

CONTAMINATION DES FLUIDES DE COUPE AQUEUX ET PRÉVENTION DES RISQUES BIOLOGIQUES

- Fluide de coupe
- Risque biologique
- Micro-organisme
- Bactérie
- Champignon
- Mycobactérie
- Endotoxine
- Contamination

► *Christine DAVID,*
INRS, département Expertise et conseil technique

À la mémoire de Marianne MIKOLAJCZAK.

CONTAMINATION OF AQUEOUS METALWORKING FLUIDS AND BIOLOGICAL RISK PREVENTION

Cutting fluids are used in metalworking processes. Various pathologies, often associated with cutting fluid chemical compounds, have been observed in their users. Cutting fluids are colonised by micro-organisms, potentially causing a biological risk for operators. This paper describes in detail microorganism development mechanisms, lists the main biological agents identified in fluids and reports their possible implication in pathologies observed in operators. Finally, maintenance and prevention measures are recommended for combating biological agent proliferation in metalworking fluids.

- Cutting fluid
- Biological risk
- Microorganism
- Bacterium
- Fungus
- Mycobacterium
- Endotoxin
- Contamination

Les fluides de coupe sont utilisés dans les procédés d'usinage des métaux. Différentes pathologies souvent liées aux composants chimiques des fluides ont été observées chez leurs utilisateurs. Or, les fluides de coupe sont colonisés par des micro-organismes qui pourraient présenter un risque biologique pour les opérateurs. Cet article explicite les mécanismes de développement des micro-organismes, répertorie les principaux agents biologiques identifiés dans les fluides de coupe et rapporte leur éventuelle implication dans des pathologies observées chez les opérateurs. Des mesures de maintenance et de prévention sont enfin recommandées pour lutter contre la prolifération des agents biologiques dans les fluides de coupe.

Les fluides de coupe (FDC) sont des liquides appliqués par arrosage pour refroidir, lubrifier la partie active des outils de machines usinant les métaux et faciliter l'évacuation des matériaux enlevés (cf. *Figure 1*). Il peut s'agir d'opérations d'enlèvement (tour à décolleter, rectifieuse, fraiseuse, perceuse...) ou de déformation de métaux (presse d'emboutissage, machine à rétreindre...) [1]. L'utilisation des FDC génère des aérosols ou brouillards autour de la machine, ce qui peut entraîner des effets néfastes pour les opérateurs.

FIGURE 1

Utilisation d'un fluide de coupe lors de l'usinage d'une pièce
Cutting fluid usage during part machining



Il existe différentes catégories de FDC comme le montre le *Tableau 1*. Leurs formulations comportent de nombreux additifs ayant notamment comme objectif d'augmenter les propriétés lubrifiantes, de faciliter la coupe, de limiter l'usure de l'outil, la corrosion, la formation de brouillard et le développement des micro-organismes pouvant coloniser les fluides aqueux [1].

En effet, la multiplication des micro-organismes dans les FDC aqueux

entraîne une baisse de performance des fluides, mais peut également présenter un risque pour le salarié si ces micro-organismes s'avèrent pathogènes¹. Ce document a pour but de faire un état des lieux des connaissances sur les micro-organismes identifiés dans les FDC aqueux, leur éventuelle implication dans des pathologies et les mesures à adopter pour la prévention des risques biologiques.

¹ Pathogène : pouvant entraîner une maladie.

MICRO-ORGANISMES DANS L'ENVIRONNEMENT

QUE SONT LES MICRO-ORGANISMES ?

Les micro-organismes sont des êtres vivants dont la taille est de l'ordre du micromètre ou de la dizaine de micromètres. On distingue les bactéries, les champignons microscopiques (comprenant les moisissures et les levures), les virus ou encore les protozoaires (comme les amibes) [2]. Les micro-organismes identifiés dans les FDC sont, dans un ordre décroissant de fréquence, les bactéries, les moisissures puis les levures.

Les bactéries sont des cellules isolées, de 1 à 10 micromètres, de formes variées : bâtonnets (appelés bacilles), sphères (appelées coques), spirales, etc. Les bactéries sont enveloppées d'une paroi extérieure dont la composition chimique peut varier. Ces différentes compositions peuvent être visualisées au microscope grâce à Christian Gram, qui mit au point, en 1884, une coloration différentielle encore largement utilisée de nos jours. Cette coloration de Gram divise les bactéries en deux classes : les bactéries Gram négatif (Gram-) et les bactéries Gram positif (Gram+). Les parois des bactéries Gram- contiennent des lipopolysaccharides qui se détachent lors de la division de la cellule ou à la mort de celle-ci. Lorsque ces lipopolysaccharides, appelés endotoxines, sont inhalés, ils peuvent entraîner des affections respiratoires chez l'homme (bronchite chronique, asthmes...).

Les champignons microscopiques peuvent être plus grands que les bactéries et atteindre une centaine de micromètres. Les moisissures sont des cellules associées en filaments, pouvant produire des spores qui voyagent facilement dans l'air et contribuent à leur dissémination dans l'environnement. Les colonies de moisissures, visibles à l'œil nu, présentent un aspect duveteux. Par contre, les levures sont des cellules isolées, dont les colonies visibles à l'œil nu présentent un aspect lisse.

Ces micro-organismes sont désignés par leur nom de genre (avec une majuscule) suivi de leur nom d'espèce, comme par exemple *Legionella pneumophila* pouvant être abrégé en *L. pneumo-*

TABLEAU I

Présentation générale des FDC [1]
General presentation of metalworking fluids

Famille	Catégorie	Constituants type
Fluides non aqueux (non traités dans cet article)	Huiles entières	Huiles d'origine minérale ou végétale
	Hydrocarbures de synthèse (rares)	Alkylats benzéniques
Fluides aqueux	Émulsions	Émulsions d'huile minérale ou végétale relativement grossières (aspect laiteux), stabilisées par un émulateur
	Micro-émulsions (fluides semi-synthétiques)	Émulsions très fines (aspect opalescent) obtenues par un renforcement de l'émulateur ²
	Solutions vraies (fluides synthétiques)	Solutions aqueuses d'additifs hydrosolubles (aspect transparent)

phila. Legionella sp. désigne une espèce quelconque du genre *Legionella* et *Legionella spp.*, plusieurs espèces de ce genre.

LES MICRO-ORGANISMES SONT PRÉSENTS PARTOUT

Les micro-organismes peuvent vivre partout : dans l'environnement (l'eau, le sol, les plantes) comme chez l'homme et les animaux. Dans l'environnement, les micro-organismes sont à la base des chaînes alimentaires grâce à leur aptitude à dégrader les matières organiques et inorganiques. Chez l'homme et les animaux, ils vivent naturellement sur la peau ou dans le corps (par exemple, la bouche ou le tube digestif). Les micro-organismes sont indispensables à la vie et, le plus souvent, non pathogènes. Chez l'homme, certains micro-organismes peuvent cependant provoquer des infections, des allergies, des intoxications... Le code du travail distingue quatre niveaux de risque infectieux, notés de 1 à 4, et donne une liste non exhaustive d'agents biologiques appartenant aux groupes 2, 3 et 4 [3].

Comme tous les êtres vivants, les micro-organismes se multiplient lorsqu'ils ont trouvé un milieu adéquat leur fournissant suffisamment de nourriture ainsi qu'une température et une hygrométrie favorables. La présence d'oxygène n'est pas toujours un facteur limitant pour eux, certains pouvant être aérobies (avoir besoin d'oxygène pour vivre), mais d'autres anaérobies (ne pas avoir besoin d'oxygène).

Chaque espèce se développe de façon optimale dans un environnement défini, mais peut tolérer une certaine variabilité de son milieu en s'adaptant rapidement. Par exemple, chaque micro-organisme se caractérise par un pH optimum de croissance mais peut se développer dans une gamme définie de pH. Ainsi, la plupart des bactéries se développent à des pH de 5,5 à 8 et la plupart des champignons à des pH plus acides autour de 4 - 6. De même, l'échelle de température permettant la croissance d'un micro-organisme donné, s'étend généralement sur environ 30 degrés. La majorité des bactéries pousse à des températures comprises entre 20 et 45°C, ainsi que pratiquement tous les agents pathogènes pour l'homme. L'hygrométrie est une caractéristique sensible pour toutes les bactéries qui ont besoin d'humidité pour vivre (humidité relative allant de 75 % à 100 %) [4].

