été utilisés simultanément, soit la gélose TSA (Trypticase soy agar, Oxoid, Ottawa), un milieu de culture général pour les bactéries cultivables hétérotrophes et la gélose MacConkey #3 contenant un colorant de triphénylméthane (MAC) (Oxoid, Ottawa), un milieu de croissance sélectif permettant de récolter les bactéries cultivables à Gram négatif. Les impacteurs fonctionnaient avec des pompes Gast 1531 (Gast, Benton Harbor, MI) calibrées à 28 L/min, selon les recommandations du manufacturier, à l'aide du débitmètre de masse 4043 de TSI (Shoreview, MN). Les performances analytiques sont rapportées dans la méthode standard IRSST MA-264 (Marchand, 2009).
- Cassettes en polystyrène à trois sections (SKC, Eighty Four, PA) avec filtre de polycarbonate de diamètre 37 mm et de porosité 0,8 µm selon la méthode IRSST MA-368. Les cassettes étaient reliées à des pompes GilAir 5 (Sensidyne, St. Petersburg, FL) calibrées à 2 L/min à l'aide d'un débitmètre volumétrique Defender 510 (Mesa Labs, Butler, NJ). Les performances analytiques ont été rapportées dans le rapport de recherche IRSST R-125 ainsi que dans la méthode standard IRSST MA-368 (Marchand, 1996b, 2011).

La limite de détection de chaque méthode, le débit de fonctionnement, les durées d'échantillonnage ainsi que le nombre d'échantillons par intervention sont présentés dans le tableau 1.

La période d'échantillonnage s'est déroulée sur une année avec des prélèvements bimensuels pour chacune des cinq biofontaines, pour un total de 30 visites. Cette stratégie est similaire à celle présentée par David *et al.* (2011) et par Boucher *et al.* (2009).

**Tableau 1 : Conditions d'échantillonnage des différents appareils utilisés**

Appareil	Débit (L/min)	Limite de détection (UFC/m <sup>3</sup> d'air)	Durée d'échantillonnage (minute)	Nombre d'échantillons
Impacteur Andersen (TSA + MAC)	28	7	5	5 + 5
Cassette	2	420	30	2

Durant les journées de prélèvement, le travailleur nettoyait différentes pièces souillées à l'aide de la biofontaine. À chaque visite, les prélèvements ont été effectués sur une période d'environ 30 minutes, comprenant le désassemblage, le nettoyage et le séchage des pièces.

Les travailleurs portaient deux cassettes d'échantillonnage dans leur zone respiratoire. Les impacteurs étaient installés en poste fixe sur un chariot placé à proximité des biofontaines.

À chacune des visites, les informations suivantes étaient obtenues auprès des travailleurs ou des responsables hiérarchiques : le modèle de biofontaine utilisé ainsi que son entretien, les problèmes particuliers depuis la dernière visite, la nature des salissures et des pièces nettoyées, et l'utilisation de la protection personnelle.

Des prélèvements visant à établir le bruit de fond ont été effectués à chaque visite avant l'utilisation de la biofontaine à l'aide des impacteurs Andersen et de l'UV-APS.

### **3.4 Identification des microorganismes**

Les différents prélèvements ont servi au dénombrement des bactéries et à leur identification, soit directement par incubation des géloses provenant des impacteurs Andersen, soit par l'étalement de 200 µL de l'extrait provenant du filtre de polycarbonate ou de l'échantillon du liquide dégraissant (36). Les milieux de culture ont été incubés durant 24 h à 37 °C.

Les méthodes suivantes ont été utilisées pour l'identification bactérienne : montage humide, coloration différentielle de Gram, épreuve catalase, test d'oxydase, plaques d'identification Microscan et analyse du profil en acides gras pour l'ensemble des souches isolées en culture pure (35). Pour certaines souches pour lesquels des difficultés ont été rencontrées à l'identification, le spectromètre de masse MALDI-TOF<sup>2</sup> (32) (VITEK® MS, bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) et/ou le séquençage du 16S ont été utilisés. Les séquençages du fragment 16S ont été effectués en utilisant les amorces 27F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') et 1492R (5' TACGGYTACCTTGTACGACTT 3') par le Centre d'innovation Génome Québec de l'université McGill. Les séquences consensus obtenues ont été comparées au Ribosomal Database Project (RDP) afin d'obtenir l'identification des souches problématiques (ASPC, 2011).

La réglementation allemande sur les bactéries (Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe, 2015), comprenant un plus grand nombre d'espèces que son équivalent canadien (Gouvernement du Canada, 2013), a été utilisée afin d'associer les bactéries identifiées à leur groupe de risque infectieux respectif.

### **3.5 Concentration et granulométrie des particules fluorescentes et non fluorescentes**

Les concentrations et le diamètre aérodynamique des aérosols émis lors de l'utilisation des biofontaines ont été mesurés en temps réel, en poste fixe, à l'aide d'un granulomètre aérodynamique à fluorescence UV (UV-APS Modèle 3314, TSI, Shoreview, MN). Ce spectromètre utilise une longueur d'onde d'excitation de 355 nm et mesure la fluorescence ultraviolette entre 420 et 575 nm (TSI, 2010). Cette longueur d'onde est considérée comme propre aux microorganismes. L'UV-APS permet à l'utilisateur de distinguer la fraction biologique associée à la fluorescence de celle qui est non biologique. L'appareil établit la granulométrie d'un aérosol en temps réel pour les particules dont le diamètre aérodynamique se situe entre

---

<sup>2</sup> Matrix-assisted laser desorption ionization – time of flight mass spectrometer = spectromètre de masse par désorption-ionisation par impact laser assistée par matrice avec analyseur par temps de vol.

0,5 et 15  $\mu\text{m}$ . Cette large gamme de diamètres permet de considérer les particules susceptibles de se déposer dans les différentes régions pulmonaires (Lavoie *et al.*, 2015). Les données obtenues à l'aide de l'UV-APS sont des nombres de particules par  $\text{cm}^3$  d'air ( $\#/\text{cm}^3$ ), intégrées sur une minute. La durée de mesurage pour chaque intervention se situait entre 40 et 70 minutes.

### **3.6 Analyse des données**

Des analyses de variances ont été effectuées entre les valeurs log-transformées des concentrations de bactéries et de levures cultivables présentes dans l'air des différentes biofontaines durant l'utilisation et entre les valeurs log-transformées des concentrations avant et durant l'utilisation.

Des indices de similarité de Morisita-Horn ont été calculés afin d'estimer la similarité entre les flores bactériennes des échantillons. Ces indices sont calculés à partir des espèces de la flore bactérienne cultivable isolée des échantillons de liquide et d'air. L'indice de Morisita-Horn varie entre 0 et 1. Un résultat égal à 1 signifie une grande ressemblance entre les populations comparées, toutefois, plus l'indice se rapproche de zéro plus les populations comparées possèdent une biodiversité qui est divergente (Horn, 1966; Morisita, 1962).

Les analyses ont été faites à l'aide des logiciels EstimateS (Cowell, 2013) et NCSS (Hintze, 2013).

## 4. RÉSULTATS

### 4.1 Conditions d'utilisation des biofontaines

Le tableau 2 présente l'ensemble des conditions d'utilisation des cinq biofontaines à l'étude ainsi que les dates d'échantillonnage. Les entreprises devaient nettoyer des pièces en métal et en plastique (p. ex. : boulons, écrous, outils, roulements) souillées principalement par des huiles et des graisses lubrifiantes. La fréquence d'utilisation des biofontaines variait de quelques fois par mois à plusieurs fois par jour. Les températures enregistrées dans les liquides dégraissants variaient entre 30,6 et 40,8 °C, alors que les pH se situaient entre 7,3 et 8,5. Les travailleurs portaient des gants lors de nos interventions ainsi que des lunettes de protection.

**Tableau 2 : Information concernant les différentes conditions d'utilisation des biofontaines échantillonnées**

Biofontaine (Système de dégraissage)	Fréquence d'utilisation	Salissure	Type de matériaux nettoyés	Utilisation de la soufflette	pH moyen	Température moyenne (°C) (min-max)	Date d'échantillonnage
B1 (marque A)	Plusieurs fois/jour	Huile hydraulique, huile minérale légère, fluide de coupe, graisse extrême pression, graisse à roulement, lubrifiant au disulfure de molybdène (MoS <sub>2</sub> )	Acier doux, aluminium	Oui, à l'occasion	7,5	36,4 (34,6 - 37,4)	2015 : mai, juillet, septembre, novembre 2016 : janvier, mars
B2 (marque B)	Quelques fois/semaine	Huiles à moteur/transmission, graisse à roulement	Acier trempé, plastique	Non	8,0	35,5 (30,6 - 37,4)	2015 : juin, juillet, août, novembre 2016 : janvier, mars
B3 (marque A)	Plusieurs fois/jour	Graisse à roulement et extrême pression, huiles à moteur et hydraulique, fluide de coupe, huile synthétique, cambouis	Acier doux, acier inoxydable, aluminium, cuivre, laiton	Non	7,6	37,6 (35,6 - 38,8)	2015 : juillet, septembre, novembre 2016 : janvier, mars, avril
B4 (marque A)	Quelques fois/mois	Diesel, huile à moteur, huile pour transmission, huile synthétique, graisse extrême pression, lubrifiant au MoS <sub>2</sub> , graisse à roulement, cambouis	Acier inoxydable, cuivre, acier doux, laiton	Non	7,5	37,3 (35,4 - 40,8)	2015 : juillet, novembre, décembre 2016 : février, mars, mai
B5 (marque A)	Plusieurs fois/jour	Graisse à roulement, graisse extrême pression, huile minérale légère, huile pour outils pneumatiques	Aluminium, acier doux, laiton, plastique	Oui	7,3	38,1 (37,0 - 39,2)	2015 : juillet, septembre, novembre 2016 : janvier, mars, mai

## 4.2 Flore bactérienne cultivable dans les liquides des biofontaines

Le tableau 3 présente les concentrations moyennes de bactéries et de levures provenant des échantillons de liquide issus des biofontaines à la fin de la période d'échantillonnage ainsi que leur concentration dans le liquide vierge. Les concentrations moyennes de microorganismes variaient de  $2,7 \times 10^5$  à  $5,3 \times 10^6$  UFC/mL. Dans le liquide dégraissant vierge, elles variaient de  $1,4 \times 10^5$  à  $2 \times 10^7$  UFC/mL. Dans chaque biofontaine en utilisation, à l'exception de la B2, les concentrations moyennes de microorganismes étaient plus élevées que celles mesurées dans le liquide vierge.

**Tableau 3 : Concentrations moyennes (UFC/mL) des bactéries et levures<sup>1</sup> cultivables présentes dans le liquide des biofontaines et du liquide vierge**

Biofontaine	Moyenne (UFC/mL) (n=6) (min ; max)	Liquide vierge (UFC/mL) (n=1)
B1	$1,2 \times 10^6$ ( $1,2 \times 10^5$ ; $3,3 \times 10^6$ )	$5,7 \times 10^5$
B2	$5,3 \times 10^6$ ( $2,7 \times 10^5$ ; $2,6 \times 10^7$ )	$2,0 \times 10^7$
B3	$2,7 \times 10^5$ ( $3,6 \times 10^4$ ; $8,3 \times 10^5$ )	$1,4 \times 10^5$
B4	$2,9 \times 10^6$ ( $4,7 \times 10^4$ ; $1,5 \times 10^7$ )	$1,4 \times 10^5$
B5	$8,2 \times 10^5$ ( $4,4 \times 10^4$ ; $2,1 \times 10^6$ )	$8,1 \times 10^5$

<sup>1</sup>Les concentrations de levures cultivables rapportées sont à titre indicatif seulement puisque le TSA n'est pas le milieu d'usage pour en faire une analyse quantitative adéquate par culture.

La figure 2 détaille les proportions des microorganismes cultivables détectés dans les liquides en fonction des interventions. La diversité bactérienne dans les liquides variait entre les biofontaines et pour une même biofontaine entre les interventions. Malgré que *Bacillus* se trouve systématiquement dans le liquide vierge, il n'est retrouvé que dans 15 des 30 liquides de biofontaines en utilisation. Pour sa part, le genre *Pseudomonas* a aussi été retracé dans 18 des 30 liquides testés. De plus, le nombre de jours séparant les visites et les nettoyages des différentes biofontaines sont indiqués à droite de la figure 2.



La méthode d'analyse utilisée pour les visites 1 des BF1 et BF2 ne permettait pas de faire une quantification  
Inc : inconnu

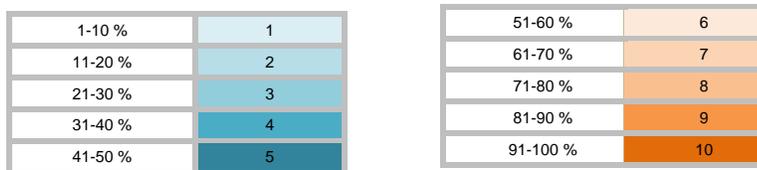


Figure 2 : Proportion des microorganismes cultivables trouvés dans les échantillons de liquide pour chacune des 30 visites.