Ces préférences thermiques et hygrométriques expliquent les variations de concentration des micro-organismes de l'environnement selon la saison (développement plus important en été qu'en hiver) ou selon la zone géographique.

Il est également possible de trouver des micro-organismes dans les milieux les plus extrêmes. Certaines bactéries poussent à - 20°C, d'autres à + 110°C, d'autres encore à des pH de 0,5 ou 11,5. Une bactérie appelée *Deinococcus radiodurans* résiste même à 1 000 fois la dose radioactive mortelle pour l'homme.

² Émulateur : produit facilitant la formation d'émulsions.

DYNAMIQUE DES POPULATIONS DE MICRO-ORGANISMES

Une fois les micro-organismes adaptés à leur milieu, leur vitesse de multiplication peut être extrêmement rapide : certaines bactéries doublent leur population en 10 à 40 minutes. Toutefois, leur croissance peut être stoppée en l'absence d'apport nutritif ou, même si ces apports sont suffisants, la croissance rapide des micro-organismes peut très vite les épuiser ; sans compter qu'ils peuvent libérer des produits toxiques qui limiteront toute croissance ultérieure.

Tout comme chez les animaux, la compétition pour la conquête des territoires existe chez les micro-organismes. De façon théorique, si l'onensemence un milieu stérile avec plusieurs souches bactériennes, la bactérie la mieux adaptée va conquérir le milieu au détriment des autres. Une fois le milieu colonisé par des millions de bactéries issues de la bactérie de départ, un micro-organisme extérieur aura des difficultés à s'y développer, à moins qu'il ne soit encore mieux adapté au milieu que les bactéries indigènes.

Dans un milieu complexe, plusieurs populations microbiennes peuvent cohabiter. Ceci s'observe dans les biofilms composés de populations variées (bactéries, protozoaires...) vivant en couches superposées accolées aux rugosités des surfaces (canalisations d'eau, par exemple). Les populations microbiennes superficielles protègent physiquement les populations sous-jacentes. D'autre part, des bactéries peuvent trouver refuge dans des cellules plus grandes telles que les protozoaires, comme c'est le cas des légionelles envahissant les amibes et profitant de leur résistance aux biocides³. Des échanges s'instaurent également entre populations : certaines libèrent des produits de dégradation dont se nourrissent les autres, certaines libèrent des produits toxiques tuant les autres. Au final, un équilibre s'installe permettant le maintien d'une flore microbienne variée à une concentration stable.

Les interactions entre populations microbiennes jouent également un rôle dans la résistance aux biocides. En effet, une bactérie peut posséder des gènes lui permettant de résister à un biocide. Ces gènes peuvent être transmis à ses cellules filles, mais parfois également

à d'autres espèces. De ce fait, il suffit qu'une seule bactérie ait survécu à un biocide trop faiblement concentré, pour qu'elle recolonise rapidement son milieu. Celui-ci est alors envahi par des bactéries ayant un niveau de résistance supérieur à la population de départ. Pour éliminer cette nouvelle population, il faut utiliser une concentration de biocide supérieure à celle du premier traitement. Si, à nouveau, la concentration n'est pas suffisante, il apparaît une troisième population encore plus résistante. C'est ainsi que se créent des souches résistantes et c'est pourquoi il est important de respecter les concentrations indiquées qui sont étudiées pour tuer tous les micro-organismes ciblés.

CONTAMINATION DES FLUIDES DE COUPE

MICRO-ORGANISMES DANS LES FLUIDES

Depuis de nombreuses années, des études ont montré la présence de micro-organismes dans les FDC et leur rôle actif dans la dégradation des fluides, la corrosion des matériaux des machines et des pièces usinées. Connaissant les conditions nécessaires à la croissance des micro-organismes, il est naturel de les retrouver dans ces milieux de culture que constituent les FDC. Les micro-organismes y trouvent, en effet, des éléments nutritifs apportés par les hydrocarbures, une température ambiante de l'atelier correspondant à leur gamme de température optimale, une hygrométrie suffisante dans les fluides aqueux, ainsi qu'un pH autour de 8-9 qu'ils tolèrent parfaitement.

Il s'agit principalement de bactéries, mais des champignons microscopiques peuvent également se développer. Ces derniers entraînent des dommages importants en s'agglomérant et colmatant les filtres et les orifices.

LES CHAMPIGNONS MICROSCOPIQUES

Les moisissures et les levures ne sont pas les contaminants principaux des FDC mais ont tout de même été identifiés dans les émulsions de fluide aqueux. Des levures du genre *Candida* ont été identifiées et les principales

moisissures retrouvées dans des émulsions appartiennent au genre *Fusarium* [5]. Ces moisissures sont également retrouvées dans des fluides synthétiques. Cependant, d'après le NIOSH⁴, il n'a été relevé à ce jour aucune maladie liée à la présence des moisissures dans les FDC [6].

LA FLORE BACTÉRIENNE TOTALE

L'IRSST⁵ a étudié la flore bactérienne des FDC aqueux utilisés dans 3 usines différentes. Après ensemencement des FDC sur milieu de culture, ils ont pu cultiver des bactéries aérobies dont les concentrations s'élevaient à 10⁶ voire 10⁹ UFC⁶/ml. Ce chiffre sous-estime la quantité totale de micro-organismes, étant donné que tous ne poussent pas après mise en culture [7]. D'autres études ont cherché à identifier les espèces des micro-organismes présents dans les fluides et à comprendre les interactions entre ces populations. Par exemple, une étude américaine a identifié dans des émulsions, une flore très variée comportant essentiellement des bactéries Gram- (cf. *Tableau II-a - p 40*) [8].

LES PSEUDOMONAS

En Suède, l'analyse d'une cuve de 150 m³ contenant une émulsion de fluide aqueux, a montré que le principal contaminant était la bactérie *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (>10⁸ UFC/ml), connue pour sa capacité à dégrader une variété d'hydrocarbures. Cette bactérie représentait 80 à 90 % de la flore totale s'élevant à 10⁸ - 10⁹ UFC/ml et comptant de nombreuses espèces bactériennes (cf. *Tableau II-b - p 40*) [5].

Les mêmes chercheurs ont montré que la concentration de la flore des fluides aqueux synthétiques pouvait atteindre 10⁵ - 10¹⁰ UFC/ml et qu'elle était dominée par les bactéries *P. pseudoalcaligenes* et *Corynebacterium sp.* (cf. *Tableau II-c - p 40*). Cette dernière semble plus adaptée aux fluides synthé-

³ Biocide : produit pouvant tuer les organismes nuisibles, nocifs ou gênants tels que les micro-organismes.

⁴ NIOSH : National institute for occupational safety and health (USA).

⁵ IRSST : Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (Canada).

⁶ UFC : unité formant colonie.

tiques, comme le montre l'augmentation de la concentration de *Corynebacterium* lorsqu'une émulsion est remplacée par un fluide synthétique [5].

Des études américaines sur d'autres micro-émulsions contenant une flore à 10^6 - 10^7 UFC/ml ont identifié un total de 18 espèces bactériennes différentes, dont 12 Gram- (cf. *Tableau II-d - p 40*). Les bactéries les plus communément identifiées dans ces FDC appartiennent, une fois encore, au genre *Pseudomonas* [9]. Le NIOSH confirme que le genre le plus communément isolé des FDC est *Pseudomonas* (*P. aeruginosa* et *P. oleovorans*). Des genres *Salmonella*, *Staphylococcus* et *Legionella* sont également isolées des FDC, mais la plupart sont non pathogènes ou opportunistes⁷ [6]. Selon l'IRSST, aucune pathologie liée aux *Pseudomonas* n'a été notée chez les utilisateurs de FDC aqueux [7].

LES LÉGIONELLES

Des chercheurs ont montré la présence de légionelles dans les FDC. Ces bactéries se développeraieent davantage dans les fluides aqueux, en présence d'une flore bactérienne préexistante importante [10]. Par ailleurs, des cas de légionelloses ont été observés chez les opérateurs de machines d'une entreprise dans laquelle des FDC étaient contaminés par *Legionella pneumophila* [11]. L'ensemencement en laboratoire d'un FDC stérile par *L. pneumophila* a montré que cette bactérie ne se multipliait pas, mais au contraire régressait. Toutefois, cette étude ne tenait pas compte de la flore variée naturellement présente dans les FDC, flore qui peut participer à la croissance de *L. pneumophila* [12].

LES MYCOBACTÉRIES

En Amérique du nord, des études sur des FDC ont montré la présence de mycobactéries (*Mycobacterium spp.*) à croissance rapide dans de nombreuses émulsions mais, plus rarement, dans les micro-émulsions. Cette bactérie a été identifiée à des concentrations de 10^2 à 10^7 UFC/ml [13]. Des techniques de biologie moléculaire ont permis de classer cette nouvelle souche de mycobactérie à croissance rapide. Il s'agit de *Mycobacterium immunogenum* proche de *Mycobacterium abscessus* et *Mycobacterium chelonae* [14]. En fait, la recherche de *Mycobacterium* dans une centaine de FDC géographi-

quement dispersés en Amérique du nord, a permis d'isoler 13 souches de ce genre. Des techniques de biologie moléculaire ont mis en évidence 6 souches de l'espèce *M. immunogenum* et 7 de l'espèce *M. chelonae* [15]. D'autres études américaines ont isolé des mycobactéries dans des FDC aqueux de plusieurs sites où ont été diagnostiquées des pneumopathies d'hypersensibilité⁸ chez les opérateurs. 95 % de ces souches ont été identifiées comme appartenant à l'espèce *M. immunogenum*. Par ailleurs, une souche de *M. immunogenum* a été isolée chez des patients souffrant de pneumopathie d'hypersensibilité. En comparant la souche des patients et celle isolée dans les FDC, il s'avère que ces souches ont des profils génétiques identiques [16].

LES ENDOTOXINES

Les fluides sont majoritairement contaminés par des bactéries Gram- qui sont à l'origine de la production d'endotoxines. Des chercheurs ont mesuré la concentration moyenne des endotoxines dans les fluides synthétiques. Elle s'élève à 26 000 UE⁹/ml [17], voire à 87 000 UE/ml lorsque la concentration moyenne des bactéries totales dans les fluides synthétiques s'élève à 10^7 UFC/ml [18].

SUIVI DE LA FLORE DANS LE TEMPS

Le suivi de la flore bactérienne dans le temps a montré que les émulsions étaient colonisées en premier lieu par *P. pseudoalcaligenes*, puis par des bactéries Gram- de la famille des entérobactéries¹⁰. En fait, *P. pseudoalcaligenes* est capable de coloniser les émulsions de fluide aqueux dans lesquelles elle trouve ses éléments nutritifs indispensables, même si les FDC sont additionnés de biocide. En effet, cette bactérie neutralise les biocides et synthétise des produits de dégradation servant d'éléments nutritifs. Elle ouvre ainsi la voie à la colonisation des entérobactéries [5].

Cette variation de la flore peut être observée en suivant l'évolution du pH du fluide aqueux. Aussi longtemps que la bactérie *P. pseudoalcaligenes* est majoritaire, le pH du fluide reste stable, mais il chute à l'apparition des entérobactéries qui rejettent des produits de dégradation acides [5].

Des études françaises sur 150 émulsions ont également démontré le rôle indispensable de certaines *Pseudomonas* dans la colonisation des FDC par les bactéries pouvant atteindre 10^6 - 10^7 UFC/ml. *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas fluorescens* ont été identifiées comme les premiers contaminants des FDC contenant du formaldéhyde. Si ce biocide se trouve à une concentration trop faible, les *Pseudomonas* peuvent devenir résistantes et le dégrader. D'autres bactéries apparaissent alors telles *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*, isolées dans 17 % des FDC étudiés (cf. *Tableau II-e - p 40*). Or, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* ne peuvent normalement pas survivre seules dans un FDC stérile contenant un biocide. Leur présence dans un fluide additionné de biocide, montre que ce dernier a bel et bien été dégradé par d'autres bactéries présentes avant elles [19].

SUIVI DE LA FLORE APRÈS OPÉRATION DE NETTOYAGE

D'autres chercheurs ont suivi l'évolution de la flore totale dans les fluides aqueux après vidange, nettoyage et changement de fluide. Les prélèvements microbiologiques effectués sur le nouveau fluide ont révélé une contamination rapide après sa mise en circulation, pour atteindre une concentration bactérienne de 10^3 UFC/ml au bout de 12 h [20]. Ce nouveau fluide a été colonisé par les bactéries encore présentes après les opérations de nettoyage. En effet, la vidange de la cuve n'a pas pu être totale du fait de la conception, le nettoyage au jet d'eau haute pression n'a pu se faire sur les parties inaccessibles comme les canalisations, enfin la solution détergente/désinfectante n'a pu atteindre toutes les bactéries. Les bactéries protégées dans les biofilms résistent effectivement mieux aux biocides que les bactéries en suspension dans les fluides [5].

⁷ Opportuniste : agent biologique normalement non pathogène, mais qui peut le devenir suite à une baisse des défenses immunitaires.

⁸ Pneumopathie d'hypersensibilité : affection respiratoire liée à une réaction d'hypersensibilité déclenchée par l'inhalation de particules.

⁹ UE : unité d'endotoxine.

¹⁰ Entérobactéries : famille de bacilles Gram-, pouvant se trouver dans l'environnement ou chez l'homme.

MICRO-ORGANISMES DANS LES AÉROSOLS

Lorsque les machines fonctionnent, elles génèrent des aérosols de FDC dans l'atmosphère de travail. Les micro-organismes présents dans les FDC se retrouvent dans les aérosols alors appelés bioaérosols. Des expériences de laboratoire montrent que la concentration des micro-organismes dans l'air augmente proportionnellement avec la concentration des micro-organismes dans les fluides [21]. La concentration des micro-organismes dans l'air est également proportionnelle au nombre de machines dans l'atelier, à l'augmentation de la température et de l'humidité relative [5].

La survie des micro-organismes dans les bioaérosols dépend du type de micro-organisme et des conditions atmosphériques. Certaines études montrent, par exemple, que les bactéries Gram- présentes dans les aérosols seraient plus sensibles à la température et l'humidité et mourraient plus vite que les bactéries Gram+ [5]. Une grande partie des pathologies respiratoires liées aux aérosols de FDC semble être due aux micro-organismes contaminants [22]. Par exemple, en 2006, des chercheurs ont suggéré que les bioaérosols de fluides aqueux avaient joué un rôle dans l'apparition d'alvéolites allergiques extrinsèques chez 12 travailleurs exposés aux FDC dans une usine automobile [23].

La mesure des bioaérosols complète celle des aérosols de fluide totaux, comme le montre l'étude faite dans une usine américaine dans laquelle des opérateurs, travaillant en présence de FDC aqueux, avaient développé des pneumopathies d'hypersensibilité. La mesure des aérosols de fluide totaux dans l'environnement des machines s'élevait à 0,09 mg/m³ (inférieure à la limite d'exposition de 0,5 mg/m³ recommandée par le NIOSH et l'INRS). En revanche, la mesure de bioaérosols mettait en évidence la présence d'endotoxines (16 600 UE/m³), de bactéries (930 UFC/m³) et de champignons (390 UFC/m³) [8]. Les concentrations de micro-organismes doivent être interprétées en gardant à l'esprit que la technique de culture sous-estime grandement le nombre de bactéries viables. De même, la comparaison des résultats est toujours délicate étant donné que les

techniques de prélèvement des aérosols et de mise en culture diffèrent d'une étude à l'autre.

Dans une autre étude, la mesure des bioaérosols présents à 50 cm d'une source contenant un FDC a mis en évidence une concentration de bactéries totales pouvant s'élever de 10⁴ à 2.10⁵ UFC/m³ [5]. D'autres chercheurs ont caractérisé les bioaérosols autour de machines utilisant des FDC et ont révélé un haut niveau de bactéries Gram- (500 à 4 200 UFC/m³) de genres variés (cf. *Tableau II-f - p 40*) [24]. Ces mêmes chercheurs ont diagnostiqué chez les opérateurs, des pathologies professionnelles (comme des pneumopathies d'hypersensibilité, des asthmes ou des bronchites) sans pouvoir identifier avec certitude le micro-organisme responsable de chaque cas observé.