Le tableau 4 présente les espèces bactériennes identifiées dans le liquide des biofontaines à la suite de leur purification sur gélose TSA. Soixante souches d'espèces ou de genres bactériens distincts ont été identifiés incluant 37 bactéries gram-positives et 23 bactéries gram-négatives, dont vingt-trois espèces bactériennes appartenaient au groupe de risque infectieux 2.

**Tableau 4 : Groupe de risque infectieux\* des 60 espèces bactériennes cultivables trouvées dans le liquide des 5 biofontaines**

Espèce	Groupe	Gram	Espèce	Groupe	Gram
<i>Acidovorax delafieldii</i>	1	-	<i>Bacillus pumilus</i>	1	+
<i>Pseudomonas balearica</i>	1	-	<i>Bacillus silvestris</i>	1	+
<i>Pseudomonas boreopolis</i>	1	-	<i>Bacillus simplex</i>	1	+
<i>Pseudomonas oleovorans</i>	1	-	<i>Bacillus subtilis</i>	1	+
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	1	-	<i>Bacillus thuringiensis</i>	1	+
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	-	<i>Corynebacterium lubricantis</i>	1	+
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	-	<i>Dermabacter hominis</i>	1	+
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	2	-	<i>Desemzia incerta</i>	1	+
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	2	-	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	1	+
<i>Alcaligenes faecalis</i>	2	-	<i>Exiguobacterium sibiricum</i>	1	+
<i>Alcaligenes xyloxydans</i>	2	-	<i>Luteococcus japonicus</i>	1	+
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	-	<i>Lysinibacillus massiliensis</i>	1	+
<i>Burkholderia ambifaria</i>	2	-	<i>Microbacterium aurum</i>	1	+
<i>Burkholderia multivorans</i>	2	-	<i>Microbacterium hydrocarbonoxydans</i>	1	+
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	2	-	<i>Micrococcus luteus</i>	1	+
<i>Comamonas terrigena</i>	2	-	<i>Micrococcus lylae</i>	1	+
<i>Cupriavidus pauculus</i>	2	-	<i>Paenibacillus lautus</i>	1	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	-	<i>Staphylococcus auricularis</i>	1	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	-	<i>Staphylococcus capitis</i>	1	+
<i>Pantoea agglomerans</i>	2	-	<i>Staphylococcus cohinii</i>	1	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	-	<i>Staphylococcus sciuri</i>	1	+
<i>Pseudomonas oryzae</i>	2	-	<i>Staphylococcus warneri</i>	1	+
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	-	<i>Staphylococcus xylosus</i>	1	+
<i>Arthrobacter nicotianae</i>	1	+	<i>Bacillus cereus</i>	2	+
<i>Bacillus circulans</i>	1	+	<i>Corynebacterium amycolatum</i>	2	+
<i>Bacillus firmus</i>	1	+	<i>Staphylococcus aureus</i>	2	+
<i>Bacillus humi</i>	1	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	+
<i>Bacillus licheniformis</i>	1	+	<i>Staphylococcus hominis</i>	2	+
<i>Bacillus megaterium</i>	1	+	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	2	+
<i>Bacillus niacini</i>	1	+	<i>Bacillus longisporus</i>	NC	+

\* Selon la classification réglementaire allemande (Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe, 2015). «NC» : Non classée

Le tableau 5 présente les indices de similarité de Morisita-Horn calculés à partir des espèces de la flore bactérienne cultivable isolée des liquides des biofontaines lors de chacune des visites. Seuls 16 indices sur 65 sont supérieurs à 0,75. Les faibles indices observés ici entre les liquides confirment la variation des populations bactériennes présentes dans les liquides des biofontaines. Les biofontaines B2 et B5 semblent avoir une moins grande variation dans le temps avec des indices moyens de 0,62 et de 0,89 respectivement. À noter que pour la biofontaine B3, de faibles indices ont été calculés malgré la présence importante du genre *Pseudomonas* (Figure 2). Ces faibles indices s'expliquent par la présence de plusieurs espèces différentes de *Pseudomonas* lors des différentes visites.

**Tableau 5 : Indices de Morisita-Horn calculés sur la flore bactérienne cultivable présente dans les liquides des biofontaines**

Biofontaine	Visite	2	3	4	5	6	Moyenne
B1*	2	-	0,24	0,11	0,08	0,00	0,08
	3	-	-	0,03	0,27	0,00	
	4	-	-	-	0,00	0,03	
	5	-	-	-	-	0,00	
B2*	2	-	0,57	<u>1,00</u>	0,64	0,08	0,62
	3	-	-	0,58	<u>1,00</u>	<u>0,82</u>	
	4	-	-	-	0,65	0,08	
	5	-	-	-	-	<u>0,77</u>	
B3	1	0,01	0,64	<u>0,93</u>	0,43	0,09	0,21
	2	-	0,02	0,00	0,03	0,00	
	3	-	-	0,63	0,10	0,05	
	4	-	-	-	0,14	0,08	
	5	-	-	-	-	0,07	
B4	1	0,02	0	0	0,74	0,37	0,30
	2	-	0,02	0,66	0,20	0,58	
	3	-	-	0,15	0,02	0,05	
	4	-	-	-	0,25	<u>0,75</u>	
	5	-	-	-	-	0,66	
B5	1	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,89
	2	-	<u>1,00</u>	<u>1,00</u>	<u>1,00</u>	<u>1,00</u>	
	3	-	-	<u>1,00</u>	<u>1,00</u>	<u>1,00</u>	
	4	-	-	-	<u>1,00</u>	<u>1,00</u>	
	5	-	-	-	-	<u>1,00</u>	
indice		<u>&gt; 0,75</u>					

\* La méthode d'analyse utilisée pour la production de résultats des visites 1 des biofontaines B1 et B2 ne permettait pas de faire une analyse quantitative

### **4.3 Flore bactérienne cultivable présente dans l'air ambiant**

Le tableau 6 présente les concentrations de bactéries et de levures présentes dans l'air lors des 30 séances d'échantillonnage. Des concentrations moyennes variant de moins de 7 à 160 UFC/m<sup>3</sup> et de moins de 420 à 480 UFC/m<sup>3</sup> ont été mesurées respectivement par l'impacteur Andersen et les cassettes. Les concentrations de la biofontaine B5 sont significativement différentes de celles des autres biofontaines pour les impacteurs Andersen avant et durant l'utilisation. Il n'y a pas de différence significative entre les concentrations prises avant (bruit de fond) et pendant l'utilisation des biofontaines avec les impacteurs incluant celles de la biofontaine B5. Il est à signaler que la plupart des évaluations faites avec les cassettes ont donné des valeurs non détectées. L'utilisation de la soufflette pour sécher les pièces a été observée uniquement à une occasion pour la biofontaine B1 alors qu'elle était utilisée à chaque visite pour la biofontaine B5.

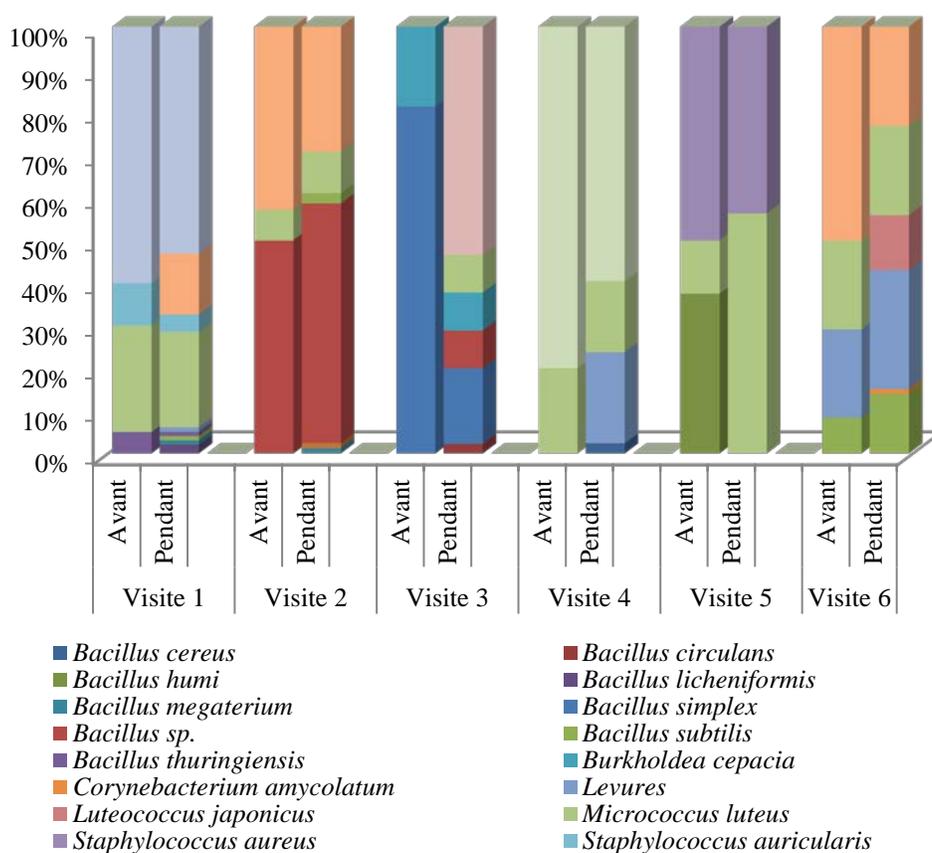
**Tableau 6 : Concentrations moyennes de bactéries et de levures présentes dans l'air (UFC/m<sup>3</sup>) avec l'impacteur Andersen (n = 5/visite)<sup>1</sup> et les cassettes munies d'un filtre de polycarbonate (n = 2/visite)**

Biofontaine	Visite	Pendant l'utilisation		
		Bruit de fond Impacteur	Impacteur	Cassette
<b>B1</b>	Visite 1*	30	110	< 420
	Visite 2	60	70	< 420
	Visite 3	10	30	< 420
	Visite 4	< 7	30	< 420
	Visite 5	10	20	< 420
	Visite 6	< 7	10	< 420
<b>B2</b>	Visite 1	10	20	< 420
	Visite 2	10	< 7	< 420
	Visite 3	< 7	20	< 420
	Visite 4	30	20	480
	Visite 5	50	20	< 420
	Visite 6	20	20	< 420
<b>B3</b>	Visite 1	40	20	< 420
	Visite 2	30	60	< 420
	Visite 3	250	120	< 420
	Visite 4	60	30	< 420
	Visite 5	10	20	< 420
	Visite 6	100	70	< 420
<b>B4</b>	Visite 1	10	60	< 420
	Visite 2	60	80	< 420
	Visite 3	10	10	< 420
	Visite 4	10	< 7	< 420
	Visite 5	40	20	< 420
	Visite 6	40	100	< 420
<b>B5</b>	Visite 1*	160	160	< 420
	Visite 2*	100	120	< 420
	Visite 3*	160	70	< 420
	Visite 4*	40	60	< 420
	Visite 5*	60	30	< 420
	Visite 6*	170	120	< 420

\* Utilisation de la soufflette

<sup>1</sup> Aucune culture n'a été obtenue à partir des géloses MacConkey après 24 h d'incubation d'où n = 5 dans ce tableau au lieu de n = 5 + 5 comme dans le tableau 1

La flore bactérienne obtenue à l'aide de l'impacteur Andersen permet de constater, comme pour les liquides, une grande variabilité des microorganismes dans l'air en fonction du temps. À titre d'exemple, cette observation est illustrée à la figure 3 pour la biofontaine B5. Les microorganismes dominants étaient différents à chacune des interventions : *Staphylococcus hominis*, *Bacillus* sp, *Staphylococcus pasteurii*, *Staphylococcus* sp, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus epidermidis*. Des figures semblables sont présentées à l'annexe A pour les quatre autres biofontaines.



**Figure 3 : Proportion des microorganismes cultivables trouvés dans les échantillons d'air prélevés avec l'impacteur Andersen avant et pendant l'utilisation de la biofontaine B5.**

Malgré cette différence observable dans le temps, il existait pour certaines visites une grande similitude entre la flore présente avant (bruit de fond) et celle mesurée pendant l'utilisation de la biofontaine (figure 3 et tableau 7). Lors de 3 des 30 interventions, aucune bactérie n'a été détectée dans le milieu nutritif; il n'a donc pas été possible d'établir s'il y avait concordance. Finalement, dans 63 % des interventions, le principal microorganisme trouvé dans le bruit de fond était le même que celui trouvé pendant l'utilisation de la biofontaine. Afin de quantifier ces observations, les indices de similitude de Morisita-Horn ont été calculés entre la flore bactérienne présente avant et celle présente pendant l'utilisation des biofontaines (tableau 7). Les comparaisons réalisées à l'aide des indices de similitude produisent un résultat supérieur à

0,75 pour près de la moitié des visites. Ceci permet de renforcer qu'il n'y a pas une grande différence entre les flores bactériennes présentes avant et pendant l'utilisation des biofontaines.

**Tableau 7 : Indices de Morisita-Horn calculés à partir de la flore bactérienne cultivable présente avant et pendant l'utilisation de la biofontaine**

Usine	Visite1	Visite 2	Visite 3	Visite 4	Visite 5	Visite 6
B1	NC	<u>0,78</u>	0,71	NA	<u>0,76</u>	NA
B2	NC	<u>0,86</u>	NA	0,04	0,74	<u>0,90</u>
B3	<u>0,91</u>	0,49	0,74	0,00	<u>0,97</u>	0,25
B4	<u>0,76</u>	0,00	0,18	<u>1,00</u>	0,30	0,31
B5	<u>0,98</u>	<u>0,99</u>	0,31	<u>0,91</u>	0,63	<u>0,83</u>

Indice  $\geq 0,75$

NC : non calculé, la méthode d'analyse utilisée pour la production de résultats des visites 1 des biofontaines B1 et B2 ne permettait pas de faire une analyse quantitative

NA : non analysable, car une seule espèce dans l'échantillon

#### 4.4 Comparaison de la flore bactérienne cultivable retrouvée dans l'air avec celle des liquides des biofontaines

Le tableau 8 montre la comparaison entre les espèces bactériennes et les levures représentant plus de 2 % des colonies identifiées dans l'air (bruit de fond et pendant l'utilisation de la biofontaine) et dans les liquides (liquide vierge et liquide usagé) lors des 30 interventions. Les espèces bactériennes sont plus diversifiées dans l'air que dans le liquide des biofontaines. À titre d'exemple, *Bacillus cereus* (Gram positif, groupe de risque 2) et *Staphylococcus hominis* (Gram positif, groupe de risque 2) sont uniquement détectés dans l'air, alors que dans le liquide vierge, seul *Bacillus subtilis* a été identifié. Cette bactérie a également été détectée dans le filtre neuf faisant partie de la technologie de la biofontaine B2. Dans le liquide des biofontaines, 16 % des espèces appartenaient à *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négatif, groupe de risque 2), 20 % à *Bacillus subtilis* (Gram positif, groupe de risque 1) et 29 % était des levures. Les deux groupes les plus fréquents dans les liquides, soit les *Bacillus subtilis* et les levures sont également les groupes qui sont rencontrés le plus fréquemment dans l'air. Pourtant ce phénomène d'aérosolisation n'est pas observable pour la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* qui, bien qu'elle soit présente à une fréquence de 16 % dans les liquides, n'a jamais été détectée dans l'air ambiant. Cette absence d'aérosolisation avait également été observée lors d'une étude effectuée dans les centres de compostage (Marchand *et al.*, 2017) et devrait être étudiée plus en détail. Des levures ont été trouvées en quantité importante dans les dégraissants des biofontaines en utilisation, toutefois ces mycètes microscopiques n'ont pas fait l'objet d'une caractérisation spécifique puisque les méthodologies utilisées qui sont adaptées à la flore bactérienne n'étaient pas adéquates pour faire une analyse rigoureuse des levures. Dans certains cas, seule l'identification au genre des bactéries a été possible malgré les nombreuses méthodes d'identification utilisées dans le processus analytique.

**Tableau 8 : Comparaison des bactéries et des levures représentant plus de 2 % des colonies identifiées dans l'air avant et durant l'utilisation et dans les liquides vierges et usagés**

Espèce bactérienne (groupe de risque)	Proportion de colonies isolées dans l'air (%)		Proportion de colonies isolées dans les liquides (%)	
	Avant le dégraissage	Pendant le dégraissage	Provenant des liquides vierges	Provenant des biofontaines
<i>Bacillus cereus</i> (2)	4,0	0,6	-	-
<i>Bacillus licheniformis</i> (1)	1,3	3,6	-	2,2
<i>Bacillus megaterium</i> (1)	2,5	5,3	-	-
<i>Bacillus simplex</i> (1)	4,4	0,8	-	-
<i>Bacillus</i> sp	3,3	3,1	-	0,3
<i>Bacillus subtilis</i> (1)	5,1	10	100	20
<i>Burkholderia multivorans</i> (2)	-	-	-	3,0
<i>Citrobacter amalonaticus</i> (2)	-	1,7	-	3,4
<i>Corynebacterium lubricantis</i> (2)	2,6	1,4	-	-
Levures	6,3	9,1	-	29
<i>Micrococcus luteus</i> (1)	12	21	-	-
<i>Micrococcus</i> sp	4,6	7,3	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (2)	0,7	-	-	16
<i>Pseudomonas oleovorans</i> (1)	2,6	-	-	2,8
<i>Pseudomonas oryzae</i> (2)	-	0,5	-	3,1
<i>Pseudomonas</i> sp	1,3	-	-	4,3
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (2)	5,7	4,9	-	2,2
<i>Staphylococcus hominis</i> (2)	12	6,8	-	-
<i>Staphylococcus</i> sp	11	3,7	-	0,1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (2)	-	0,5	-	2,2

Afin de déterminer si la flore présente dans les liquides des biofontaines pendant l'utilisation de celle-ci influençait celle retrouvée dans l'air, les indices de Morisita-Horn ont été calculés entre les deux flores. Le tableau 9 présente les calculs obtenus pour chaque visite. Ces résultats démontrent qu'il n'y a que peu de similitudes entre la flore présente dans les deux milieux, appuyant le faible impact de la flore du liquide sur celle de l'air lors de 25 des 28 visites pour lesquelles plus d'un type bactérien a été identifié.

**Tableau 9 : Indices de Morisita-Horn calculés sur la flore bactérienne cultivable présente dans les liquides des biofontaines et celle de l'air prise durant l'utilisation**

Usine	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4	Visite 5	Visite 6
B1	NC	<u>0,84</u>	0,05	0,00	0,16	0,00
B2	NC	0,00	0,25	<u>0,95</u>	0,00	0,17
B3	0,02	0,30	0,49	0,53	0,18	0,01
B4	0,00	0,00	0,42	0,00	<u>0,84</u>	0,25
B5	0,01	0,00	0,00	0,29	0,43	0,57

Indice  $\geq 0,75$

NC : non calculé, la méthode d'analyse utilisée pour la production de résultats des visites 1 des biofontaines B1 et B2 ne permettait pas de faire une analyse quantitative

NA : non analysable, car une seule espèce dans l'échantillon

#### 4.5 Aérosols fluorescents et non fluorescents mesurés par l'UV-APS

Pour l'ensemble des visites, les concentrations rapportées par l'UV-APS variaient de  $1,0 \times 10^4 \text{ \#/m}^3$  ( $0,001 \text{ \#/cm}^3$ ) à  $9,3 \times 10^6 \text{ \#/m}^3$  ( $9,3 \text{ \#/cm}^3$ ) pour la fraction fluorescente et de  $4,4 \times 10^5 \text{ \#/m}^3$  ( $0,44 \text{ \#/cm}^3$ ) à  $1,9 \times 10^8 \text{ \#/m}^3$  ( $190 \text{ \#/cm}^3$ ) pour la fraction non fluorescente. Le tableau 10 résume les résultats de l'UV-APS (moyennes par biofontaine). L'annexe B donne les résultats détaillés de chaque intervention. Les profils de concentration pour chacune des visites sont illustrés à l'annexe C. Quatre exemples sont présentés à la figure 4, le bruit de fond étant représenté graphiquement durant les premières minutes d'échantillonnage. Les notes prises durant l'échantillonnage ont permis d'expliquer les profils des concentrations mesurées avec l'UV-APS. La figure 4 B-C présente ainsi les concentrations de l'UV-APS en lien avec des éclaboussures observées durant le nettoyage des pièces. Des augmentations de concentration sont observées aussi bien pour la fraction fluorescente que pour celle non fluorescente. Pour le pic des particules fluorescentes de la figure 4B (éclaboussure), l'augmentation atteint dix fois la concentration du bruit de fond. Le même phénomène est observable pour les activités d'utilisation de la soufflette (figure 4 A-D). Toutefois, l'impact sur les concentrations est plus important durant les activités de séchage avec la soufflette; elles peuvent atteindre plus de 100 fois la concentration du bruit de fond pour les fractions fluorescentes et non fluorescentes (annexe D, B5-1 à B5-6).

Des ratios (quotients) ont été calculés entre les moyennes obtenues avant l'intervention (bruit de fond) et celles mesurées pendant l'intervention (tableau 10 et annexe B). Ces ratios permettent d'apprécier l'augmentation des concentrations attribuable à la tâche effectuée. Pour la fraction non fluorescente, sept ratios dépassent 2 et peuvent atteindre 12. Il s'agit des sept interventions durant lesquelles la soufflette a été utilisée. Pour la fraction fluorescente, les ratios sont plus élevés et peuvent atteindre 59 pour la biofontaine B5 (ratio moyen de 21, tableau 7). Là encore, les ratios sont élevés lors de l'utilisation de la soufflette, mais certains allant jusqu'à 6 sont aussi calculés dans les milieux de travail qui ne recourent pas à la soufflette.

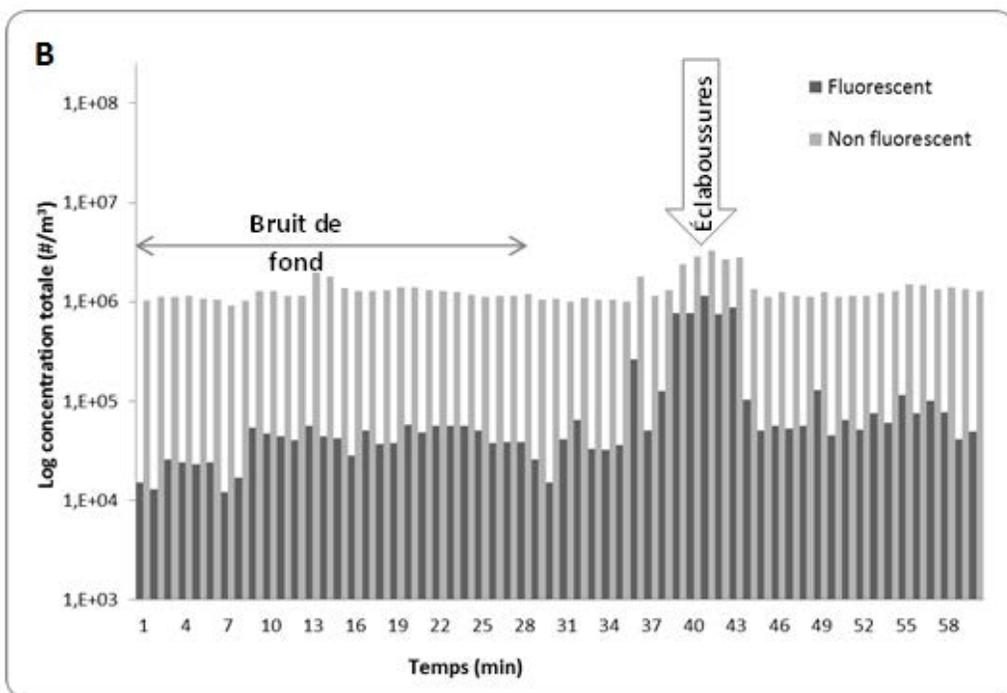
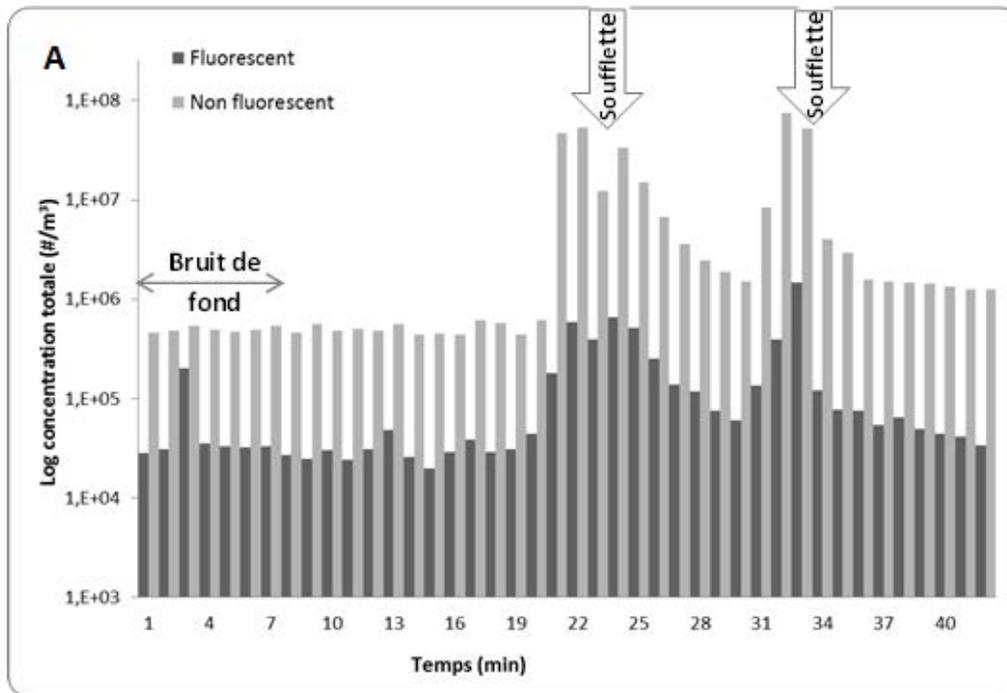
**Tableau 10 : Résumé des concentrations particulières mesurées par l'UV-APS**