Des études suédoises ont quantifié la contamination de l'air par les micro-organismes des FDC en fonction de l'éloignement de la machine. Ainsi, en passant de 0,5 à 3 mètres de la machine, la concentration de *P. pseudoalcaligenes* diminue de 35 000 à 780 UFC/m³ et celle d'*Aerococcus viridans* diminue de 390 à 130 UFC/m³ [5]. D'autres études montrent que l'air ambiant, à 25 cm d'émulsions contenant 10⁴ - 10¹⁰ UFC/ml, contient 182 à 8 308 UFC de bactéries totales par mètre cube. La concentration en bioaérosols chute d'un facteur 13, lorsque l'on s'éloigne à 9 m des machines [25].

D'autres auteurs se sont appliqués à identifier des micro-organismes et des endotoxines dans l'air et à caractériser l'exposition des opérateurs travaillant dans cet environnement.

LES PSEUDOMONAS

En posant des capteurs individuels d'aérosols sur les travailleurs utilisant des FDC, des chercheurs ont mesuré des concentrations bactériennes allant de 2.10³ à 1.10⁵ UFC/m³. Parmi ces bactéries présentes dans l'air, ils ont isolé *Pseudomonas fluorescens*, également présente dans les FDC. À l'aide de marqueurs sanguins, ils ont montré que ces opérateurs ont bien été exposés à cette bactérie [26].

LES LÉGIONELLES

En 1981, 317 travailleurs d'une usine canadienne ont présenté des fièvres de Pontiac. La bactérie *Legionella feeleii* a été parallèlement isolée dans un FDC aqueux. Les aérosols du FDC où a été isolée *L. feeleii* ont été suspectés d'être à l'origine de l'apparition des cas de fièvres de Pontiac. Entre autres mesures de prévention, l'ajout de biocide pour contrôler la flore totale a permis de limiter le développement des *Legionella* [27].

LES MYCOBACTÉRIES

En 2001, des analyses de FDC dans une usine américaine, ont mis en évidence la présence majoritaire de *Mycobacterium immunogenum* à une concentration de 10⁶ UFC/ml. Les auteurs ont suggéré que l'exposition à des bioaérosols contenant *M. immunogenum* pouvait contribuer à l'apparition de pneumopathies d'hypersensibilité observée chez certains travailleurs utilisant des FDC [28]. Des expériences de laboratoire sur des souris tendent, en effet, à montrer l'implication de *M. immunogenum* dans des pathologies respiratoires de ce type [29, 30].

LES ENDOTOXINES

Des mesures d'endotoxines dans l'air environnant les machines révèlent des concentrations variant entre 0,4 et 6 000 UE/m³, alors que ces endotoxines atteignent des concentrations de 0,3 à 250 000 UE/ml dans les FDC [31]. D'autres chercheurs ont évalué la valeur moyenne des endotoxines dans l'air à 680 UE/m³, sachant que des concentrations ont pu atteindre 28 700 UE/m³ [18]. Or, des expériences menées en laboratoire sur des rats et des cochons d'Inde montrent que les endotoxines déclencheraient, en association avec d'autres facteurs, des réponses inflammatoires. Par extrapolation, les chercheurs suggèrent que les endotoxines pourraient jouer un rôle dans le déclenchement des pneumopathies d'hypersensibilité observées chez les opérateurs travaillant avec les FDC [32, 33].

Toutes ces études ont mis en évidence la grande diversité des micro-organismes pouvant coloniser les FDC et se retrouver dans les bioaérosols. Certaines identifient quelques germes classés dans le groupe de risque infectieux 2

(cf. Tableau II - p 40) : *Corynebacterium spp.*, *Enterobacter spp.*, *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*. Toutefois, peu d'études ont établi un lien entre l'exposition aux micro-organismes des FDC et le développement de pathologies chez les opérateurs.

Les FDC constituent des réservoirs de micro-organismes auxquels peuvent être exposés les opérateurs. La première mesure de prévention consiste à agir sur ce réservoir en contrôlant les micro-organismes des FDC.

SURVEILLANCE DES FLUIDES DE COUPE

Les FDC doivent être surveillés régulièrement afin de limiter la prolifération des micro-organismes et l'exposition des salariés. Les examens, le plus souvent rapides, indiqués ci-dessous permettent de maintenir les caractéristiques du fluide et de prévenir les risques pour les opérateurs.

OBSERVATION DU FLUIDE DE COUPE

La simple observation du FDC (cf. Encadré 1) permet de détecter l'éventuelle contamination du fluide aqueux en service. En effet, les FDC aqueux neufs ne dégagent pas d'odeurs désagréables et présentent un aspect clair (fluides synthétiques) à laiteux (émulsions) [34].

ENCADRÉ 1

Observation des FDC [34]

1) Prélever, dans une bouteille de verre propre, un échantillon de FDC en circulation.

Un FDC sale dégageant une odeur désagréable permet de soupçonner une contamination microbienne.

2) Laisser reposer l'échantillon pendant une heure, de préférence à 60°C, puis observer son aspect :

- Une odeur d'œuf pourri caractéristique d' H_2S et la présence d'huile en surface du bain témoignent d'un développement de micro-organismes anaérobies (odeur caractéristique du « lundi matin »).
- Une couleur gris bleu et une odeur marquée très désagréable sont caractéristiques d'une prolifération de micro-organismes aérobies.

SURVEILLANCE DU pH

Les émulsions et fluides synthétiques ont généralement des pH compris entre 8 et 9. L'évaluation du pH peut se faire rapidement sur le site à l'aide de papier pH ou au laboratoire au moyen d'un pH-mètre donnant une mesure plus précise. Une diminution du pH peut être révélatrice, entre autre, d'un développement de micro-organismes qui acidifient le milieu au cours de leur croissance. L'acidification peut être également due à une diminution de la concentration de l'émulsion, une consommation ou dégradation des additifs anti-rouille basiques [34].

QUANTIFICATION ET IDENTIFICATION DES MICRO-ORGANISMES

Le contrôle microbiologique consiste à quantifier les bactéries et les champignons présents dans le FDC. La maîtrise de la concentration de la flore est un paramètre important, sachant qu'une diminution de la flore de 5.10^{10} UFC/ml à 5.10^4 UFC/ml, réduit d'un facteur 9 les bioaérosols qui passent de 900 à 100 UFC/ml [25].

La quantification des micro-organismes peut se faire sur le site par l'usage de kits rapides (cf. Encadré 2). Cette opération se planifie sur une fréquence différente selon les cas, mais peut se concevoir en routine sur un rythme hebdomadaire.

ENCADRÉ 2

Quantification sur site des micro-organismes dans les FDC

Numération totale des bactéries et des champignons avec un kit de lames bi-gélosées :

- dévisser le bouchon tenant les deux géloses sans les toucher,
- immerger immédiatement et complètement les géloses dans le FDC,
- reboucher aussitôt le tube,
- mettre le tube dans un incubateur à 37°C,
- observer, et comparer à un abaque, le nombre de colonies sur les deux géloses au bout de 24 - 48h.

La quantification des micro-organismes peut également se faire en laboratoire au moyen de techniques plus longues (cf. Encadré 3). Certains chercheurs proposent, comme alternative, de mesurer la quantité d'acides gras phospholipidiques en tant qu'indicateur de biomasse¹¹ [9].

ENCADRÉ 3

Quantification et identification en laboratoire des micro-organismes dans les FDC

Quantification et identification des micro-organismes :

- prélever du FDC dans un flacon stérile,
- amener l'échantillon dans un laboratoire de microbiologie dans la journée ou, au plus tard, le lendemain si l'échantillon est maintenu au froid (4 - 6°C). Le laboratoire ensemencera le prélèvement sur différents milieux et procédera à des tests biochimiques pour identifier les micro-organismes présents.