<b>Particule fluorescente</b>									
Biofontaine	Pendant l'utilisation				Bruit de fond				Ratio*
	Moyenne (#/cm <sup>3</sup> )	Écart- type (#/cm <sup>3</sup> )	min (#/cm <sup>3</sup> )	max (#/cm <sup>3</sup> )	Moyenne (#/cm <sup>3</sup> )	Écart- type (#/cm <sup>3</sup> )	min (#/cm <sup>3</sup> )	max (#/cm <sup>3</sup> )	
B1	0,08	0,13	0,01	1,46	0,06	0,03	0,00	0,20	1,33
B2	0,15	0,16	0,01	1,14	0,06	0,03	0,01	0,22	2,50
B3	0,10	0,06	0,04	0,36	0,12	0,15	0,00	0,86	0,83
B4	0,13	0,10	0,01	0,55	0,09	0,11	0,00	0,66	1,44
B5	2,10	1,97	0,02	9,34	0,10	0,11	0,00	0,57	21,0

<b>Particule non fluorescente</b>									
Biofontaine	Pendant l'utilisation				Bruit de fond				Ratio*
	Moyenne (#/cm <sup>3</sup> )	Écart- type (#/cm <sup>3</sup> )	min (#/cm <sup>3</sup> )	max (#/cm <sup>3</sup> )	Moyenne (#/cm <sup>3</sup> )	Écart- type (#/cm <sup>3</sup> )	min (#/cm <sup>3</sup> )	max (#/cm <sup>3</sup> )	
B1	5,23	8,35	0,44	75,4	4,20	2,25	0,46	12,7	1,25
B2	4,08	2,18	1,01	13,1	3,52	2,15	0,91	15,1	1,16
B3	4,74	1,34	1,98	8,05	5,32	1,51	1,51	7,86	0,89
B4	7,41	4,50	3,07	26,5	6,60	3,57	2,67	17,3	1,12
B5	58,0	39,4	4,46	195	12,7	6,30	4,33	40,8	4,57

\* Quotient de la concentration moyenne pendant l'utilisation et de la concentration moyenne du bruit de fond



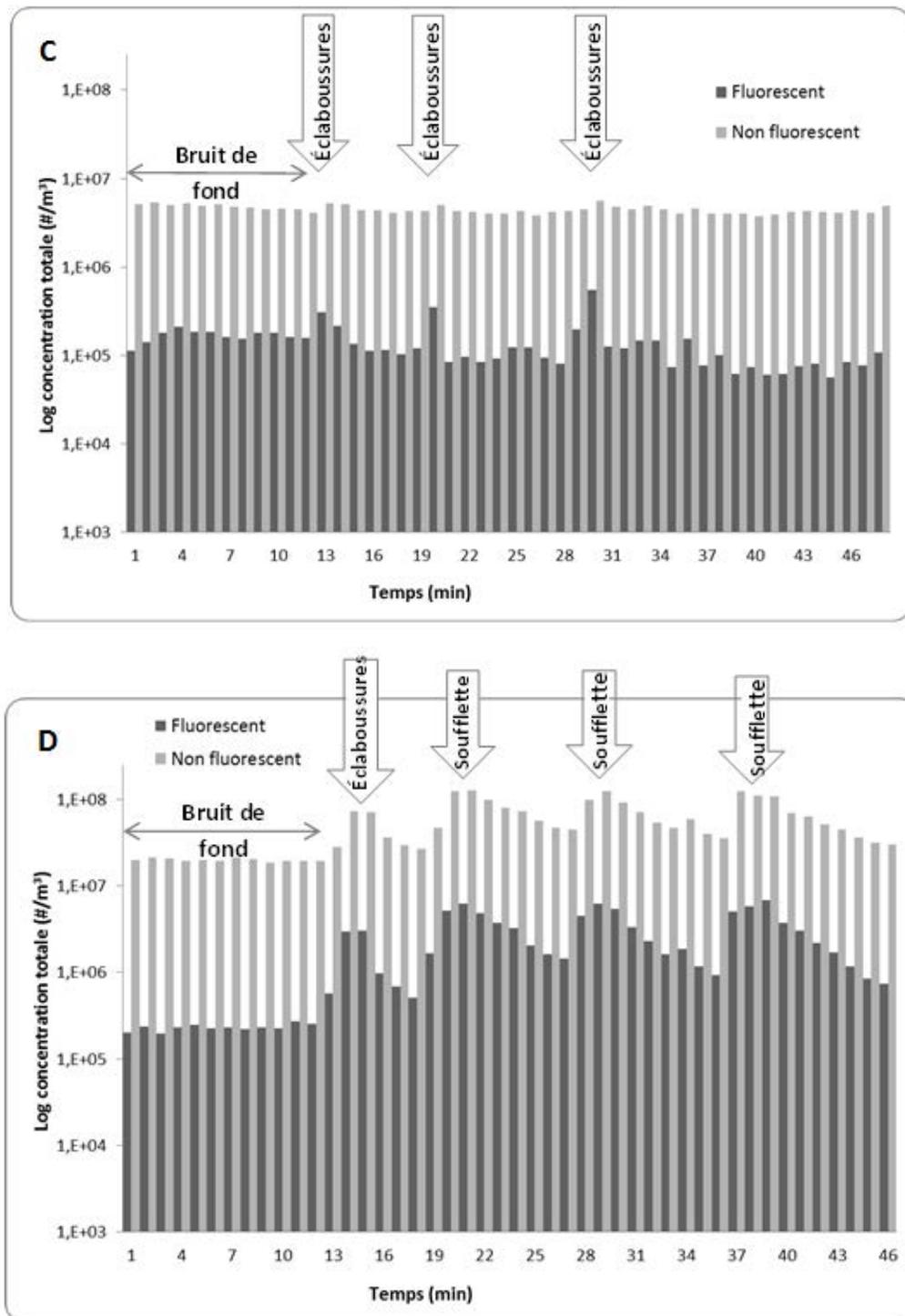
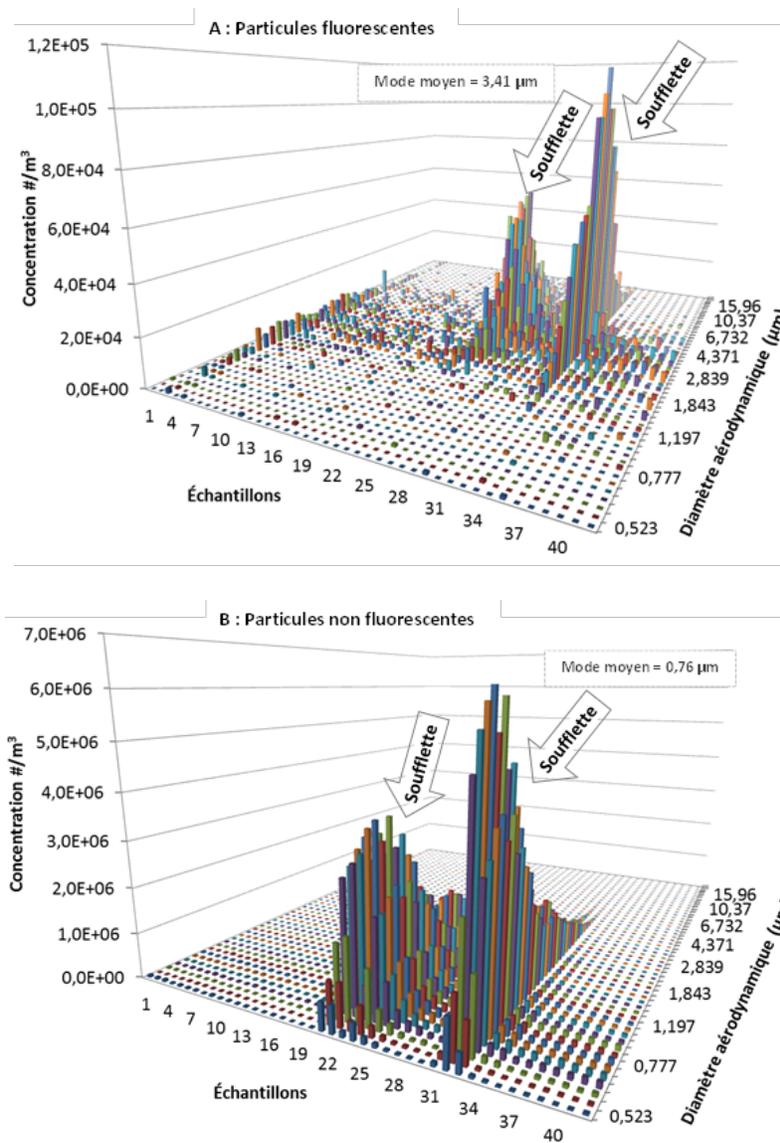


Figure 4 : Identification des pics de concentration des particules fluorescentes et non fluorescentes mesurés durant l'utilisation des biofontaines B1 première visite (A), B2 première visite (B), B4 première visite (C) et B5 première visite (D).

La figure 5 représente en trois dimensions les concentrations mesurées avec l'UV-APS en fonction du diamètre aérodynamique des particules. Des diamètres différents sont observés pour les fractions fluorescentes et non fluorescentes. Pour l'ensemble des biofontaines, le mode moyen des diamètres aérodynamiques de la fraction fluorescente est de 3,41 µm alors que celui de la fraction non fluorescente est de 0,76 µm. Les pics de concentration sont mis en évidence lors des activités qui produisent des bioaérosols (soufflette), que ce soit pour les particules fluorescentes ou non fluorescentes. Ces pics sont présents dans chacune des visites où la soufflette est utilisée, Il est intéressant de remarquer la répétabilité du profil granulométrique lors des utilisations successives de la soufflette.



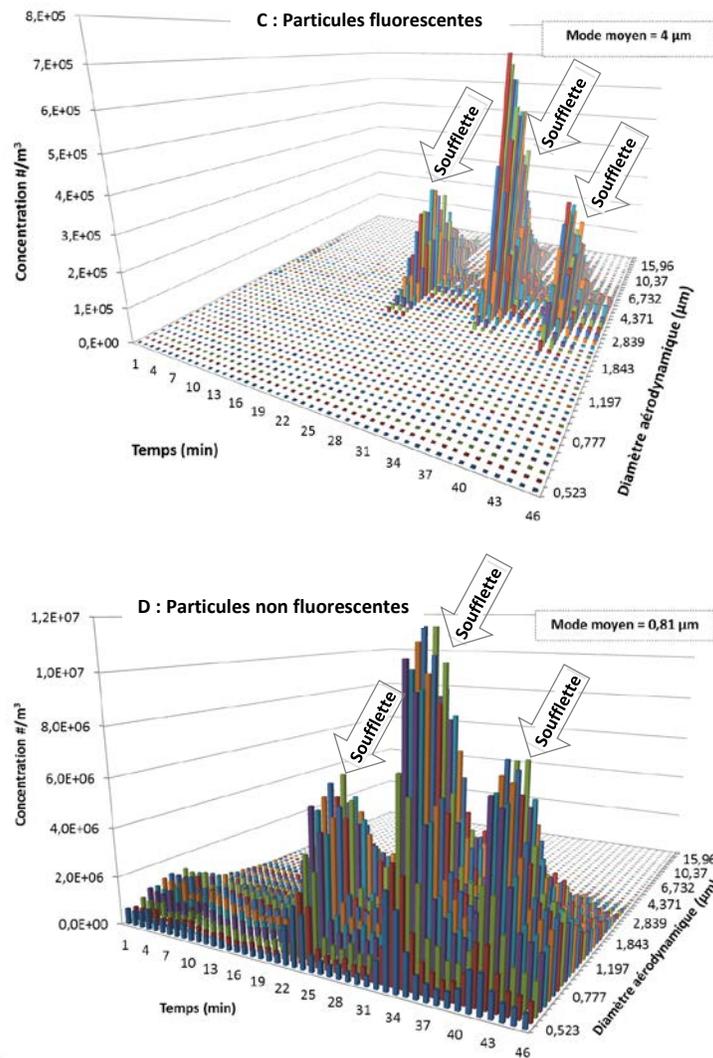


Figure 5 : Profils granulométriques des concentrations des particules fluorescentes et non fluorescentes mesurés durant l'utilisation des biofontaines B1 première visite (A-B) et B5 cinquième visite (C-D).

## 5. DISCUSSION

### 5.1 Composition des liquides en microorganismes cultivables

Les mesures effectuées durant cette activité de recherche indiquent que de nombreuses espèces bactériennes ainsi que des levures se trouvent dans les liquides des biofontaines en utilisation. Ces microorganismes sont différents de ceux présents dans le liquide vierge où seule l'espèce *Bacillus subtilis* a été détectée. Lors de l'une des visites, qui a eu lieu seulement trois jours après le nettoyage et le remplacement du liquide de la biofontaine, *Bacillus subtilis* n'a pas été détecté dans le liquide de cette biofontaine (figure 2). Une colonisation rapide d'autres microorganismes peut de toute évidence se produire. Les conditions favorables à la croissance de *Bacillus* sp semblent également favoriser la croissance de plusieurs autres espèces microbiennes. Nelson *et al.* soutiennent que l'environnement dans une biofontaine peut potentiellement soutenir la prolifération de microorganismes exogènes (Nelson, Tkachenko, Delawder et Marsch, 2004). Cette hypothèse a aussi été confirmée par les études de David *et al.* (2009) et Boucher *et al.* (2011).

Pour 4 des 5 biofontaines, les concentrations moyennes de microorganismes mesurées dans les échantillons de liquides usagés étaient supérieures à celles du liquide neuf. Les concentrations moyennes de microorganismes dans le liquide des biofontaines variaient d'un ordre de grandeur entre les biofontaines alors qu'elles variaient dans le temps (mesures prises aux deux mois durant un an) de deux ordres de grandeur pour 4 des 5 biofontaines. Nelson *et al.* ont aussi étudié pendant huit semaines sept biofontaines utilisées dans cinq garages d'entretien de véhicules à moteur des États-Unis (Nelson *et al.*, 2004). Ils ont mesuré hebdomadairement la concentration des microorganismes dans le liquide à l'aide de lames gélosées (Oxoid Dip Slide) (Nelson et Tkachenko, 2001). Les auteurs rapportent des concentrations (UFC/mL) qui fluctuaient uniquement d'un ordre de grandeur dans cinq biofontaines. La concentration variait de deux ordres de grandeur dans la sixième biofontaine et de trois ordres de grandeur dans la septième biofontaine. Les concentrations moyennes de microorganismes trouvées lors de la présente étude dans l'entreprise utilisant la même technologie sont du même ordre de grandeur que celles mesurées dans la majorité des biofontaines étudiées par Nelson *et al.* (2001).

Dans la présente étude, 100 % des bactéries identifiées dans les liquides vierges étaient *Bacillus subtilis*, alors que dans les liquides prélevés durant le fonctionnement des biofontaines, 59,5 % des bactéries repérées appartenaient aux genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Burkholderia*, *Staphylococcus* et *Stenotrophomonas*, et 29 % des microorganismes détectés dans les biofontaines en utilisation étaient des levures. Parmi les microorganismes trouvés dans les liquides, la présence de plusieurs bactéries du groupe de risque infectieux 2 telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas oryzae*, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Staphylococcus epidermidis* a été observée, soulevant un risque potentiel à la santé.

David *et al.* rapportent que les populations bactériennes fluctuent énormément à la moindre modification du milieu et qu'il est donc impossible de définir, dans le temps, la composition bactérienne des biofontaines (David *et al.*, 2009). Plusieurs faibles indices de similitudes calculés dans la présente étude entre les différentes visites pour une même biofontaine confirment ce que David *et al.* ont rapporté. Toutefois, pour les biofontaines B2 et B5 cette variation n'est pas aussi présente et plusieurs indices supérieurs à 0,75 ont été calculés

(Tableau 5). La forte récurrence de *Bacillus subtilis* dans la biofontaine B2 explique ces indices de similitudes élevés alors que pour la biofontaine B5 ceci s'explique par la très forte présence des levures lors des visites 2, 3, 4 et 5 (figure 2). Bien que la présence récurrente de levures dans la biofontaine B5 ne trouve pas d'explication aisément, une hypothèse expliquant la récurrence de *Bacillus subtilis* dans la biofontaine B2 serait l'inoculation en continu de la bactérie par le filtre dans le liquide de celle-ci.

## 5.2 Microorganismes cultivables trouvés dans l'air à proximité des biofontaines et dans la zone respiratoire des travailleurs

Les prélèvements d'air effectués durant l'utilisation des biofontaines ont permis de caractériser plusieurs genres et espèces bactériens et plusieurs levures. Les quatre principaux microorganismes dépistés après culture sur gélose et représentant 76 % des microorganismes identifiés sont les suivants, par ordre décroissant d'importance : *Micrococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, levures. Dans les mesures de bruit de fond prises avant l'utilisation des biofontaines, 77 % des microorganismes appartenaient, par ordre décroissant, aux microorganismes *Staphylococcus*, *Bacillus*, levures, *Micrococcus*, *Corynebacterium* et *Pseudomonas*. Dans les deux tiers des interventions (63 %), la principale espèce bactérienne trouvée dans le bruit de fond était la même que celle détectée durant l'utilisation de la biofontaine. Le calcul des indices de Morisita-Horn ont permis de confirmer cette grande similitude entre la flore de l'air avant et pendant l'utilisation. De plus, aucune différence significative n'a été mesurée entre les concentrations (UFC/m<sup>3</sup>) de microorganismes dans l'air avant (bruit de fond) et pendant l'utilisation des biofontaines. Ces résultats suggèrent une faible influence de l'activité de dégraissage de la biofontaine sur la concentration et la composition de la flore microbienne cultivable de l'air.

L'utilisation de la soufflette lors de 7 interventions démontre que celle-ci génère des aérosols (figures 4 et 5 et annexe B). Les moyennes de la fraction fluorescente mesurées par l'UV-APS durant l'utilisation de la biofontaine pouvaient être jusqu'à 59 fois supérieures à celles du bruit de fond. Le mode des diamètres aérodynamiques des particules fluorescentes générées durant l'utilisation des soufflettes était inférieur ou égal à 4 µm, ce qui correspond à une fraction inhalable (< 100 µm). Toutefois, l'utilisation d'une soufflette pour sécher les pièces dégraissées dans les biofontaines ne fait pas augmenter de façon appréciable l'exposition des travailleurs aux microorganismes cultivables. En effet, pour la biofontaine B5, qui est la seule où l'utilisation de la soufflette a été rapportée systématiquement lors de chaque visite, aucune différence significative n'a été calculée entre les concentrations dans l'air avant et durant l'utilisation. De plus, les concentrations moyennes ambiantes mesurées durant cette étude étaient toutes inférieures à 480 UFC/m<sup>3</sup>, même lors de l'utilisation de soufflettes. Ces concentrations moyennes étaient donc bien en deçà des concentrations rapportées dans de nombreux milieux de travail, de même que celles rapportées dans l'air extérieur. En effet, Goyer *et al.* (2001) rapportent des concentrations de 10<sup>2</sup> UFC/m<sup>3</sup> à l'extérieur, de 10<sup>4</sup> UFC/m<sup>3</sup> dans des centres d'épuration des eaux usées, des centres de collecte et de tri de déchets domestiques, des scieries, de 10<sup>5</sup> UFC/m<sup>3</sup> dans des centres de compostage, de 10<sup>6</sup> UFC/m<sup>3</sup> dans des papeteries et porcheries, et de 10<sup>7</sup> à 10<sup>9</sup> UFC/m<sup>3</sup> en agriculture. Les niveaux d'intervention recommandés pour une exposition professionnelle aux bioaérosols sont de l'ordre de 10<sup>4</sup> UFC/m<sup>3</sup> (Goyer *et al.*, 2001). Les concentrations rapportées dans la présente étude sont donc très faibles comparativement à ces niveaux.

### 5.3 Fonctionnement des biofontaines

Le manuel de l'utilisateur des biofontaines de marque B indique que la température du liquide dégraissant doit être maintenue à  $40 \pm 3$  °C, alors que celle des biofontaines de marque A doit être maintenue à  $41 \pm 1$  °C. Les résultats indiquent que ces conditions n'ont pas été respectées, les températures étant en moyenne trop basses (voir le tableau 2). Cette situation a pour conséquence que le dégraissant n'était probablement pas maintenu dans des conditions optimales permettant le maintien de la croissance de la floreensemencée (*Bacillus subtilis*). Par ailleurs, les auteurs ont observé qu'il était plus difficile d'obtenir les informations entourant l'utilisation des biofontaines (p. ex. : les dates de vidange, d'ajout et de remplacement du dégraissant) dans les cas où de nombreux travailleurs utilisaient sporadiquement la même biofontaine. En outre, la grande majorité des travailleurs n'avaient eu aucune formation lors de l'introduction des biofontaines dans leur atelier. Les manuels de l'utilisateur étaient d'ailleurs indisponibles dans ces milieux de travail.

Quelques mois après la présente étude chez le fabricant d'aéronefs (B1), celui-ci a décidé de ne plus utiliser les biofontaines parce que cette technologie ne répondait pas à leurs critères d'efficacité de nettoyage. De plus, le dégraissant aurait souvent dégagé une odeur fétide. L'origine de ces effluves nauséabonds est peut-être liée à une mauvaise utilisation des biofontaines dans cette entreprise, p. ex. : une température optimale du dégraissant non respectée et l'introduction de pièces souillées de contaminants incompatibles avec la flore bactérienne du liquide dégraissant. Ce dernier point avait été noté par Bégin *et al.* (2014a), qui ont rapporté qu'un fluide hydraulique avait détruit la culture bactérienne du dégraissant de la biofontaine de marque A utilisée dans un atelier d'usinage. Or, le tableau 2 indique justement la présence d'huile hydraulique comme salissure sur les pièces à dégraisser.

La marque A est certifiée en vertu de la norme UL 2792 (UL, 2016-05-04). Cette norme est émise en vertu du programme EcoLogo géré par la société états-unienne Underwriters Laboratories (UL), organisme indépendant de certification. Ce programme de vérification par une tierce partie assure théoriquement à l'utilisateur que la préparation commerciale possède des caractéristiques minimales visant à protéger l'environnement et la santé. La norme UL 2792 exige notamment l'absence de microorganismes pathogènes et de certaines substances toxiques, p. ex. : le 2-butoxyéthanol et les solvants aromatiques (UL, 2016-05-04). Les résultats de la présente étude indiquent que les échantillons vierges de marque A prélevés dans les milieux de travail étudiés ne respectaient pas la valeur minimale de  $10^7$  UFC/mL exigée par la norme UL 2792 (voir le tableau 3). Une explication potentielle pourrait être que la température de stockage des contenants d'origine n'a pas été respectée ( $\geq 5$  °C,  $\leq 25$  °C) ou que la durée de conservation (1 an) a été dépassée (critères de conservation tirés de la fiche technique du dégraissant de marque A). Une concentration bactérienne en deçà de la norme pourrait entraîner une efficacité réduite de la biodégradation des salissures.

La technologie de la marque B fonctionne différemment de celle de la marque A. Le fabricant affirme que c'est le filtre au travers duquel passe le dégraissant dans la biofontaine qui libère les bactéries. *Bacillus subtilis* a effectivement été détectée dans le filtre, mais également dans le liquide dégraissant vierge, à une concentration plus élevée que celle de tous les liquides de marque A inutilisés qui ont été analysés. Ce dernier résultat est difficile à concilier avec la littérature technique du fabricant qui ne mentionne pas la présence de bactéries dans le liquide dégraissant vierge.

## 5.4 Mesures de prévention

Au regard des nombreuses bactéries et levures exogènes identifiées dans les liquides des biofontaines, de la présence d'espèces bactériennes de groupe de risque 2, de levures en grand nombre et de bactéries à Gram négatif, le risque d'exposition des travailleurs par contact cutané doit être pris en compte. Le danger du contact cutané est principalement lié à l'infection des plaies ou encore à l'ingestion par contamination croisée. Kohli (2013) affirme que l'utilisation d'une biofontaine n'exige pas l'emploi d'équipement de protection personnelle. À l'instar de Bégin *et al.*, les auteurs du présent rapport recommandent au contraire de se protéger la peau et les yeux, de porter une visière-écran si des éclaboussures sont possibles et d'éviter tout contact avec des plaies (Bégin, Gérin et Lavoie, 2014b). David *et al.* insistent également sur la nécessité d'une hygiène individuelle rigoureuse, du port des gants et recommandent le lavage des mains après avoir enlevé ses gants et avant de porter ses mains à la bouche ou de manipuler des objets portés à la bouche (David, 2005; David *et al.*, 2009).