Étant donné la variété des micro-organismes dans les FDC, il est impossible d'identifier les micro-organismes présents à tout moment. L'identification s'envisage essentiellement en cas de problème de santé parmi les salariés ou lors d'un développement accru de la flore. Cette recherche des noms de genre et d'espèce se fait toujours en laboratoire

¹¹ Biomasse : ensemble des organismes vivants se développant dans un milieu.

par des techniques de culture ou de biologie moléculaire (cf Encadré 3). Les techniques de biologie moléculaire, telles que la PCR¹², permettent de détecter tout agent biologique vivant ou mort, contrairement à la technique de mise en culture qui ne détecte que les micro-organismes vivants pouvant se multiplier [35].

Il n'existe, en France et à l'étranger, aucune valeur limite d'exposition professionnelle réglementaire des opérateurs aux bactéries ou aux champignons. La seule valeur-seuil disponible concerne le nombre maximum de micro-organismes tolérables avant une trop grande dégradation du FDC. Le CETIM¹³ propose une concentration bactérienne maximale dans les FDC de 10^6 à 10^7 UFC/ml.

MÉTROLOGIE DES BIOAÉROSOLS

De façon exceptionnelle, il peut être envisagé de procéder à la mesure de la concentration des aérosols. La diversité des polluants émis lors de l'utilisation des FDC, nécessite un choix de stratégie : mesure globale des aérosols ou mesure de la concentration d'un polluant chimique ou encore mesure de bioaérosols [36, 37].

Il est recommandé d'effectuer les mesures en suivant à chaque fois les mêmes procédures et en utilisant les mêmes appareils. C'est seulement dans ces conditions qu'il est possible de comparer les résultats obtenus à différentes périodes ou avec différents fluides. Les fiches METROPOL disponibles sur le site de l'INRS, recommandent des techniques validées de métrologie, notamment la fiche METROPOL 089 sur les endotoxines [37]. La mesure d'endotoxines serait un excellent indicateur de l'exposition des opérateurs aux bactéries [31]. Cependant, il n'existe actuellement aucune valeur limite réglementaire d'exposition aux aérosols d'endotoxines. Le DECOS¹⁴ hollandais a proposé en 1998 une valeur non réglementaire de 50 UE/m^3 sur une période de 8 heures [38] et le SEC¹⁵ hollandais a proposé en 2003 une valeur limite d'exposition de 200 EU/m^3 [39].

PRÉVENTION DES RISQUES

Les principales études menées sur les risques biologiques liés aux FDC incriminent l'exposition des opérateurs aux aérosols de micro-organismes présents dans les FDC. Les mesures de prévention de ces risques (cf. Figure 2) consistent à appliquer les principes généraux tels que :

■ éviter les risques, en adoptant, si possible, l'usinage à sec ;

■ combattre les risques à la source, en agissant sur le réservoir de micro-organismes que constitue le FDC ;

■ prendre des mesures de protection collective en leur donnant la priorité sur les mesures de protection individuelle [40] :

- limiter les émissions grâce à des systèmes de ventilation les plus appropriés, notamment par captage à la source [1]. Les concentrations d'endotoxines dans l'air ambiant sont significativement plus faibles dans les locaux ventilés [41],

- capoter les machines lorsque les caractéristiques de ces machines le permettent. Des mesures montrent que la concentration d'endotoxine dans l'air est plus faible près des machines capotées (16 UE/m^3) que dans l'environnement des machines ouvertes (160 UE/m^3) [41],

- adopter, si possible, la microlubrification (technique d'usinage utilisant une quantité minimale de lubrifiant),

- réduire les débits d'arrosage souvent trop importants.

Il est possible d'agir sur le réservoir de micro-organismes, en limitant, en stabilisant ou en diminuant la flore.

LIMITATION DE LA CONTAMINATION

La contamination des FDC peut être limitée en respectant les mesures suivantes :

■ nettoyer et désinfecter les circuits et les machines avant l'introduction d'un nouveau FDC. Ceci ne permet pas d'éliminer tous les micro-organismes du système, mais limite la recolonisation rapide du fluide propre ;

■ préparer les mélanges dans des récipients propres ;

■ utiliser les FDC à la concentration indiquée par le fabricant, qui a également optimisé la formule pour résister aux micro-organismes ;

FIGURE 2

Écran protégeant l'opérateur des projections de fluide de coupe
Screen protecting the operator from cutting fluid ejections



■ compléter les FDC avec une eau déminéralisée limitant ainsi le développement bactérien et la corrosion ;

■ éliminer les débris métalliques et l'huile étrangère pouvant servir d'éléments nutritifs aux micro-organismes.

De plus, la plupart des micro-organismes identifiés dans les FDC sont des commensaux¹⁶ humains, ce qui laisse penser que ces germes peuvent être introduits par les opérateurs [9]. Il convient donc de respecter les mesures d'hygiène consistant à se laver les mains après passage aux toilettes.

STABILISATION DE LA FLORE

Une étude a comparé la concentration des micro-organismes dans des fluides traités ou non par un biocide. Plus de 60 % des FDC traités comportaient une flore variée ne dépassant pas 10^5 UFC/ml (cf. Tableau II-g - p 40). Par contre, les fluides non traités contenaient une flore très importante se stabilisant autour de 10^8 UFC/ml après 10 - 12 semaines [42]. Ces mêmes chercheurs ontensemencé, en laboratoire, un fluide avec deux souches de *Pseudomonas* et

¹² PCR : polymerase chain reaction. Technique d'amplification d'un fragment de génome permettant d'identifier un micro-organisme.

¹³ CETIM : Centre technique des industries mécaniques.

¹⁴ DECOS : Dutch expert committee in occupational standards of health council of the Netherlands.

¹⁵ SEC : Social economic council of the Netherlands.

¹⁶ Commensaux : micro-organismes se nourrissant des aliments de son hôte sans que celui-ci y trouve avantage ou inconvénient.

ont constaté la mort à plus ou moins long terme d'autres souches individuellement inoculées ultérieurement. Les auteurs suggèrent que laisser les FDC se contaminer naturellement par les bactéries de l'eau, comme *Pseudomonas sp.*, à une concentration de 10^8 UFC/m³, pourrait représenter une alternative à l'ajout de biocides dans les FDC [42].

En tout état de cause, il est impossible de travailler avec un FDC stérile. Il faut viser l'équilibre des populations bactériennes et fongiques et veiller à ce que ces populations se maintiennent à un niveau acceptable pour l'homme et la machine.

DIMINUTION DE LA FLORE

La diminution du nombre de micro-organismes peut se faire par des moyens très simples. Par exemple, lors d'une contamination par des germes anaérobies, il suffit d'aérer le FDC en le faisant circuler pendant les périodes d'arrêt de la machine (week-end) et d'éliminer les huiles de surface faisant barrière à l'oxygène atmosphérique.

Plus généralement, la diminution des micro-organismes se fait par une gestion raisonnée de l'apport de biocides dans les FDC. L'utilisation de biocides concentrés nécessite le respect de précautions particulières, en se référant aux fiches de données de sécurité des produits.

Dans un milieu simple, le biocide doit être choisi en fonction du micro-organisme à éliminer (bactéricide pour tuer des bactéries, fongicide pour tuer des champignons...). En pratique, étant donné que les FDC sont généralement contaminés par des bactéries et des moisissures, les opérateurs ajoutent des biocides bactéricides et fongicides.

Si un micro-organisme est identifié suite à des problèmes de santé chez les opérateurs, il convient de choisir un biocide particulièrement actif sur le germe incriminé. Par exemple, une étude a montré que les bactéricides à base de triazine (hexahydrotriazine) sont inefficaces contre les mycobactéries, contrairement aux produits à base de morpholine qui réduisent significativement les mycobactéries des FDC [43]. Une autre étude a testé quatre biocides sur *Mycobacterium immunogenum* et *Pseudomonas fluorescens*. Il s'avère que

M. immunogenum est plus résistant que *P. fluorescens* au libérateur de formaldéhyde, à l'isothiazolone et au biocide phénolique. L'isothiazolone est toutefois efficace contre *M. immunogenum* à des concentrations plus faibles que les autres biocides [44]. Le choix du biocide doit être mûrement réfléchi. Dans tous les cas, les spectres d'action des biocides (bactéricide, fongicide...) sont clairement indiqués sur l'emballage des produits.

Pour des raisons de coût, certains utilisateurs ajoutent les biocides aux FDC à des concentrations inférieures au seuil d'efficacité, ce qui contribue à l'apparition de micro-organismes résistants. Pour éviter ces phénomènes de résistance, il est donc fortement recommandé de compléter les biocides aux concentrations indiquées par le fabricant et de changer régulièrement de principe actif.