Cette étude métrologique a établi que les travailleurs utilisant une biofontaine pour dégraisser des pièces souillées dans des ateliers d'entretien mécanique étaient très faiblement exposés aux bioaérosols par la voie respiratoire. En effet le niveau maximal mesuré sur un travailleur était de 480 UFC/m<sup>3</sup> lors d'une opération de dégraissage. En outre, l'utilisation d'une soufflette pour sécher les pièces dégraissées dans les biofontaines n'a pas fait augmenter de façon appréciable l'exposition des travailleurs aux microorganismes cultivables. Le critère d'action de 10<sup>4</sup> UFC/m<sup>3</sup>, proposé par Goyer *et al.* (2001) pour les bactéries cultivables totales, est très loin d'être atteint dans les situations étudiées. En conséquence, aucune protection respiratoire n'est recommandée lors de l'utilisation des biofontaines.

## 5.5 Limites de cette étude

Les méthodes d'analyse par culture sur milieux nutritifs mis en place dans cette étude sont limitées, car seuls les microorganismes cultivables aptes à se développer dans les conditions fournies ont été pris en compte (Eduard, Heederik, Duchaine et Green, 2012). Les géloses TSA utilisées dans cette étude pour les bactéries permettent aussi de faire croître certaines levures ; c'est pour cette raison que nous en avons trouvé. Les résultats de levures rapportés dans cette étude doivent être considérés avec précaution, car ils sous-estiment quantitativement et qualitativement leur présence.

Aucune mesure de bruit de fond après l'utilisation des biofontaines ou dans d'autres locaux des entreprises n'a été réalisée. Les bruits de fond ont plutôt été caractérisés avant l'utilisation des biofontaines pour évaluer l'effet de leur utilisation.

L'UV-APS mesure tout ce qui est d'origine biologique, mort ou vivant en temps réel, mais il ne permet pas de faire la discrimination entre les types de microorganismes et certains autres contenus biologiques. Cette étude n'a pas non plus recherché la contamination des surfaces entourant les biofontaines, sources potentielles de contact cutané.

Les recommandations formulées dans ce rapport se basent uniquement sur nos observations et nos mesures prises lors du suivi des cinq biofontaines. Les mesures ont été réalisées pour des utilisations soutenues des biofontaines de 30 minutes consécutives. À noter que les utilisateurs ont rapporté dans certains cas des utilisations très peu fréquentes (quelques fois par mois).

Toutes autres situations particulières devraient faire l'objet d'une évaluation approfondie par un professionnel.

Enfin, l'exposition possible des travailleurs à des toxines produites dans certaines conditions par les microorganismes n'a pas été évaluée. La prolifération des bactéries à Gram négatif augmente la possibilité de détecter des endotoxines dans l'air (Marchand, 1996a). Ces substances peuvent être la cause de problèmes respiratoires chez les travailleurs exposés (Rylander, 2006). *Bacillus subtilis* peut produire certaines enzymes telles que la subtilisine. Cette protéase, présente sous la forme d'aérosols, a provoqué des réactions allergiques chez les travailleurs fabriquant des poudres à lessive à base de subtilisine cristalline (AMFEP, 2007). Elle a également causé des problèmes respiratoires chez des travailleurs en milieux hospitaliers, où des nettoyants à base de cette enzyme sont employés pour nettoyer des instruments chirurgicaux et diagnostiques (Lemière, Cartier, Dolovich et Malo, 1996).



## 6. CONCLUSION

Le suivi des liquides de cinq biofontaines sur un an indique des concentrations de microorganismes variant de  $3,6 \times 10^4$  à  $2,6 \times 10^7$  UFC/mL. Soixante espèces bactériennes ont été identifiées dans ces liquides. Ces espèces appartiennent aux groupes de risque 1 et 2; on note aussi la présence de bactéries à Gram positif et négatif. Plusieurs genres bactériens ont été identifiés dont *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Burkholderia*, *Staphylococcus* et *Stenotrophomonas*. En revanche, dans les liquides vierges des six biofontaines, seule l'espèce *Bacillus subtilis* a été identifiée. Les biofontaines sont donc rapidement colonisées par différents microorganismes exogènes comme *Pseudomonas aeruginosa*. Le danger du contact cutané est principalement lié à l'infection des plaies ou encore avec l'ingestion en portant ses mains à la bouche ou en manipulant des objets portés à la bouche. Des mesures d'hygiène individuelle rigoureuse, le port des gants et le lavage des mains avant et après l'utilisation des biofontaines sont donc nécessaires.

Cette étude a établi que les travailleurs utilisant une biofontaine étaient très faiblement exposés par la voie respiratoire aux bioaérosols. L'utilisation d'une biofontaine ne semble pas influencer la flore bactérienne cultivable ambiante. En outre, même si les concentrations de microorganismes augmentent dans l'air lors de l'utilisation d'une soufflette pour sécher les pièces dégraissées dans les biofontaines ou lors d'éclaboussures, ces activités n'ont pas influencé de façon appréciable l'exposition des travailleurs aux microorganismes cultivables. En conséquence, aucune protection respiratoire n'est recommandée lors de l'utilisation des biofontaines.



## BIBLIOGRAPHIE

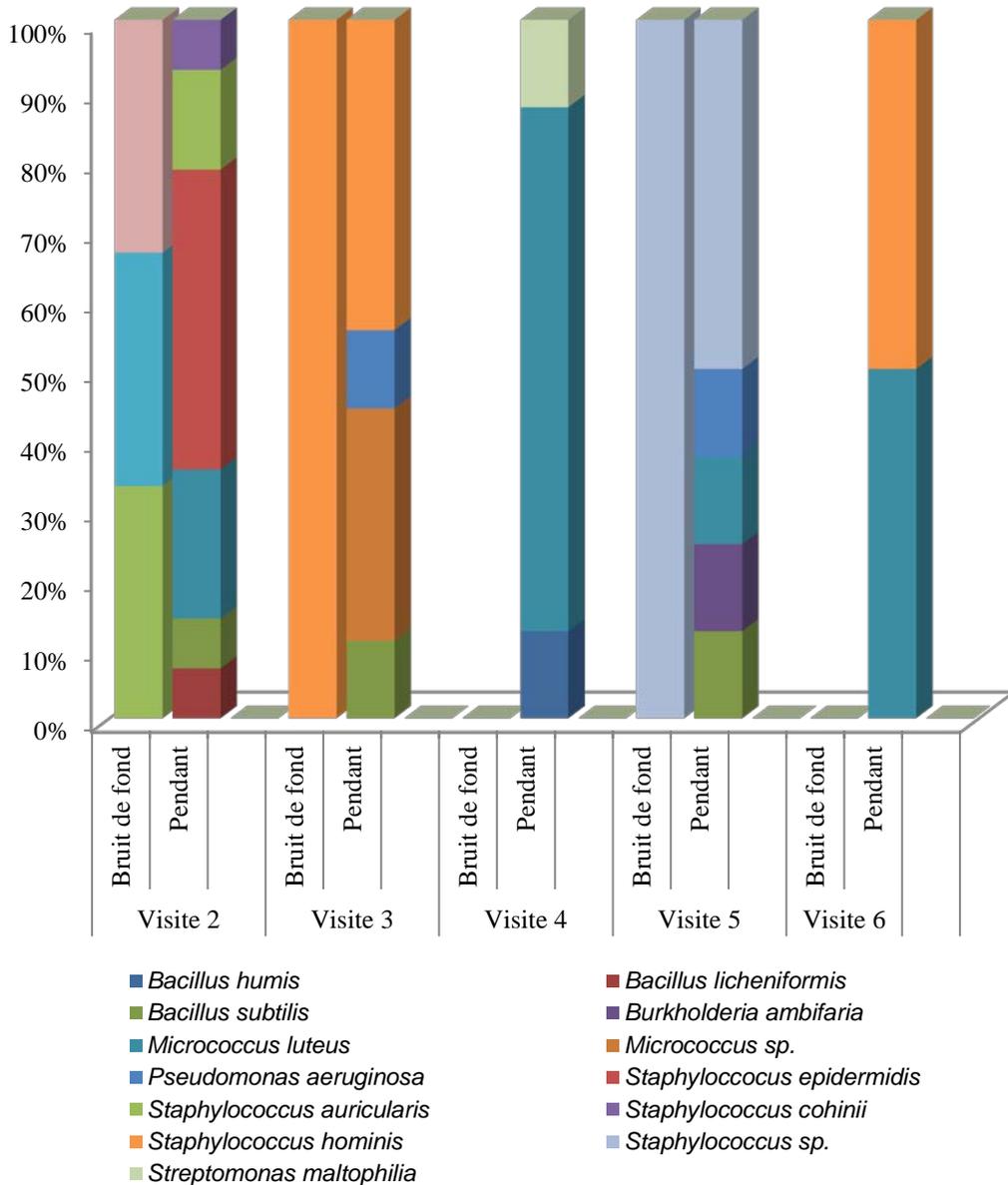
- Agger, W. A. et Mardan, A. (1995). *Pseudomonas aeruginosa* Infections of Intact Skin. *Clinical Infectious Diseases*, 20(2), 302-308.
- AMFEP. (2007). *HERA Human & Environmental Risk Assessment - Subtilisins (Protease)*. Brussels: Human & Environmental Risk Assessment on ingredients of household cleaning products, HERA Enzyme Safety Task Force, Association of Manufacturers and Formulators of Enzyme Products.
- ASPC. (2011). *Kebsiella spp.* - Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. Tiré de <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/klebsiella-fra.php>.
- ASPC. (2012). *Pseudomonas spp.* - Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. Tiré de <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/pseudomonas-spp-fra.php>
- ASPC. (2015). *Norme canadienne sur la biosécurité (deuxième édition)*. Tiré de <https://www.canada.ca/content/dam/phac-aspc/migration/cbsg-nldcb/cbs-ncb/assets/pdf/cbsg-nldcb-fra.pdf>.
- Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe. (2015). *Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen*. (Technische Regel für Biologische Arbeitsstoffe TRBA 466). Tiré de <http://www.baua.de/de/Themen-von-A-Z/Biologische-Arbeitsstoffe/TRBA/TRBA-466.html>.
- Bartelt, M. A. (2000). *Diagnostic Bacteriology: A Study Guide*. Philadelphia, PA: F.A. Davis.
- Beaudette, R. et Marquis, J. (2014-05-08). *Explosion survenue le 8 novembre 2012 à l'entreprise Neptune Technologies et Bioressources inc. 795, rue Pépin à Sherbrooke*. (Rapport d'enquête n° RAP0966931). Tiré de <https://www.centredoc.cnesst.gouv.gc.ca/pdf/Enquete/ed004016.pdf>
- Bégin, D., Gérin, M. et Lavoie, J. (2014a). *Risques associés aux préparations bactériennes et enzymatiques pour le dégraissage et le nettoyage*. (Rapport R-829). Tiré de <http://www.irsst.gc.ca/media/documents/PubIRSST/R-829.pdf>.
- Bégin, D., Gérin, M. et Lavoie, J. (2014b). *Utilisation sécuritaire des fontaines biologiques de dégraissage*. (Fiche de prévention RF-829). Tiré de <http://www.irsst.gc.ca/media/documents/PubIRSST/RF-829.pdf>.
- Bodin, J. et Larivé, O. (2013). *Biofontaines de dégraissage : peuvent-elles devenir dangereuses pour le travailleur ?*. (Design Project - SIE 2013 ). Tiré de [http://enac.epfl.ch/files/content/sites/enac/files/shared/environnement/enseignement/design-project2013/32-Poster\\_Bodin\\_Larive.pdf](http://enac.epfl.ch/files/content/sites/enac/files/shared/environnement/enseignement/design-project2013/32-Poster_Bodin_Larive.pdf) .
- Boucher, D., Laffaire, J. B., Jaziri, F. et al. (2011). Bacterial Community Composition of Biological Degreasing Systems and Health Risk Assessment for Workers. *Microbial Ecology*, 62(4), 868-881.
- Bruckner, J. V., Anand, S. S. et Warren, D. A. (2013). Toxic Effects of Solvents and Vapors. Dans C. D. Klaassen (Édit.), *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons* (Eighth Edition<sup>e</sup> éd., p. 1031-1112). New York, NY: McGraw-Hill.

- Chester, D. et Rosenman, K. D. (2012). Fatal Exposure to Methylene Chloride Among Bathtub Refinishers - United States, 2000-2011. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 61(7), 119-122.
- Cowell, R. (2013). EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 9. Tiré de <http://purl.oclc.org/estimates>
- David, C. (2005). Évaluation des risques des fontaines de biodégradation des graisses. *Hygiène et sécurité du travail - Cahiers de notes documentaires*, 201, 73-79.
- David, C., Boucher, D., Duquenne, P. et al. (2009). Suivi de la flore microbiologique des fontaines de biodégradation des graisses. *Hygiène et sécurité du travail - Cahiers de notes documentaires*, 214, 25-35.
- Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N. et al. (2003). Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *The Annals of occupational hygiene*, 47(3), 187-200.
- Eduard, W., Heederik, D., Duchaine, C. et al. (2012). Bioaerosol exposure assessment in the workplace: the past, present and recent advances. *Journal of Environmental Monitoring*, 14(2), 334-339.
- Gilmore, M. S., Coburn, P. S., Nallapareddy, S. R. et al. (2002). Enterococcal virulence. Dans *The Enterococci* (p. 301-354): American Society of Microbiology.
- Gouvernement du Canada. (2013). *Loi sur les agents pathogènes humains et les toxines*. (L.C. 2009, ch. 24). Tiré de <http://laws.justice.gc.ca/fra/lois/H-5.67/>.
- Goyer, N., Lavoie, J., Lazure, L. et al. (2001). *Les bioaérosols en milieu de travail : guide d'évaluation, de contrôle et de prévention* (Guide technique T-23). Tiré de [www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/T-23.pdf](http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/T-23.pdf).
- Guillemin, C. et Lupin, H. (2008). *Réparation et entretien des véhicules automobiles*. (ED 755). Tiré de [www.inrs.fr/accueil/dms/inrs/CataloguePapier/ED/TI-ED-755/ed755.pdf](http://www.inrs.fr/accueil/dms/inrs/CataloguePapier/ED/TI-ED-755/ed755.pdf).
- Hintze, J. (2013). NCSS-NCSS Statistical Software. LLC. Kaysville, Utah, USA.: NSCC.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A. et al. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore, MD: Williams & Wilkins.
- Horn, H. S. (1966). Measurement of "Overlap" in Comparative Ecological Studies. *The American Naturalist* 100(914), 419:424.
- Kohli, R. (2013). Microbial Cleaning for Removal of Surface Contamination. Dans R. Kohli, Mittal, K.L. (Édit.), *Developments in Surface Contamination and Cleaning, Volume Six: Methods of Cleaning and Cleanliness Verification* (p. 139-161). Waltham, MA: William Andrew (Elsevier).
- Lavoie, J., Marchand, G., Cloutier, Y. et al. (2015). Evaluation of bioaerosol exposures during hospital bronchoscopy examinations. *Environmental Science Processes & Impacts*, 17(2), 288-299.
- Lemière, C., Cartier, A., Dolovich, J. et al. (1996). Isolated Late Asthmatic Reaction After Exposure to a High-Molecular-Weight Occupational Agent, Subtilisin. *Chest*, 110(3), 823-824.

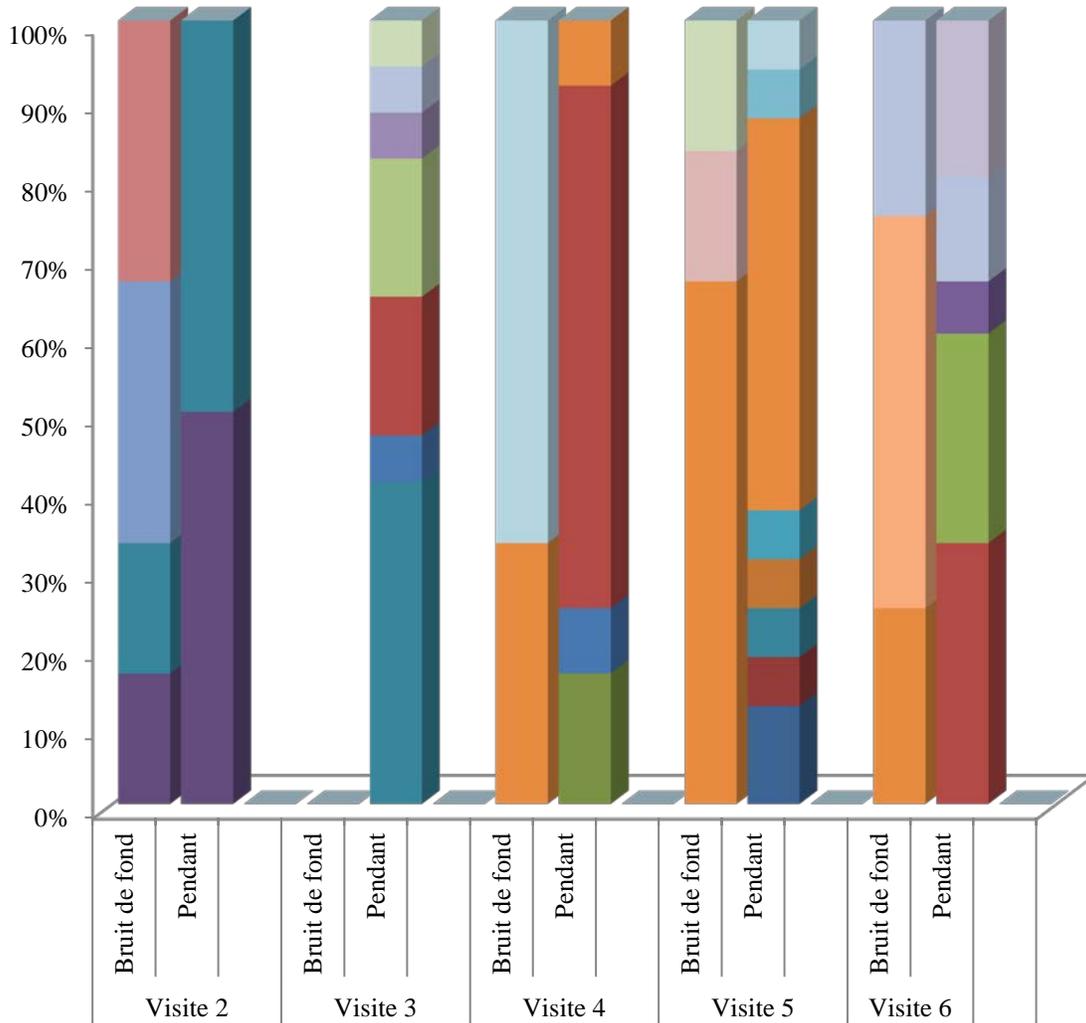
- Lipsky, B. A., Hook III, E. W., Smith, A. A. *et al.* (1980). Citrobacter Infections in Humans: Experience at the Seattle Veterans Administration Medical Center and a Review of the Literature. *Reviews in Infectious Diseases*, 2(5), 746-760.
- Marchand, G. (1996a). *Les endotoxines en milieu de travail* (Rapport B-049). Tiré de <http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/B-049.pdf?v=2017-08-14>.
- Marchand, G. (1996b). *Mise au point d'une méthode d'échantillonnage des microorganismes sur filtre de polycarbonate* (R-125). Tiré de <http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/R-125.pdf?v=2017-08-14>.
- Marchand, G. (2009). *Identification des bactéries cultivables* (Méthode analytique 341). Tiré de <https://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/M-341-NV.pdf>.
- Marchand, G. (2011). *Dénombrement des bactéries et moisissures cultivables de l'air prélevées sur filtre de polycarbonate* (Méthode analytique 368). Tiré de <http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/MA-368.pdf>
- Marchand, G., Cloutier, Y., Bonifait, L. *et al.* (2017). *Évaluation des bioaérosols et des composés gazeux émis lors des compostages de résidus agroalimentaires et résidentiels* (Rapport R-965). Tiré de <http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/R-965.pdf?v=2017-08-14>.
- McNally, T. (2011). It's Alive! Bioremediation enters parts cleaning's mainstream. *Process Cleaning*, 6(5), 14-19.
- Morisita, M. (1962). I  $\sigma$ -Index, a measure of dispersion of individuals. *Researches on Population Ecology*, 4(1), 1-7.
- Nelson, W. M. et Tkachenko, V. (2001). Putting Bioremediation to the Test. *CleanTech*, 1(2), 24-29.
- Nelson, W. M., Tkachenko, V., Delawder, T. *et al.* (2004). Enzymatic Microbial Degradation: In-Process Bioremediation of Organic Waste-Containing Aqueous Solvents. Dans *Agricultural Applications in Green Chemistry* (p. 141–157). Washington, DC: ACS Symposium Series, Volume 887. American Chemical Society.
- Ovchinnikova, O., Rozalski, A., Liu, B. *et al.* (2013). O-antigens of bacteria of the genus *Providencia*: structure, serology, genetics, and biosynthesis. *Biochemistry (Moscow)*, 78(7), 798-817.
- Pitt, T. L. et Simpson, A. J. H. (2006). *Pseudomonas and Burkholderia spp.* Dans S. H. Gillespie et P. M. Hawkey (Édit.), *Principles and Practice of Clinical Bacteriology* (p. 427-443). Chichester, UK: John Wiley & Sons.
- Rylander, R. (2006). Endotoxin and occupational airway disease. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 6(1), 62-66.
- Spring, S. (1974). *Industrial Cleaning*. Melbourne: Prism Press.
- TSI. (2010). *Model 3314 Ultraviolet Aerodynamic Particle Sizer<sup>®</sup> (UV-APS<sup>TM</sup>) Spectrometer User's Manuel*. Shoreview, MN: P/N 1933797, Revision H. TSI Incorporated.
- UL. (2016-05-04). *Standard for Sustainability for Cleaning and Degreasing Compounds: Biologically-based*. UL 2792. Underwriters Laboratories. Northbrook, IL.

Vézina, M., Cloutier, E., Stock, S. *et al.* (2011). *Enquête québécoise sur des conditions de travail, d'emploi et de santé et de sécurité du travail (EQCOTESST)* (Rapport R-691).  
Tiré de <http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/R-691.pdf>.

## ANNEXE A : PROPORTION DES MICROORGANISMES TROUVÉS DANS LES ÉCHANTILLONS D'AIR RÉCOLTÉS PAR L'IMPACTEUR ANDERSEN AVANT ET PENDANT L'UTILISATION DES BIOFONTAINES 1, 2, 3 ET 4