De plus, un biocide ajouté à un FDC déjà colonisé peut être dégradé par les bactéries. Pour maîtriser la concentration effective des biocides, des chercheurs proposent de contrôler non pas la concentration des biocides ajoutés, mais la concentration des biocides dans les FDC [5].

La vidange d'un fluide usagé et l'ajout d'un nouveau fluide additionné de biocide, dans le but d'éliminer toutes les bactéries, est tout à fait illusoire. Il est indispensable de procéder à une opération de nettoyage - désinfection avant d'ajouter un nouveau fluide. Même s'il est difficile, voire impossible, d'éliminer toute la flore présente, cette opération à l'avantage de limiter la recolonisation rapide du fluide [5].

L'usage de biocides nécessite une gestion rigoureuse concernant le choix des produits, leurs concentrations (atteindre un effet biocide sans effets toxiques pour l'homme) et leurs rythmes d'incorporation (selon l'usage de la machine). Étant donné qu'il est difficile de gérer les apports en biocides et que les micro-organismes sont naturellement présents dans l'environnement, les FDC sont toujours contaminés. Par contre, il est possible de maintenir une flore maîtrisée en équilibre stable.

RÉDUCTION DE L'EXPOSITION AUX AÉROSOLS

Les principales études menées sur les risques biologiques liées aux FDC incriminent l'exposition des opérateurs aux bioaérosols des FDC. Une des mesures de prévention consiste donc à réduire la formation des aérosols et ainsi, l'exposition aux bioaérosols. Le NIOSH et l'INRS recommandent une limite d'exposition aux aérosols des FDC à 0,5 mg/m³.

Des mesures de prévention collective peuvent être mises en place pour limiter cette exposition [40] :

- adopter la microlubrification (technique d'usinage utilisant une quantité minimale de lubrifiant) ou l'usinage à sec, si possible ;

- réduire les débits d'arrosage souvent trop importants ;

- limiter les émissions grâce à des systèmes de ventilation les plus appropriés, notamment par captage à la source [1]. Les concentrations d'endotoxines dans l'air ambiant sont significativement plus faibles dans les locaux ventilés [41] ;

- capoter les machines. Des mesures montrent que la concentration d'endotoxine dans l'air est plus faible près des machines capotées (16 UE/m³) que dans l'environnement des machines ouvertes (160 UE/m³) [41] ;

- vérifier l'efficacité des épurateurs d'air, surtout en cas de recyclage de l'air dans les ateliers ;

- suivre la teneur en micro-organismes dans les FDC. En effet, la diminution de la concentration des FDC de $5 \cdot 10^{10}$ UFC/ml à $5 \cdot 10^4$ UFC/ml, réduit d'un facteur 9 les bioaérosols qui passent de 911 à 100 UFC/ml [25].

AUTRES MESURES DE PRÉVENTION

Enfin, pour limiter les risques de transmission des germes par ingestion ou par contact avec les muqueuses et la peau, des mesures simples de prévention individuelle doivent également être suivies :

- se laver les mains avant de manger, boire ou fumer ;

- porter des protections cutanées (gants, vêtements de travail couvrant les bras).

À cela s'ajoutent les mesures de prévention des risques chimiques développées dans d'autres ouvrages de l'INRS [1, 36, 40, 45]. Les principales pathologies liées aux composants chimiques des fluides aqueux sont des atteintes cutanées (dermites d'irritation, dermites allergiques...) et des affections respiratoires (pneumopathies dues aux brouillards d'huiles, pneumopathies d'irritation ou allergiques...). Les mesures de prévention des risques chimiques consistent à choisir des fluides contenant un minimum de produits chimiques dangereux, mais également, comme pour la prévention du risque biologique, à réduire la formation d'aérosols et à utiliser des équipements de protection individuelle évitant le contact avec les fluides (gants, vêtements couvrants...).

CONCLUSION

Les FDC aqueux sont des milieux propices au développement des micro-organismes. Cette flore est très variée et peut atteindre des concentrations très élevées. La plupart des études révèlent une colonisation initiale par des bactéries du genre *Pseudomonas*. Ces bacilles ont la capacité de dégrader les biocides et d'ouvrir ainsi la voie à la colonisation du fluide par d'autres micro-organismes.

Plusieurs études indiquent que les pathologies liées aux contaminants microbiens des fluides sont principalement respiratoires, de type pneumopathie d'hypersensibilité. Cette pathologie semblerait essentiellement liée à

l'exposition des travailleurs aux aérosols contenant des mycobactéries et des endotoxines.

La prévention des risques biologiques passe par des mesures de conception et d'organisation du travail, mais également par la maîtrise de la flore contaminant les fluides. Le contrôle de cette flore, en teneur et en quantité, peut se faire par l'usage raisonné de biocides, tout en comptant sur l'auto-régulation naturelle de la population microbienne.

Reçu le : 03/12/2007

Accepté le : 08/01/2008

TABLEAU II

Liste non exhaustive des micro-organismes identifiés dans des fluides de coupe aqueux et dans l'air environnant lors de différentes études. B : bacille, C : coque, E : émulsion, ME : micro-émulsion, FS : fluide synthétique, A : air
 Non-exhaustive list of microorganisms identified in aqueous metalworking fluids and surrounding air during various studies. B: bacillus, C: coccus, E: emulsion; ME: micro-emulsion, FS: synthetic fluid, A: air

Micro-organismes	Type de bactérie	Origine des prélèvements	Groupe de risque infectieux	Micro-organismes	Type de bactérie	Origine des prélèvements	Groupe de risque infectieux
a [8]				c [5]			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	B Gram-	E		<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	B Gram-	E	
<i>Alcaligenes piechaudii</i>	B Gram-	E		<i>Pseudomonas stutzeri</i>	B Gram-	E	
<i>Alcaligenes sp.</i>	B Gram-	E		<i>Serratia sp.</i>	B Gram-	E	
<i>Cedecea davisae</i>	B Gram-	E		<i>Shewanella putrefaciens</i>	B Gram-	E	
<i>Chromobacterium violaceum</i>	B Gram-	E		<i>Corynebacterium sp.</i>	B Gram+	E	
<i>Citrobacter diversus</i>	B Gram-	E		<i>Aerococcus viridans</i>	C Gram+	E	
<i>Comamonas testosteroni</i>	B Gram-	E		<i>Streptococcus sp.</i>	C Gram+	E	
<i>Enterobacter amnigenus</i> 1	B Gram-	E	Enterobacter spp. : 2	<i>Candida sp.</i>	Levure	E	
<i>Enterobacter gergoviae</i>	B Gram-	E	Enterobacter spp. : 2	<i>Fusarium sp.</i>	Moisissure	E	
<i>Flavobacterium breve</i>	B Gram-	E		<i>Cephalosporium sp.</i>	Moisissure	E	
<i>Flavobacterium sp.</i>	B Gram-	E		<i>Cladosporium sp.</i>	Moisissure	E	
<i>Moraxella osloensis</i>	B Gram-	E		d [9]			
<i>Moraxella sp.</i>	B Gram-	E		<i>Acinetobacter sp.</i>	B Gram-	FS	
<i>Oligellaurethralis</i>	B Gram-	E		<i>Alcaligenes faecalis</i>	B Gram-	FS	
<i>Pasteurella-Actinobacillus sp.</i>	B Gram-	E		<i>Flavobacterium odoratum</i>	B Gram-	FS	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B Gram-	E	2	<i>Morganella morganii</i>	B Gram-	FS	2
<i>Pseudomonas cepacia</i>	B Gram-	E		<i>Pseudomonas fluorescense</i>	B Gram-	FS	
<i>Pseudomonas pickettii</i>	B Gram-	E		<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	B Gram-		
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	B Gram-	E		<i>Pseudomonas putida</i>	B Gram-		
<i>Pseudomonas putida</i>	B Gram-	E		<i>Corynebacterium sp.</i>	B Gram+	FS	
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	B Gram-	E		<i>Bacillus sp.</i>	B Gram+	FS	
<i>Shewanella putrefaciens</i>	B Gram-	E		<i>Staphylococcus sp.</i>	C Gram+	FS	
<i>Bacillus sp.</i>	B Gram+	E		<i>Streptococcus sp.</i>	C Gram+	FS	
<i>Micrococcus sp.</i>	C Gram+	E		<i>Fusarium sp.</i>	Moisissure	FS	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	C Gram+	E		b [5]			
<i>Streptococcus salivarius</i>	C Gram+	E		Enterobactéries	B Gram-	E	
b [5]				<i>Aeromonas sp.</i>	B Gram-	E	
<i>Enterobactéries</i>	B Gram-	E		<i>Citrobacter diversus</i>	B Gram-	E	
<i>Aeromonas sp.</i>	B Gram-	E		<i>Citrobacter freundii</i>	B Gram-	E	
<i>Citrobacter diversus</i>	B Gram-	E		<i>Enterobacter agglomerans</i>	B Gram-	E	Enterobacter spp. : 2
<i>Citrobacter freundii</i>	B Gram-	E		<i>Escherichia coli</i>	B Gram-	E	selon les souches : 2 ou 3*
<i>Enterobacter agglomerans</i>	B Gram-	E	Enterobacter spp. : 2	<i>Klebsiella oxytoca</i>	B Gram-	E	2
<i>Escherichia coli</i>	B Gram-	E	selon les souches : 2 ou 3*	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B Gram-	E	2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	B Gram-	E	2	<i>Morganella morganii</i>	B Gram-	E	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B Gram-	E	2	<i>Proteus vulgaris</i>	B Gram-	E	2
<i>Morganella morganii</i>	B Gram-	E	2				
<i>Proteus vulgaris</i>	B Gram-	E	2	<i>Pseudomonas dimuta</i>	B Gram-	ME	
				<i>Pseudomonas fragi</i>	B Gram-	ME	
				<i>Pseudomonas glathei</i>	B Gram-	ME	
				<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	B Gram-	ME	
				<i>Serpens flexibilis</i>	B Gram-	ME	
				<i>Staphylococcus sp.</i>	B Gram-	ME	
				<i>Xanthomonas oryzae</i>	B Gram-	ME	
				<i>Corynebacterium halophilus</i>	B Gram+	ME	Corynebacterium spp. : 2
				<i>Micrococcus sp.</i>	C Gram+	ME	
				<i>Staphylococcus auricularis</i>	C Gram+	ME	

TABLEAU II

Liste non exhaustive des micro-organismes identifiés dans des fluides de coupe aqueux et dans l'air environnant lors de différentes études. B : bacille, C : coque, E : émulsion, ME : micro-émulsion, FS : fluide synthétique, A : air

Non-exhaustive list of microorganisms identified in aqueous metalworking fluids and surrounding air during various studies. B: bacillus, C: coccus, E: emulsion; ME: micro-emulsion, FS: synthetic fluid, A: air

Micro-organismes	Type de bactérie	Origine des prélèvements	Groupe de risque infectieux
<i>Staphylococcus hominis</i>	C Gram+	ME	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	C Gram+	ME	2
<i>Tetragenococcus halophilus</i>	C Gram+	ME	
e [18]			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B Gram-	E	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B Gram-	E	2
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	B Gram-	E	
<i>Pseudomonas putida</i>	B Gram-	E	
f [23]			
<i>Acinetobacter</i>	B Gram-	A	
<i>Alcaligenes</i>	B Gram-	A	
<i>Citrobacter</i>	B Gram-	A	
<i>Flavobacterium</i>	B Gram-	A	
<i>Klebsiella</i>	B Gram-	A	
<i>Pseudomonas</i>	B Gram-	A	
<i>Xanthomonas</i>	B Gram-	A	
<i>Bacillus</i>	B Gram+	A	
<i>Micrococcus</i>	C Gram+	A	
<i>Staphylococcus</i>	C Gram+	A	
<i>Streptococcus</i>	C Gram+	A	
g [41]			
<i>Achromobacter sp.</i>	B Gram-	E	
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	B Gram-	E	
<i>Aeromonas caviae</i>	B Gram-	E	
<i>Alcaligenes faecalis</i>	B Gram-	E	
<i>Chromobacterium violaceum</i>	B Gram-	E	
<i>Citrobacter koseri</i>	B Gram-	E	
<i>Comamonas testoste roni</i>	B Gram-	E	
<i>Enterococcus avium</i>	B Gram-	E	Enterococcus spp. : 2
<i>Morganella morganii</i>	B Gram-	E	2
<i>Oligella urethralis</i>	B Gram-	E	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B Gram-	E	2
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	B Gram-	E	
<i>Pseudomonas putida</i>	B Gram-	E	
<i>Pseudomonas sp.</i>	B Gram-	E	
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	B Gram-	E	
<i>Shewanella purefacies</i>	B Gram-	E	
<i>Stenotrophomonas sp.</i>	B Gram-	E	
<i>Moraxella catarrhalis</i>	C Gram-	E	
<i>Moraxella sp.</i>	C Gram-	E	
<i>Bacillus sp.</i>	B Gram+	E	

Micro-organismes	Type de bactérie	Origine des prélèvements	Groupe de risque infectieux
<i>Brevibacterium sp.</i>	B Gram+	E	
<i>Aerococcus viridans</i>	C Gram+	E	
<i>Micrococcus luteus</i>	C Gram+	E	
<i>Staphylococcus aureus</i>	C Gram+	E	2
<i>Streptococcus uberis</i>	C Gram+	E	Streptococcus spp. : 2