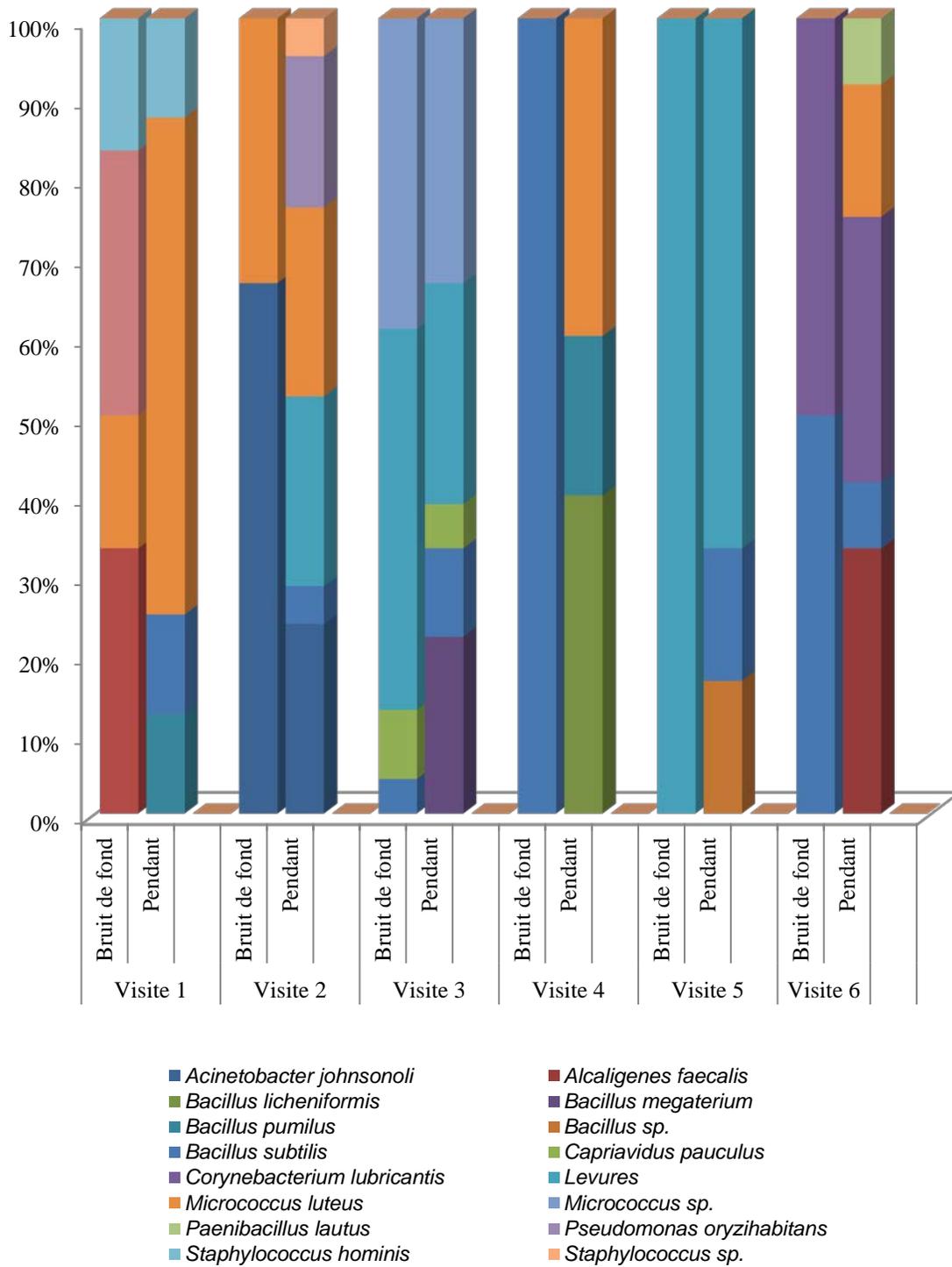


Biofontaine 1

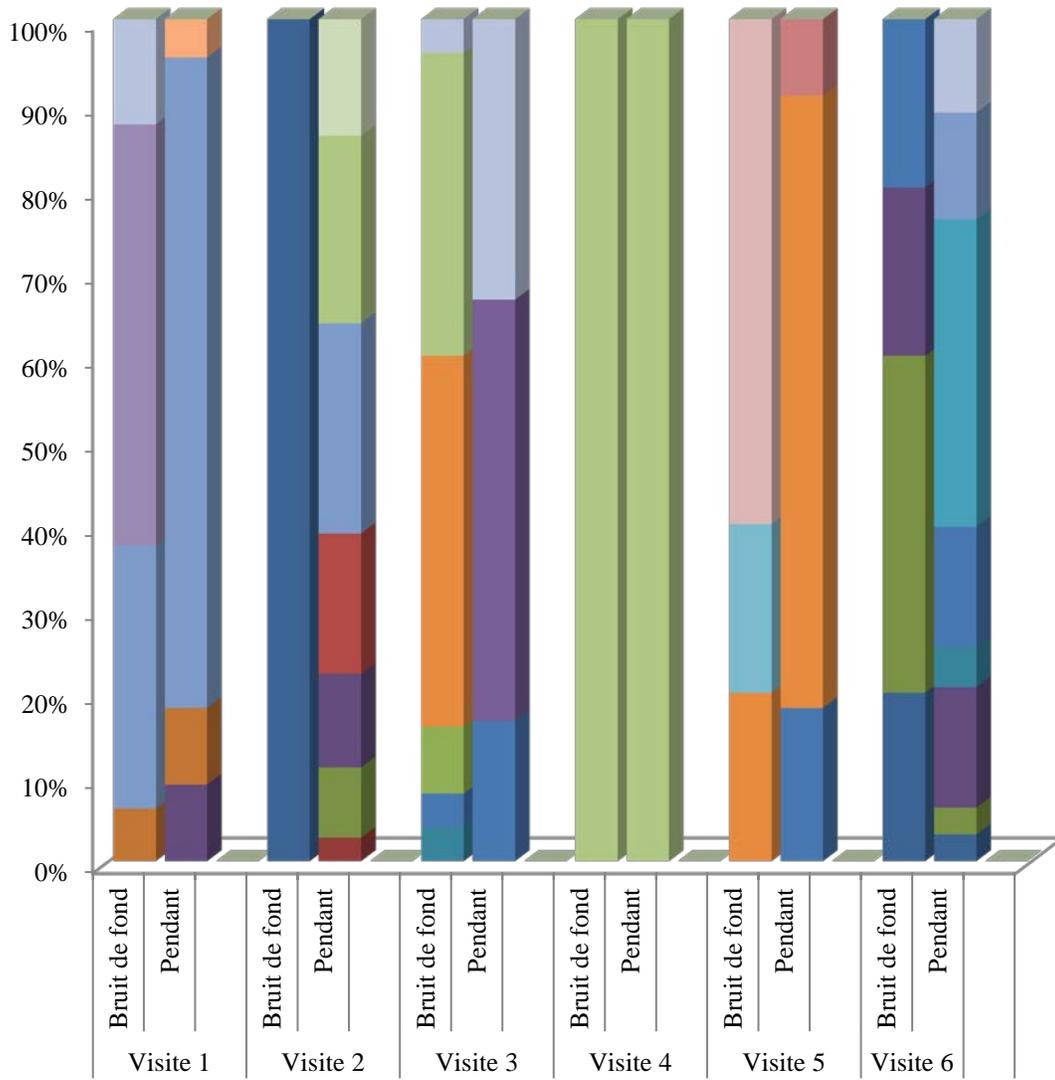


- *Acinetobacter lwoffii*
- *Bacillus longisporus*
- *Bacillus pumilus*
- *Klebsellia oxytoca*
- *Peanibacillus sp.*
- *Pseudomonas sp.*
- *Staphylococcus sciuri*
- *Arthrobacter sp.*
- *Bacillus megaterium*
- *Bacillus subtilis*
- *Micrococcus luteus*
- *Pseudomonas balearica*
- *Staphylococcus capitis*
- *Staphylococcus sp.*
- *Bacillus cereus*
- *Bacillus niacini*
- *Desemzia incerta*
- *Pantoea agglomerans*
- *Pseudomonas oleovorans*
- *Staphylococcus epidermidis*

Biofontaine 2



Biofontaine 3



- *Bacillus cereus*
- *Bacillus licheniformis*
- *Bacillus simplex*
- *Bacillus subtilis*
- *Capriavidus pauculus*
- *Comamonas terrigena*
- *Micrococcus luteus*
- *Micrococcus sp.*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus sp.*
- *Bacillus circulans*
- *Bacillus megaterium*
- *Bacillus sp.*
- *Brevibacillus sp.*
- *Citrobacter amalomaticus*
- *Levures*
- *Micrococcus lylae*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Staphylococcus hominis*
- *Staphylococcus warneri*

Biofontaine 4

## ANNEXE B : CONCENTRATIONS PARTICULAIRES MESURÉES AVEC L'UV-APS

Particule fluorescente									
Visite	Pendant l'utilisation				Bruit de fond				Ratio*
	Moyenne (#/cm3)	Écart-type (#/cm3)	min (#/cm3)	max (#/cm3)	Moyenne (#/cm3)	Écart-type (#/cm3)	min (#/cm3)	max (#/cm3)	
B1 - 1	0,17	0,29	0,02	1,46	0,06	0,06	0,03	0,20	2,83
B1 - 2	0,05	0,02	0,02	0,09	0,05	0,02	0,03	0,11	1,00
B1 - 3	0,06	0,02	0,03	0,11	0,05	0,01	0,03	0,07	1,20
B1 - 4	0,10	0,01	0,08	0,16	0,10	0,02	0,07	0,17	1,00
B1 - 5	0,05	0,01	0,04	0,08	0,05	0,01	0,03	0,06	1,00
B1 - 6	0,02	0,01	0,01	0,06	0,01	0,00	0,00	0,02	2,00
B2 - 1	0,18	0,29	0,01	1,14	0,04	0,02	0,01	0,06	4,50
B2 - 2	0,16	0,11	0,06	0,68	0,08	0,04	0,05	0,22	2,00
B2 - 3	0,14	0,07	0,08	0,34	0,10	0,01	0,08	0,12	1,40
B2 - 4	0,11	0,04	0,06	0,21	0,05	0,02	0,03	0,10	2,20
B2 - 5	0,19	0,15	0,05	0,77	0,03	0,02	0,01	0,08	6,33
B2 - 6	0,06	0,03	0,03	0,14	0,05	0,01	0,03	0,07	1,20
B3 - 1	0,06	0,02	0,04	0,12	0,05	0,01	0,03	0,08	1,20
B3 - 2	0,19	0,06	0,10	0,36	0,17	0,07	0,03	0,28	1,12
B3 - 3	0,08	0,02	0,05	0,14	0,06	0,02	0,00	0,08	1,33
B3 - 4	0,09	0,04	0,04	0,19	0,06	0,02	0,03	0,11	1,50
B3 - 5	0,13	0,05	0,04	0,21	0,39	0,26	0,06	0,86	0,33
B3 - 6	0,07	0,02	0,05	0,12	0,07	0,02	0,00	0,10	1,00
B4 - 1	0,14	0,10	0,06	0,55	0,14	0,05	0,06	0,21	1,00
B4 - 2	0,12	0,02	0,09	0,18	0,24	0,20	0,00	0,66	0,50
B4 - 3	0,13	0,05	0,06	0,22	0,07	0,01	0,05	0,11	1,86
B4 - 4	0,27	0,09	0,12	0,54	0,06	0,01	0,04	0,07	4,50
B4 - 5	0,05	0,03	0,01	0,13	0,01	0,01	0,00	0,05	5,00
B4 - 6	0,06	0,07	0,02	0,46	0,04	0,02	0,02	0,07	1,55
B5 - 1	2,93	1,90	0,51	6,86	0,26	0,10	0,20	0,57	11,27
B5 - 2	2,93	1,75	0,15	6,42	0,13	0,05	0,00	0,19	22,54
B5 - 3	2,52	1,03	0,09	4,29	0,10	0,04	0,00	0,16	25,20
B5 - 4	1,77	2,11	0,05	9,34	0,03	0,01	0,00	0,06	59,00
B5 - 5	1,23	1,87	0,02	6,81	0,13	0,21	0,01	0,56	9,46
B5 - 6	1,09	2,12	0,02	7,82	0,03	0,01	0,01	0,06	36,33

\* Quotient de la moyenne de l'intervention sur la moyenne du bruit de fond

Particule non fluorescente									
Visite	Pendant l'utilisation				Bruit de fond				Ratio*
	Moyenne (/cm3)	Écart-type (/cm3)	min (/cm3)	max (/cm3)	Moyenne (/cm3)	Écart-type (/cm3)	min (/cm3)	max (/cm3)	
B1 - 1	10,02	19,25	0,44	75,39	0,97	0,45	0,46	1,45	10,33
B1 - 2	7,73	2,79	2,50	12,51	5,68	3,55	1,81	12,70	1,36
B1 - 3	4,12	0,27	3,53	4,75	4,02	0,25	3,63	4,52	1,02
B1 - 4	4,63	0,12	4,39	4,94	5,94	1,68	4,75	11,18	0,78
B1 - 5	2,45	0,09	2,29	2,60	2,60	0,15	2,25	2,80	0,94
B1 - 6	2,03	0,16	1,81	2,41	2,38	0,44	1,74	3,07	0,85
B2 - 1	1,45	0,61	1,01	3,31	1,26	0,22	0,91	1,95	1,15
B2 - 2	7,10	2,00	5,37	13,10	7,92	3,12	5,71	15,09	0,90
B2 - 3	5,20	1,82	3,49	10,21	4,17	0,84	3,39	6,96	1,25
B2 - 4	4,11	0,26	3,73	4,69	3,28	0,47	2,49	4,12	1,25
B2 - 5	3,20	0,56	2,61	5,66	3,00	0,19	2,61	3,41	1,07
B2 - 6	3,33	0,39	2,95	4,58	3,30	0,19	2,98	3,65	1,01
B3 - 1	2,63	0,36	1,98	3,11	1,80	0,18	1,51	2,07	1,46
B3 - 2	4,87	0,64	3,90	6,66	5,54	0,54	5,03	7,16	0,88
B3 - 3	6,13	0,79	5,07	8,05	6,86	0,66	5,80	7,86	0,89
B3 - 4	5,38	0,73	4,36	6,91	4,90	0,40	4,06	5,96	1,10
B3 - 5	4,23	0,75	3,23	5,63	4,70	0,60	3,75	5,97	0,90
B3 - 6	5,36	0,55	4,45	6,27	6,25	0,63	4,59	7,24	0,86
B4 - 1	4,37	0,41	3,79	5,57	4,73	0,42	4,09	5,34	0,92
B4 - 2	3,63	0,41	3,07	4,61	7,61	4,32	3,18	16,64	0,48
B4 - 3	6,32	1,48	4,03	8,84	4,70	1,25	3,82	6,98	1,34
B4 - 4	4,52	0,59	3,72	6,07	3,96	0,99	2,67	5,80	1,14
B4 - 5	8,79	1,56	6,42	12,96	7,95	1,42	5,92	10,53	1,11
B4 - 6	15,60	2,22	13,01	26,48	14,90	1,91	12,09	17,26	1,05
B5 - 1	67,25	31,39	26,72	126,5	20,5	2,5	18,6	28,3	3,28
B5 - 2	79,19	37,37	17,04	147,7	14,5	1,2	12,0	16,3	5,48
B5 - 3	67,65	23,65	4,46	107,2	5,7	0,7	4,3	6,6	11,87
B5 - 4	44,59	24,75	15,55	127,6	12,9	1,8	9,3	15,6	3,46
B5 - 5	42,63	40,09	8,68	156,9	18,6	10,4	10,8	40,8	2,29
B5 - 6	45,35	56,50	6,38	195,2	9,9	2,3	6,3	13,2	4,56

\* Quotient de la moyenne de l'intervention sur la moyenne du bruit de fond

## ANNEXE C : CONCENTRATIONS DES PARTICULES FLUORESCENTES ET NON FLUORESCENTES MESURÉES DURANT L'UTILISATION DES BIOFONTAINES