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Captage et traitement des aérosols de fluides de coupe. Guide Pratique de Ventilation n°6 – ED 972, INRS, 2005.
- [2] DAVID C. – Les agents biologiques. Fiche pratique de sécurité, ED 117, INRS, 2004.
- [3] Classement des agents biologiques. Documents pour le Médecin du Travail. 79 TO 1, INRS, 1999.
- [4] PRESCOTT, HARLEY, KLEIN – Microbiologie. De Boeck Université (éd.), 3^{ème} édition, 2002, 1014 p.
- [5] MATTSBY-BALTZER I., SANDIN M., AHLSTÖMB., ALLENMARKS., EDEBO M., FALSEN E., PEDERSEN K., RODIN N., THOMPSON R. A., EDEBO L. – Microbial growth and accumulation in industrial metal-working fluids. *App. Environ. Microbio.*, 1989, 55, pp. 2681-2689.
- [6] Metal working fluids. Recommendation for chronic inhalation studies. National Institute for Occupational Safety and Health, 2000.
- [7] DUCHAINE C., VEILLETTE M., CORMIER Y., LAVOIE J., DESJARDINS F., BOUZID H. – Analyse microbiologique des fluides de coupe de métaux – Étude exploratoire, IRSST, 2003, 33 p.
- [8] BRACKER A., STOREY E., YANG C., HODGSON M. J. – An outbreak of hypersensitivity pneumonitis at a metalworking plant: a longitudinal assessment of intervention effectiveness. *Appl. Occup. Environ. Hyg.*, 2003, 18, pp. 96-108.
- [9] LONON M. K., ABANTO M., FINDLAY R. H. – A pilot study for monitoring changes in the microbiological component of metalworking fluids as a function of time and use in the system. *AIHAJ*, 1999, 60, pp. 480-485.
- [10] ROSSMOORE H. W. – Biostatic fluids, friendly bacteria and other myths in metalworking microbiology. *Journal of the Society of Tribologists and Lubrication Engineers*, 1993, 49, pp. 253-260.
- [11] BENNETT E. O. – Water based cutting fluids and human health. *Tribology International*, 1983, 16, p. 133.
- [12] ELSMORE R. – The survival of *Legionella pneumophila* in dilute metalworking fluids. *Tribology international*, 1989, 22, pp. 213-217.
- [13] MOORE J. S., CHRISTENSEN M., WILSON R. W., WALLACER J., ZHANG Y., NASH D. R., SHELTON B. – Mycobacterial contamination of metalworking fluids: involvement of a possible new taxon of rapidly growing mycobacteria. *AIHAJ*, 2000, 61, pp. 205-213.
- [14] WILSON R. W., STEINGRUBE V. A., BOTTGERE C., SPRINGER B., BROWN-ELLIOTT B. A., VINCENT V., JOST K. C., ZHANG Y., GARCIA M. J., CHIU M. J., ONYI G. O., ROSSMOORE H., NASH D. R., WALLACE R. J. – *Mycobacterium immunogenum* sp. nov., a novel species related to *Mycobacterium abscessus* associated with clinical disease, pseudo-outbreaks and contaminated metalworking fluids: an international cooperative study on mycobacterial taxonomy. *Int. J. Systematic Evolutionary Microbiology*, 2001, 51, pp. 1751-1764.
- [15] KHAN I. U. H., SELVARAJU S. B., YADAV J. S. – Occurrence and characterization of multiple novel genotypes of *Mycobacterium immunogenum* and *Mycobacterium chelonae* in metalworking fluids. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 54, pp. 329-338.
- [16] WALLACE R. J., ZHANG Y., WILSON R. W., MANN L., ROSSMOORE H. – Presence of a single genotype of the newly described species *Mycobacterium immunogenum* in industrial metalworking fluids associated with hypersensitivity pneumonitis, 2002, 68, pp. 5580-5584.
- [17] PARK D., TESCHKE K., BARTLETT K. – A model for predicting endotoxin concentrations in metalworking fluid sumps in small machine shops. *Ann. Occup. Hyg.*, 2001, 45, 7, pp. 569-576.
- [18] SIMPSON A. T., STEAR M., GROVES J. A., PINEY M., BRADLEY S. D., STAG S., CROOK B. – Occupational exposure to metalworking fluid mist and sump fluid contaminants. *Ann. Occup. Hyg.*, 2003, 47, 1, pp. 17-30.
- [19] CHAZAL P. M. – Pollution of modern metalworking fluids containing biocides by pathogenic bacteria in France. *Eur. J. Epidemiol.*, 1995, 11, pp. 1-7.
- [20] VEILLETTE M., THORNE P. S., GORDON T., DUCHAINE C. – Six month tracking of microbial growth in a metalworking fluid after system cleaning and recharging. *Ann. Occup. Hyg.*, 2004, 48, pp. 541-546.
- [21] WANG H. X., REPONEN T., ADHIKARI A., WILLEKE K., GRINSHUPUN S. A. – Effect of fluid type and microbial properties on the aerosolization of microorganisms from metalworking fluids. *Aerosol Sci. Technol.*, 2004, 38, pp. 1139-1148.
- [22] GORDON T. – Metalworking fluid - the toxicity of a complex mixture. *J. Toxicol. Environ. Health*, 2004, 67, pp. 209-219.
- [23] DAWKINS P., ROBERTSON A., ROBERTSON W., MOORE V., REYNOLDS J., LANGMAN G., ROBINSON E., HARRIS-ROBERTS J., CROOK B., BURGE S. – An outbreak of extrinsic alveolitis at a car engine plant. *Occupational Medicine*. 2006, 56, pp. 559-565.
- [24] ZACHARISEN M. C., KADAMBI A. R., SCHLUETER D. P., KURUP V. P., SHACK J. B., FOX J. L., ANDERSON H. A., FINK J. N. – The spectrum of respiratory disease associated with exposure to metal working fluids. *JOEM*, 1998, 40, 7, pp. 640-647.
- [25] ABBAS VIRJI M., WOSKIE S. R., SAMA S. R., KRIEBEL D., EBERIEL D. – Identifying the determinants of viable microorganisms in the air and bulk metalworking fluids. *AIHAJ*. 2000, 61 : 788-797.
- [26] FISHWICK D., TATE P., ELMS J., ROBINSON E., CROOK B., GALLAGHER F., LENNOX R., CURRANA. – Respiratory symptoms, immunology and organism identification in contaminated metalworking fluid workers. What you see is not what you get. *Occupational Medicine*, 2005, 55, pp. 238-241.
- [27] HERWALDT L. A., GORMAN G. W., MC GRATH T., TOMA S., BRAKE B., HIGHTOWER A. W., JONES J., REINGOLD A. L., BOXER P. A., TANG P. W., MOSS C. W., WILKINSON H., BRENNER D. J., STEIGERWALT A. G., BROOME C. V. – A new *Legionella* species, *Legionella feeleii*, species nova, causes Pontiac fever in automobile plant. *Ann. Inter. Med.*, 1984, 100, pp. 333-338.
- [28] WEISS L., PUE C., LEWIS R., ROSSMOORE H., FINK J., HARNEY J., TROUT D. – Respiratory illness in workers exposed to metalworking fluid contaminated with nontuberculous mycobacteria – Ohio, 2001. *MMWR*, 2002, 51, pp. 349-352.

BIBLIOGRAPHIE

- [29] THORNE P. S., ADAMCAKOVA-DODD A., KELLY K. M., O'NEILL M. E., DUCHAINE C. – Metalworking fluid with mycobacteria and endotoxin induces hypersensitivity pneumonitis in mice. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2006, 173, pp.759-768.
- [30] GORDON T., NADZIEJKO C., GALDANES K. – Mycobacterium immunogenum causes hypersensitivity pneumonitis-like pathology in mice. *Inhalation toxicology*, 2006, 18, pp. 449-456.
- [31] LAITINEN S., LINNAINMAA M., LAITINEN J., KIVIRANTA H., REIMAN M., LIESIVUORI J. – Endotoxins and IgG antibodies as indicators of occupational exposure to the microbial contaminants of metal-working fluids. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 1999, 72, pp. 443-450.
- [32] GORDON T. – Acute respiratory effects of endotoxin-contaminated machining fluid aerosols in guinea pigs. *Fundam. Appl. Pharmacol.*, 1992, 19, pp. 117-123.
- [33] DE LORME M. P., GAO X., DOYON-REALE N., BARRACLOUGH-MITCHELL H., BASSETT D. J. P. – Inflammatory effects of inhaled endotoxin-contaminated metal working fluid aerosols in rats. *J. Toxicol. Environ. Health*, 2003, 66, pp. 7-24.
- [34] Guide d'emploi des fluides de coupe. CETIM, 1989.
- [35] YADAV J. S., KHAN I. U. H., FAKHARI F., SOELLNER M. B. – DNA-based methodologies for rapid detection, quantification, and species- or strain-level identification of respiratory pathogens (Mycobacteria and Pseudomonads) in metalworking fluids. *App. Occup. Environ. Hygiene*, 2003, 18, pp. 966-975.
- [36] DIEBOLD F. – Métrologie des aérosols de fluides de coupe. *Hygiène et Sécurité du Travail*, n° 207, ND 2267, INRS, 2007, 5 p.
- [37] METROPOL. Base de données INRS. HYPERLINK « <http://www.inrs.fr> » www.inrs.fr.
- [38] DECOS (Dutch Expert Committee in Occupational Standards) - Endotoxins: health based recommended occupation exposure limit. rijswijk: Health Council of the Netherlands. 1998, pp. 1-79.
- [39] DOUWES J, THORNE P, PEARCE N, HEEDERIK D. – Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *Ann. Occup. Hyg.* 2003, 47, pp. 187-200.
- [40] Fluides de coupe – Protégez votre peau. ED 907, INRS, 2003.
- [41] LINNAINMAA M., KIVIRANTA H., LAITINEN J., LAITINEN S. – Control of workers' exposure to airborne endotoxins and formaldehyde during the use of metalworking fluids. *AIHA Journal*, 2003, 64, pp. 496-500.
- [42] DILGER S., FLURI A., SONNTAG H.-G. – Bacterial contamination of preserved and non-preserved metal working fluids. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 2005, 208, pp. 467-476.
- [43] WATT W. D. – Observation on the relationship between triazines and mycobacteria in metal removal fluids. *App. Occup. Environ. Hygiene*, 2003, 18, pp. 961-965.
- [44] SELVARAJU S. B., KHAN I. U. H., YADAV J. S. – Biocidal activity of formaldehyde and nonformaldehyde biocides toward Mycobacterium immunogenum and Pseudomonas fluorescens in pure and mixed suspensions in synthetic metalworking fluid and saline. *App. Environ. Microbiol.* 2005, 71 : 542-546.
- [45] LAFONTAINE M., DELSAUT P., MORELE Y. – Risques liés à l'utilisation des fluides de coupe. *Hygiène et Sécurité du Travail*, n° 186, ND 2164, INRS, 2003, 10 p.